



ΕΘΝΙΚΟ ΜΕΤΣΟΒΙΟ ΠΟΛΥΤΕΧΝΕΙΟ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΙΚΩΝ ΜΗΧΑΝΙΚΩΝ
ΤΟΜΕΑΣ Ι – ΧΗΜΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

Μελέτη Ρόφησης Φαρμακευτικών Ενώσεων από το έδαφος με τη μέθοδο της Διαφορικής Παλμικής Βολταμμετρίας

Διπλωματική Εργασία

Απέργη Μαρία

Επιβλέπων Καθηγητής

Τσόπελας Φώτιος

Αθήνα

Οκτώβριος 2021

Πρόλογος

Το πρόσωπο της σύγχρονης κοινωνίας διαμορφώνεται υπό τη σημαντική επιρροή που δέχεται από την επιστήμη και την τεχνολογία. Η ραγδαία εξέλιξη του επιστημονικού τομέα έχει επιφέρει πλήθος αλλαγών στην καθημερινή ζωή, η οποία έχει καταστεί από πολλές απόψεις ευκολότερη, εν συγκρίσει με παλαιότερες εποχές. Το προσδόκιμο όριο ζωής έχει αυξηθεί σημαντικά, και το βιοτικό επίπεδο έχει βελτιωθεί αισθητά. Οι αλλαγές αυτές οφείλονται κατά ένα τεράστιο ποσοστό στην ανάπτυξη του κλάδου της υγείας, ο οποίος μάχεται καθημερινά για το πολυτιμότερο αγαθό της ζωής: την υγεία. Η ανικανοποίητη και άπληστη φύση του ανθρώπου, συνδυαστικά με την ανεμπόδιστη πρόσβαση σε φαρμακευτικά αγαθά που υπάρχει σήμερα, έχουν ωθήσει τον άνθρωπο σε κατάχρηση αυτών, φαινόμενο που επιβεβαιώνεται και από το αποτύπωμα στο περιβάλλον.

Η παρούσα διπλωματική εργασία, η οποία εκπονήθηκε στα πλαίσια της εκπαιδευτικής διαδικασίας της Σχολής Χημικών Μηχανικών του Εθνικού Μετσόβιου Πολυτεχνείου, σηματοδοτεί την ολοκλήρωση ενός μεγάλου κύκλου προπτυχιακών σπουδών. Η υλοποίησή της έλαβε χώρα στο εργαστήριο Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας του Τομέα (I), από τον Μάιο του 2021 έως και τον Σεπτέμβριο του 2021, και σκοπός της ήταν η μελέτη της ρόφησης φαρμακευτικών ενώσεων από το έδαφος με τη μέθοδο της Διαφορικής Παλμικής Βολταμμετρίας, και η συσχέτισή της με τη λιποφιλία της εκάστοτε ένωσης.

Θα ήθελα να απευθύνω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όλους τους ανθρώπους που με υποστήριξαν κατά την διάρκεια της εκπόνησης της διπλωματικής μου εργασίας, αλλά και του συνόλου των σπουδών μου έως σήμερα. Ιδιαίτερα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον υπεύθυνο της διπλωματικής μου, επίκουρο καθηγητή του Ε.Μ.Π., κύριο Φώτιο Τσόπελα για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε στην ανάθεση του θέματος και την καθοδήγηση που είχα από πλευράς του όλο αυτό το ταραχώδες διάστημα. Τέλος, η περάτωση των σπουδών μου και κατ' επέκταση της εν λόγω εργασίας δε θα καθίστατο εφικτή χωρίς την αμέριστη στήριξη από την οικογένεια μου και τους φίλους μου, εντός και εκτός Σχολής.

Περιεχόμενα

Πρόλογος	1
Περίληψη	5
Abstract.....	6
Εισαγωγή	7
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	9
1. Οι φαρμακευτικές ενώσεις ως περιβαλλοντικοί ρυπαντές	9
2. Ρόφηση	10
2.1. Μηχανισμοί Ρόφησης	10
2.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τη ρόφηση	14
2.3. Συντελεστής ρόφησης (Kd).....	18
3. Λιποφιλία	18
3.1. Έκφραση λιποφιλίας μέσω συντελεστών.....	19
3.2. Συντελεστής Μερισμού (P).....	20
3.3. Συντελεστής Κατανομής (D)	20
3.4. Συσχέτιση logP-logD.....	20
3.5. Μέθοδος Ανακινούμενης Φιάλης.....	21
4. Υπολογιστικές μέθοδοι εκτίμησης συντελεστή ρόφησης, (Kd)	21
4.1. Σχέσεις Δομής – Δράσης (QSAR).....	22
5. Πειραματικές Μέθοδοι υπολογισμού συντελεστή ρόφησης, (Kd)	27
5.1. Χρωματογραφικές τεχνικές	27
5.2. Βολταμμετρία	33
5.2.1. Ηλεκτρόδια Εργασίας	34
5.2.2. Κυκλική Βολταμμετρία – Cyclic Voltammetry (CV)	36
5.2.3. Βολταμμετρία Γραμμικής Σάρωσης - Linear Sweep Voltammetry (LSV)	37
5.2.4. Διαφορική Παλμική Βολταμμετρία - Differential Pulse Voltammetry (DPV)	37
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	38
6. Σύστημα Βολταμμετρικών Αναλύσεων.....	38
7. Πρωτόκολλο κατεργασίας με χρώμα.....	40
8. Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν	42
8.1. Προκαταρκτικές Μετρήσεις.....	42
8.2. Επιλογή φαρμακευτικών ενώσεων προς μελέτη.....	43
8.3. Φαρμακευτικές ενώσεις που αναλύθηκαν	44

8.4.	Τύποι εδάφους	49
8.5.	Επικουρικά αντιδραστήρια.....	50
9.	Αποτελέσματα	51
9.1.	Ακεταμινοφαίνη.....	51
9.2.	Ινδομεθακίνη	52
9.3.	Μεφαιναμικό Οξύ	55
9.4.	Μινοξιδίλη	57
9.5.	Ναπροξένη.....	59
9.6.	Νιμεσουλίδη	61
9.7.	Σουλφαμεθοξαζόλη.....	62
9.8.	Βαρφαρίνη.....	64
10.	Πίνακες Αποτελεσμάτων	65
11.	Συσχέτιση με λιποφιλία	66
11.1.	Συντελεστής μερισμού σε σύστημα οκτανόλης-νερού, (logP).....	67
11.2.	Συντελεστής κατανομής σε σύστημα οκτανόλης-νερού, (logD).....	68
12.	Συσχέτιση με Βιομημητική Χρωματογραφία	68
12.1.	Brij-35 από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC).....	69
12.2.	Tween20 από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC).....	69
12.3.	Triton X-100 από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC).....	70
12.4.	SDS από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC)	71
12.5.	IAM.DD2.....	72
13.	Σχολιασμός Αποτελεσμάτων	74
14.	Συμπεράσματα	76
15.	Προτάσεις για μελλοντική έρευνα.....	77
	Βιβλιογραφικές Αναφορές	78

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία αποτελεί έρευνα σχετικά με τη ρόφηση φαρμακευτικών ενώσεων από το έδαφος και την επίδραση της λιποφιλίας στο φαινόμενο αυτό, με τη μέθοδο της Διαφορικής Παλμικής Βολταμετρίας (*Differential Pulse Voltammetry, DPV*), με σκοπό την ανάπτυξη μιας οικονομικότερης και συνάμα φιλικής προς το περιβάλλον μεθόδου για τον υπολογισμό του συντελεστή ρόφησης φαρμακευτικών ουσιών στο χώμα και την εκτίμηση της περιβαλλοντικής τους ευκινησίας.

Οκτώ φαρμακευτικές ενώσεις (ακεταμινοφαίνη, ινδομεθακίνη, μεφαιναμικό οξύ, μινοξιδίλη, νιμεσουλίδη, ναπροξένη, σουλφαμεθοξαζόλη και βαρφαρίνη) οι οποίες βιβλιογραφικά φαίνονταν να διαθέτουν τα απαραίτητα χαρακτηριστικά για να προσδιοριστούν βολταμετρικά σε συγκεκριμένο εύρος δυναμικών, υποβλήθηκαν σε ειδική κατεργασία με τέσσερα διαφορετικά δείγματα χώματος που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, προκειμένου να υπολογιστεί βολταμετρικά ο συντελεστής κατανομής $\log K_d$ του φαρμάκου από τα μόρια του χώματος. Οι οκτώ ουσίες που υποβλήθηκαν αρχικά σε προκαταρκτικές μετρήσεις, επιλέχθηκαν με βάση δύο κριτήρια: αφενός να είναι γνωστό από βιβλιογραφικές αναφορές ότι το σήμα τους ανιχνεύεται από συνήθη ηλεκτρόδια που είναι διαθέσιμα στο εργαστήριο (*GCE, Au, Pt*), κι αφετέρου ότι εμφανίζουν κορυφή σε «μικρά» δυναμικά στα οποία αναμένονταν ηπιότερες παρεμβολές από συστατικά του χώματος.

Η κατεργασία που μεσολάβησε περιλάμβανε ζύγιση, ανάδευση προπαρασκευασμένου υδατικού διαλύματος φαρμάκου με χώμα, φυγοκέντριση του εναιωρήματος και βολταμετρική ανάλυση του υπερκείμενου υγρού με εκτυπωμένα ηλεκτρόδια πλέγματος (*Screen Printed*) υαλώδους άνθρακα. Ακολουθούσε η μέθοδος προσθήκης διαλύματος φαρμακευτικής ουσίας και η σάρωση του δείγματος σε κάθε νέα προσθήκη. Με τη χρήση του προγράμματος *Microsoft Excel Office*, μέσω της εξίσωσης της γραμμής τάσης, έγινε ο υπολογισμός της διαφοράς μεταξύ αρχικής (6.6 mg/L) και τελικής συγκέντρωσης της φαρμακευτικής ένωσης στο δείγμα, η οποία αντιστοιχούσε στην ποσότητα ουσίας που κατακρατήθηκε από το χώμα κατά την κατεργασία του.

Η ποσότητα αυτή μεταφράστηκε σε συντελεστή κατακράτησης $\log K_d$ και ακολούθησε συσχέτιση αυτών με τους δείκτες λιποφιλίας σε σύστημα n-οκτανόλη/νερό ($\log P$, $\log D$) και με μη ιοντικά (Brij-35, Tween20, Triton X-100) και ανιοντικά (SDS) τασιενεργά από τη Μικκυλιακή Χρωματογραφία, και με χρωματογραφία Ακίνητοποιημένων Τεχνητών Μεμβρανών (IAM.DD2). Η συσχέτιση αυτή ήταν ενδεικτική, λόγω μικρού αριθμού αποτελεσμάτων, και έγινε στα φάρμακα που αναλύθηκαν με χώμα προερχόμενο από την περιοχή Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα) με $pH=7.83$, καθώς ήταν το χώμα στο οποίο έγιναν οι περισσότερες μετρήσεις. Η βέλτιστη συσχέτιση της λιποφιλίας έγινε με το μη ιοντικό τασιενεργό Triton X-100 όπου σημειώθηκε συντελεστής προσδιορισμού $R^2=0.439$. Οι ενδεικτικές αυτές συσχετίσεις, καταδεικνύουν τη λιποφιλία ως τη φυσικοχημική παράμετρο που συμβάλλει σε ποσοστό περίπου 40% στο μηχανισμό της ρόφησης από το έδαφος (R^2 περίπου ίσο με 0.40).

Abstract

The aim of the present diploma thesis is to develop an economic and environmentally friendly method for the determination of the soil sorption coefficient of certain pharmaceutical compounds, and the effect of lipophilicity on the soil sorption mechanism, using the Differential Pulse Voltammetry (DPV).

Eight pharmaceutical compounds (acetaminophen, indomethacin, mefenamic acid, minoxidil, nimesulide, naproxen, sulfamethoxazole, warfarin), which were chosen based on pre-existing references about their ability to be detected using commercially available working electrodes in relatively mild potential range (0-1V), were submitted to special treatment with four soil samples from different areas of Greece, in order to estimate their soil sorption coefficient ($\log K_d$). The eight drugs were chosen considering two main criteria: firstly, it was mandatory to confirm via bibliographical references that they could be detected using common electrodes available in the lab (GCE, Au, Pt), and secondly that their oxidation would occur at mild oxidation potentials, so that possible interferences by electrochemically active soil substances would be minimized.

The soil treatment included weighing, mixing and stirring with working solutions of each drug under investigation, centrifugation of the soil-drug suspension and voltammetric analysis of the superscript liquid using Screen Printed glassy carbon electrode (SP-GCE). The process was followed by standard addition method. Using the trend-line available via Microsoft Excel Office, the difference between the initial (6.6 mg/L) and final concentration of the pharmaceutical compound was calculated, corresponding to the amount of the absorbed drug.

The results were converted into retention factor values ($\log K_d$), which were compared to the n-octanol/water partition ($\log P$) and distribution ($\log D$) coefficients, as well as to the retention factors of Biopartitioning Micellar Chromatography (BMC) with the surfactants Brij-35, Tween20, Triton X-100 and SDS, and Immobilized Artificial Membrane Chromatography (IAM). Only an indicative comparison can be obtained, due to the limited results using mainly soil sample coming from Loutraki (Korinthia) region. The best determination coefficient was found to be $R^2=0.439$, using the non ionic surfactant Triton X-100. These indicative correlation attempts, demonstrate that lipophilia is a rather important physicochemical property that contributed to the sorption mechanism by approximately 40% ($R^2=0.40$).

Εισαγωγή

Οι φαρμακευτικές ενώσεις (PPCPs) ως περιβαλλοντικοί ρυπαντές και οι επιπτώσεις της άκριτης απόθεσής στο περιβάλλον, έχουν απασχολήσει ουκ ολίγες φορές την επιστημονική και μη κοινότητα. Τα φάρμακα, πλέον, δεν αποτελούν μόνο μέσα βελτίωσης της ποιότητας της ζωής, αλλά και τροχοπέδη στην ομαλή διεξαγωγή της. Αυτό συμβαίνει διότι αφενός ύστερα από την κατανάλωση από τον άνθρωπο, έρχεται η απέκκριση, κι αφετέρου λόγω των αποβλήτων της φαρμακοβιομηχανίας. Οι περιπτώσεις αυτές έχουν κοινό παρονομαστή την τελική διάθεση των φαρμακευτικών σκευασμάτων και των μεταβολιτών τους στο περιβάλλον. Συνεπώς, τα φάρμακα που δέχεται σε ολόένα και μεγαλύτερες ποσότητες το περιβάλλον, πλέον αντιμετωπίζονται και ως περιβαλλοντικοί ρυπαντές από την επιστημονική κοινότητα, με αποτέλεσμα να γίνεται προσπάθεια πρόβλεψης της συμπεριφοράς τους, προκειμένου να προληφθούν ορισμένες καταστάσεις.

Ο τρόπος με τον οποίο οι PPCPs μεταφέρονται από την περιοχή εναπόθεσής τους στον υδροφόρο ορίζοντα και κατ' επέκταση ξανά πίσω στον ανθρώπινο οργανισμό, θέτει τις βάσεις του στην περιβαλλοντική ευκινησία του εκάστοτε ρυπαντή εντός του εν λόγω εδάφους. Η ρόφηση αποτελεί την πλέον σημαντικότερη παράμετρο που επηρεάζει τη συμπεριφορά των φαρμάκων στο περιβάλλον, καθώς είναι αλληλένδετη με την ευκινησία του ρυπαντή. Αυξημένη ρόφηση συνεπάγεται υψηλή προσκόλληση στα μόρια του εδάφους, και κατ' επέκταση μικρή ευκινησία. Συνεπώς, η ευκολία με την οποία μετακινείται μια ένωση, επί παραδείγματι, με το νερό της βροχής, βοηθά στο να προβλέψουμε εάν η εκάστοτε ένωση θα παραμείνει καθηλωμένη στο χώμα ή εάν θα μεταφερθεί και σε τι απόσταση. Η ρόφηση μιας ένωσης, βάσει της οποίας κρίνουμε την ευκινησία μιας φαρμακευτικής ουσίας ως αυξημένη ή μειωμένη, επηρεάζεται σημαντικά από παραμέτρους όπως η λιποφιλία της ένωσης. Συγκεκριμένα, μια λιπόφιλη ένωση τείνει να αποφεύγει το υδατικό περιβάλλον, κάτι που σημαίνει αυτόματα ότι εάν βρεθεί σε βρόχινα ύδατα, θα προσκολληθεί στα μόρια του εδάφους, με αποτέλεσμα να σημειώνει χαμηλή ευκινησία.

Μια κατηγορία περιβαλλοντικών ρυπαντών που σχετίζονται με τα φαρμακευτικά σκευάσματα είναι τα φυτοφάρμακα. Παρ' όλο που για αυτήν την κατηγορία περιβαλλοντικών ρυπαντών υπάρχει εμπλουτισμένη βάση δεδομένων και πειραματικές τιμές για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς τους στο έδαφος, για πολλές φαρμακευτικές ενώσεις δεν ισχύει το αντίστοιχο. Ενώ, από θεωρητικής άποψης, είναι γνωστό ότι ορισμένες φυσικοχημικές ιδιότητες του χώματος (pH, οργανικό φορτίο, οξείδια Fe κλπ) επηρεάζουν τη ρόφηση φαρμακευτικών ενώσεων στο έδαφος, και μέθοδοι *in silico* είναι διαθέσιμες για υπολογιστική πρόβλεψη της συμπεριφοράς τους, δεν υπάρχει κάποιος ολιστικός τρόπος περιγραφής της επίδρασης αυτής. Δημιουργείται, έτσι, η ανάγκη διεξαγωγής πειραμάτων προκειμένου να ληφθούν πειραματικά δεδομένα για την σαφέστερη και ακριβέστερη πρόβλεψη της συμπεριφοράς των φαρμάκων αυτών όταν εναποτεθούν στο έδαφος.

Για τον προσδιορισμό του συντελεστή ρόφησης μιας φαρμακευτικής ένωσης από το έδαφος ακολουθούνται αυστηρά πρωτόκολλα που είναι διαπιστωμένα ότι διέπονται από εγκυρότητα και αποτελεσματικότητα. Είναι σημαντικό να αναφερθεί σε αυτό το σημείο ότι αναλυτικές τεχνικές όπως η Φασματομετρία Μαζών (MS) αποτελεί την πλέον ακριβέστερη και βέλτιστη επιλογή για τέτοιου είδους διαδικασίες. Παρ' όλα αυτά, αποτελεί μια ιδιαίτερα δαπανηρή τεχνική και δεν προτιμάται σε αναλύσεις που χρειάζονται πολλές μετρήσεις, με αποτέλεσμα το ενδιαφέρον να στρέφεται σε λιγότερο ακριβές μεθόδους, όπως είναι οι βολταμμετρικές. Έχοντας, λοιπόν, ως κατευθυντήρια γραμμή τα πρωτόκολλα αυτά, και συνδυαστικά με την οικονομική τεχνική της Διαφορικής Παλμικής Βολταμμετρίας (Differential Pulse Voltammetry, DPV) στην παρούσα διπλωματική γίνεται η απόπειρα διεξαγωγής πειραμάτων για τον προσδιορισμό τους συντελεστή ρόφησης οκτώ φαρμακευτικών ενώσεων σε τέσσερις διαφορετικούς τύπους εδάφους.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Οι φαρμακευτικές ενώσεις ως περιβαλλοντικοί ρυπαντές

Οι φαρμακευτικές ενώσεις (PPCPs) αποτελούν φυσικές ή χημικές ουσίες που εμπεριέχονται σε φαρμακευτικά σκευάσματα ανθρώπινης ή κτηνιατρικής χρήσης, για θεραπευτικούς, προληπτικούς ή ακόμη και καλλωπιστικούς σκοπούς. Τα αναλγητικά (ibuprofen, ketoprofen κλπ.), τα αντιφλεγμονώδη (piroxicam, tenoxicam κλπ.), τα αντιβιοτικά (sulfamethoxazole, norfloxacin κλπ.), τα αντιδιαβητικά (metformin), οι β-αναστολείς (atenolol, metoprolol κλπ.), οι ορμόνες (hydrocortisone, estradiol κλπ.), τα αντιψυχωσικά (sulpiride, haloperidol κλπ.), τα αντικαταθλιπτικά (nortriptyline, protriptyline κλπ.), τα αντιϊσταμινικά (promethazine) και τα αντιυπερτασικά φάρμακα είναι λίγες μόνο από τις βασικές κατηγορίες στις οποίες υπάγονται οι εξεταζόμενες φαρμακευτικές ενώσεις. Στην κατηγορία των PPCPs μπορούν να ενταχθούν και πάσης φύσεως μεταβολίτες ή προϊόντα μετασχηματισμού των εν λόγω ενώσεων.

Η εναπόθεση των φαρμακευτικών σκευασμάτων στο περιβάλλον καθίσταται αναπόφευκτη για πλήθος λόγων. Εκ των πραγμάτων, η χρήση τους είναι παγκοσμίως διαδεδομένη ενώ η γνώση περί επιπτώσεων της άκριτης αποβολής τους σε μη ενδεδειγμένους χώρους καθίσταται πενιχρή, κάτι που οδηγεί στην διαιώνιση της παρουσίας αυτών και των ενδεχομένως επικινδυνότερων μεταβολιτών τους στο οικοσύστημα. Αφενός, η διακύμανση της αφομοίωσης κατά το μεταβολισμό των φαρμάκων στον οργανισμό ύστερα από την κατανάλωση, κι αφετέρου η έλλειψη πειθαρχίας στην απόρριψη ληγμένων, αχρησιμοποίητων ή υπολειμμάτων φαρμάκων από την παρασκευή τους, καθιστά ανέφικτη την ορθολογική διαχείρισή τους. Εξάλλου, είναι γεγονός πως πλέον η τεχνολογική ανάπτυξη έχει επιτύχει με τις ιδιαίτερα προηγμένες αναλυτικές τεχνικές τον εντοπισμό των PPCPs ακόμη και σε τάξεις συγκέντρωσης των λίγων ppm.

Ως φυσικές πηγές εναπόθεσης φαρμακευτικών σκευασμάτων χαρακτηρίζονται τα λύματα που ελευθερώνονται από μονάδες επεξεργασίας λυμάτων είτε λόγω αστοχίας του συστήματος είτε λόγω μη προγραμματισμένης απόπλυσης, καθώς επίσης και η ασυναίσθητη απόρριψή τους στα οικιακά απορρίμματα τα οποία δεν τυγχάνουν της ιδιαίτερης διαχείρισης που θα απαιτούσαν για τα φαρμακευτικά ή νοσοκομειακά απόβλητα. Οι αποβληθείσες ουσίες από παράνομες εργαστηριακές εργασίες ή ακόμη και από παράνομη χρήση ναρκωτικών ουσιών, συγκαταλέγονται επίσης στις πηγές φαρμακευτικών αποβλήτων. Φυσικά οι πηγές συσσώρευσης των PPCPs στο περιβάλλον δεν περιορίζονται μόνο στην απόρριψη αυτούσιων των αρχικών φαρμακομορφών. Τα φαρμακευτικά προϊόντα στην πλειοψηφία τους, δεν μεταβολίζονται πλήρως από τον άνθρωπο και τα ζώα, κι έτσι το 30-90% των αντιβιοτικών που καταναλώνονται, επιστρέφουν στο περιβάλλον στη μορφή των μεταβολιτών τους μέσω φυσικών διαδικασιών απέκκρισης, όπως η αφόδευση και η ενούρηση. [45] [56]

Ως εκ τούτου, τα απόβλητα των φαρμακευτικών σκευασμάτων που προέρχονται από αστικά και αγροτικά λύματα, μέσω του κύκλου του νερού μεταφέρονται στα επιφανειακά και τα υπόγεια ύδατα, και κατ' επέκταση στο έδαφος και το υπέδαφος [11] [20]. Η περιβαλλοντική

ευκινησία της κάθε φαρμακευτικής ένωσης σε σχέση με το εκάστοτε έδαφος, καθορίζει το ποσοστό δέσμευσής της σε αυτό. Η λιποφιλία, ο συντελεστής ρόφησης και η διαλυτότητα στο νερό, αποτελούν ορισμένες από τις φυσικοχημικές παραμέτρους μιας PPCPs που επηρεάζουν το ποσοστό δέσμευσής της από το ροφητικό μέσο, που στην εν προκειμένω περίπτωση είναι το έδαφος.

2. Ρόφηση

Ως ρόφηση (sorption) θεωρούμε τον μηχανισμό που περιγράφει την μετάβαση μιας διαλυμένης ουσίας από την υδατική φάση στη στερεή φάση. Η εκρόφηση (desorption) αποτελεί την ακριβώς αντίστροφη διαδικασία, όπου μια διαλυμένη ουσία μεταβαίνει από τη στερεή στην υδατική φάση. [101]

Η προσρόφηση (adsorption) και η απορρόφηση (absorption), είναι οι μηχανισμοί στους οποίους διακρίνεται η ρόφηση. Συγκεκριμένα, η προσρόφηση αφορά την συγκέντρωση μιας διαλυμένης ουσίας στην επιφάνεια μιας στερεής φάσης, ενώ η απορρόφηση σχετίζεται με την διάχυση της εν λόγω ουσίας στο εσωτερικό της στερεάς φάσης. [101]

Με τον όρο προσρόφηση, εννοούμε την προσέλκυση και συγκράτηση των ιόντων ή μη ιονιζόμενων μορίων τους από τις επιφάνειες των ανόργανων και οργανικών κολλοειδών του εδάφους [101]. Θεωρείται ιδιαίτερα σημαντική διεργασία, καθώς είναι εκείνη που καθορίζει την συγκέντρωση κάποιας φαρμακευτικής ή φυτοπροστατευτικής ουσίας στο έδαφος [22]. Μελέτες έχουν καταδείξει την ισχυρή προσρόφηση ως κύριο παράγοντα μειωμένης διαθεσιμότητας των εν λόγω φαρμακομορφών στην υδατική φάση τους εδάφους, κάτι που συνεπάγεται την μειωμένη κινητικότητά τους. [14] [15]

Η προσρόφηση και η εκρόφηση των γεωργικών και μη φαρμάκων στο έδαφος αποτελούν σημαντικότερες παραμέτρους καθορισμού της τύχης αυτών στο περιβάλλον [12],[83], αξιολογώντας την κινητικότητα, τη βιοδιαθεσιμότητα και την πιθανότητα ρύπανσης των υπόγειων υδάτων [61].

2.1. Μηχανισμοί Ρόφησης

Η ρόφηση μη ιονισμένων ενώσεων από το έδαφος ρυθμίζεται από το μέτρο της υδροφοβίας τους, κυρίως μέσω υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, αλληλεπιδράσεων δότη-δέκτη ηλεκτρονίου και ασθενείς δυνάμεις Van der Waals [85].

Οι ιοντισμένες ενώσεις προσροφώνται μέσω ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, ιοντοεναλλαγής, γέφυρας κατιόντος, συμπλοκοποίησης και δεσμών υδρογόνου [85]. Οι φαρμακευτικές ενώσεις, συνήθως διαθέτουν μεγάλο αριθμό ιονισμένων λειτουργικών ομάδων, με πολλαπλές σταθερές διάστασης, με αποτέλεσμα να έχουν προφανή τάση ιονισμού [17].

Μια επιπλέον κατηγοριοποίηση των μηχανισμών ρόφησης θέτει τη βάση της στην μεσολάβηση ή μη της δημιουργίας δεσμών, κι έτσι προκύπτουν οι έννοιες της φυσικής προσρόφησης, της χημικής προσρόφησης και της προσρόφησης ανταλλαγής [85] [76].

Η φυσική προσρόφηση σχετίζεται με τη συσσώρευση της χημικής ουσίας και των σωματιδίων του προσροφητικού υλικού στους πόρους του τελευταίου λόγω επίδρασης δυνάμεων Van der Waals. Τα μόρια που έχουν προσροφηθεί στην επιφάνεια ρόφησης κινούνται ελεύθερα χωρίς να έχουν συγκεκριμένο σημείο συγκράτησης [1]. Η φυσική προσρόφηση, η οποία είναι πιο διαδεδομένη είναι εύκολα αντιστρέψιμη διαδικασία κάτι που δεν ισχύει για τη χημική προσρόφηση [76].

Στη χημική ρόφηση, παρατηρείται συσσώρευση της χημικής ουσίας λόγω της δημιουργίας χημικών δεσμών μεταξύ αυτής και των σωματιδίων του προσροφητικού μέσου. Εφόσον η κινητήριος δύναμη της ανάπτυξης του μηχανισμού αυτού είναι ο σχηματισμός χημικού δεσμού, είναι αναμενόμενο ότι η φαρμακευτική ουσία χρειάζεται να έχει την ιδιότητα να προσροφάται από το εκάστοτε προσροφητικό υλικό προκειμένου να επιτευχθεί η χημική ρόφηση [1].

Η προσρόφηση ανταλλαγής προάγεται από την επίδραση ελκτικών ηλεκτροστατικών δυνάμεων μεταξύ της εκάστοτε ουσίας και των ιοντισμένων σωματιδίων του ροφητικού μέσου [1].

2.1.1. Υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις

Έρευνες που διεξήχθησαν με σκοπό τον προσδιορισμό της σχέσης μεταξύ του συντελεστή ρόφησης ορισμένων πολικών φαρμακευτικών ουσιών, κυρίως αμινών, σε εδαφικά υποστρώματα, έδειξαν ότι η ρόφηση καθίστατο ασυνήθιστα έντονη. Εξ' αφορμής των αποτελεσμάτων αυτών, πραγματοποιήθηκε πείραμα όπου μελετήθηκε η ρόφηση πολικών φαρμακευτικών ενώσεων, όπως καρβοξυλικά οξέα και αμίνες, σε αργιλικά ορυκτά, όπως ο μοντμοριλονίτης και ο καολινίτης, και σε άμμο πυριτίας. Τα αποτελέσματα υπέδειξαν ότι ειδικά για αμίνες σε αργιλικά ορυκτά, παρατηρείται υψηλός συντελεστής ρόφησης k_d , κάτι που υποδηλώνει ότι η ηλεκτροσυγγένεια παίζει σημαντικό ρόλο στην ρόφηση. Ως συμπέρασμα της έρευνας αυτής εξάγεται το ότι ανόργανα συστατικά χαρακτηρίζονται από υψηλό k_d σε αργιλικά ορυκτά, ενώ τα οργανικά από υψηλό k_d σε αμμώδη εδάφη. Όλα τα παραπάνω συμβάλλουν στην κατανόηση όχι μόνο του τρόπου μεταφοράς και κατανομής των PPCPs σε διάφορους τύπους εδάφους, αλλά και της βιοδιαθεσιμότητας και των περιβαλλοντικών κινδύνων που εγκυμονεί η άκριτη διάθεσή τους στο περιβάλλον. [91]

Οι υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις μεταξύ υδρόφοβων οργανικών ρυπαντών και οργανικού φορτίου του εδάφους, θεωρείται ότι αποτελούν τον κυρίαρχο μηχανισμό για τη ρόφηση φαρμακευτικών ρυπαντών [59]. Πρόσφατα, οι μέτρια υδρόφοβοι οργανικοί ρυπαντές, όπως οι ενώσεις που προκαλούν ορμονικές διαταραχές, έχουν απασχολήσει την ερευνητική κοινότητα σχετικά με τον τρόπο αφομοίωσής τους από το εδαφικό περιβάλλον. Η ρόφησή τους δεν

μπορούσε να εξηγηθεί πλήρως μέσω των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, κάτι που οδήγησε στη σκέψη ότι το ανόργανο κλάσμα μπορεί να παίζει καθοριστικό ρόλο στον τρόπο που ροφώνται από το έδαφος. [44] [95] [74]

Οι περισσότερες φαρμακευτικές ουσίες είναι μετρίως υδρόφοβες. Πλήθος μελετών έχει δείξει ότι ο συντελεστής ρόφησης προκύπτει μεγαλύτερος πειραματικά, συγκριτικά με την τιμή που λαμβάνεται μέσω υπολογιστικής πρόβλεψης βάσει των τιμών $\log K_{ow}$, με τους μηχανισμούς ρόφησης, πλην των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων, να επηρεάζουν σημαντικά την όλη διαδικασία. [67] [89]

Αποτελέσματα ερευνών έχουν καταδείξει τις αμίνες ως ενώσεις που παρουσιάζουν υψηλότερο συντελεστή ρόφησης K_d απ' ό,τι οι ουδέτερες, οι όξινες φαρμακευτικές ενώσεις και οι πολυκυκλικοί αρωματικοί υδρογονάνθρακες (PAHs) [90]. Συμπέρασμα της παραπάνω διαπίστωσης είναι ότι οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ θετικά φορτισμένων αμινών και αρνητικά φορτισμένου εδάφους, επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό τη ρόφηση, συναρτήσει των υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων.

2.1.2. Αλληλεπιδράσεις κατιόντος – π και π-π αλληλεπιδράσεις

Οι π – αλληλεπιδράσεις αποτελούν τύπο μη ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσονται σε π – συστήματα. Στα π – συστήματα, οι περιοχές που διαθέτουν υψηλή ηλεκτρονιακή συγκέντρωση, αλληλεπιδρούν με κατιόντα μετάλλων ή ουδέτερα μέταλλα, ανιόντα ή και άλλα π – συστήματα, ακριβώς όπως συμβαίνει και με τις περιπτώσεις των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων, όπου αρνητικό φορτίο αλληλεπιδρά με θετικό. Είναι γεγονός ότι οι μη ομοιοπολικές αλληλεπιδράσεις που σχετίζονται με π – συστήματα διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις βιολογικές διεργασίες, όπως για παράδειγμα στη μοριακή αναγνώριση πρωτεΐνης – προσδέτη. [1]

Οι αλληλεπιδράσεις π-π, είναι ασθενείς ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που αφορούν σε συστήματα αρωματικών δακτυλίων. Πρόκειται για αλληλεπιδράσεις που σημειώνονται μεταξύ περιοχών με υψηλή και χαμηλή ηλεκτρονιακή πυκνότητα [37], [65]. Θεωρούνται πιο συνήθεις στις ουδέτερες μορφές αρωματικών οξέων, βάσει των *Kah et al., 2017* [37]. Έρευνες που έχουν διεξαχθεί με σκοπό τον προσδιορισμό της συμπλοκοποίησης της σουλφαμεθαζίνης με κατιόντα Cd^{2+} και Pb^{2+} σε γκαϊτίτη, κατέδειξαν τις αλληλεπιδράσεις κατιόντος – π ως εκείνες που κυριαρχούσαν υπό όξινες συνθήκες [65]. Ανάλυση FTIR που έγινε προκειμένου να μελετηθεί η ρόφηση σουλφαμεθοξαζόλης σε αγροτικό χώμα, έδειξε πως το φαινόμενο κυριαρχείτο από αλληλεπιδράσεις π-π [32]. Σε άλλη έρευνα που διεξήχθη με σκοπό τον προσδιορισμό της συμπεριφοράς της σουλφαναμιδίου και της οξυτετρακυκλίνης με το οργανικό φορτίο δείγματος χώματος, κατέδειξαν τις αλληλεπιδράσεις π-π ως το βασικό μηχανισμό ρόφησης της φαρμακευτικής ουσίας στο έδαφος [3] [97]. Τέλος, απεδείχθη επίσης ότι οι π – π αλληλεπιδράσεις μεταξύ της λεβοφλοξασίνης και των αρωματικών δακτυλίων οργανικών οξέων, ενέτειναν το φαινόμενο της ρόφησης της PPCP στον γκαϊτίτη [56].

2.1.3. Δυνάμεις Van der Waals

Η ενέργεια που δεσμεύεται από την ανάπτυξη ενός δεσμού Van der Waals, είναι σχετικά μικρή, της τάξεως του 0.4 - 4kJ/mol [37], συγκριτικά με τους υπόλοιπους μηχανισμούς ρόφησης, χωρίς αυτό να καθιστά τη συμβολή των δυνάμεων αυτών ευτελούς σημασίας στη διαδικασία της ρόφησης. Πειραματικές μελέτες έχουν καταδείξει τις δυνάμεις Van der Waals ως την κινητήριο δύναμη της ρόφησης της οξυτετρακυκλίνης σε εδαφικό υπόστρωμα με υψηλό οργανικό περιεχόμενο [20].

Σπανίως οι φαρμακευτικές ενώσεις υπάρχουν μόνες τους στη φύση, καθώς μεσολαβούν αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στη σύζευξή τους με επιφάνειες ορυκτών. Έρευνα που διεξήχθη πάνω στην ρόφηση ναλιδιξικού και νιφλουμικού οξέος σε γκαϊτίτη, έδειξε ότι το διμερές ναλιδιξικού – νιφλουμικού οξέος εμφάνιζε υψηλή ρόφηση, με τις δυνάμεις Van der Waals να υποκινούν το φαινόμενο. [86] [87]

2.1.4. Ηλεκτροστατικές Αλληλεπιδράσεις

Πυροδοτούνται από ελκτικές δυνάμεις Coulomb που αναπτύσσονται μεταξύ αντίθετων ηλεκτρικών φορτίων και διαχωρίζονται σε ηλεκτροστατικές έλξεις και απωθήσεις.

Ηλεκτροστατικές Έλξεις

Αφορά τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ μιας φορτισμένης επιφάνειας ροφητικού μέσου και ενός φορτισμένου ροφητικού μέσου. Στον εν προκειμένω μηχανισμό, έχει διαπιστωθεί ότι η αύξηση του pH συνεπάγεται αύξηση της ρόφησης των κατιοντικών μορφών μιας φαρμακευτικής ένωσης, ενώ οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ αρνητικά φορτισμένων σωματιδίων του εδάφους και θετικά φορτισμένων PPCPs ευνοούνται. [53]

Ηλεκτροστατικές απωθήσεις

Ο μηχανισμός αυτός συμβάλει σημαντικά στον περιορισμό της ρόφησης φαρμακευτικών ενώσεων από αρνητικά φορτισμένα ροφητικά μέσα. [37]

2.1.5. Ιοντοεναλλαγή

Αποτελεί την διαδικασία έλξης ενός κατιόντος σε αρνητικά φορτισμένο σημείο στην επιφάνεια του ροφητικού μέσου και συνοδεύεται από την ανταλλαγή ενός κατιόντος με ένα άλλο στο σημείο δημιουργίας δεσμού. [85]

2.1.6. Γέφυρα κατιόντος

Προκύπτει από το σχηματισμό εσωσφαιρικού συμπλόκου μεταξύ ενός κατιόντος στην επιφάνεια του ροφητικού και μιας ανιοντικής λειτουργικής ομάδας στο ροφούμενο μέσο [37]. Αποτελεί σημαντικό μηχανισμό ρόφησης ανιόντων σε περιπτώσεις φυσικών ροφητικών

μέσων.

2.1.7. Συμπλοκοποίηση

Αφορά στην δημιουργία εσωτερικού συμπλόκου και ευνοείται από την αύξηση της επιφάνειας, του μεγέθους και του πλάτους των πόρων του ροφητικού μέσου. Ευνοείται όταν συνυπάρχουν βαρέα μέταλλα με ορισμένες PPCPs οι οποίες σχηματίζουν σύμπλοκα με μεταλλικά κατιόντα [81]

2.1.8. Δεσμοί υδρογόνου

Για ένα εύρος ενέργειας της τάξεως των 4-17 kJ/mol, ευνοείται η δημιουργία δεσμών υδρογόνου μεταξύ αρνητικά φορτισμένων ιόντων και θετικά φορτισμένων λειτουργικών ομάδων (πχ -OH) [66]. Ο συγκεκριμένος αποτελεί καίριο μηχανισμό ρόφησης φαρμακευτικών ενώσεων από το έδαφος, όπως για παράδειγμα της σουλφαμεθοξαζόλης σε αγροτικό χώμα [37].

2.2. Παράγοντες που επηρεάζουν τη ρόφηση

Η ρόφηση μιας φαρμακευτικής ένωσης από το έδαφος εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες τόσο της ένωσης αυτής καθ' αυτής, όσο και του εδάφους στο οποίο αποτίθεται.

Περιβαλλοντικοί Παράγοντες που επηρεάζουν τη ρόφηση

Το pH, η ιοντική ισχύς, η θερμοκρασία καθώς επίσης και το οργανικό φορτίο, δύνανται να προάγουν ή να παρεμποδίσουν τη ρόφηση, ανάλογα την περίπτωση [85]. Ως δευτερεύοντες παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τη ρόφηση, αλλά σε μικρότερο βαθμό, είναι η περιεκτικότητα σε ανόργανα κolloειδή και η περιεκτικότητα σε νερό [84]. Παρακάτω θα συζητηθεί το πώς αναμένεται να επηρεάσει ο κάθε φυσικοχημικός παράγοντας τη ρόφηση μιας φαρμακευτικής ουσίας από το έδαφος.

- pH

Κωδωνοειδής Μεταβολή

Σε αυτού του τύπου μεταβολής της ρόφησης συναρτήσει του pH του εδάφους, παρατηρείται χαμηλή ρόφηση σε χαμηλά και υψηλά pH, ενώ σχηματίζεται μέγιστο σε τιμές pH που βρίσκονται πλησίον του μέσου της πεχαμετρικής κλίμακας [85].

Μείωση ρόφησης με αύξηση του pH

Με αύξηση του pH μειώνεται το θετικό φορτίο της ένωσης, με αποτέλεσμα την εξασθένιση του ροφητικού φαινομένου. Το φαινόμενο αυτό συσχετίζεται με την τάσης μετατροπής των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων σε υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και τέλος σε

ηλεκτροστατικές απωθήσεις [98]. Σε έρευνες που διεξήχθησαν με σκοπό τη μελέτη της ρόφησης της σουλφαμεθοξαζόλης, παρατηρήθηκε ότι η θετικά φορτισμένη αυτή ένωση, έλκεται ηλεκτροστατικά σε χαμηλό Ph από αρνητικά φορτισμένο υπόστρωμα χώματος. [64]

Αύξηση ρόφησης με αύξηση του pH

Μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένες ουσίες, όταν βρίσκονται σε κάποιο ροφητικό μέσο με χαμηλό pH, δυσχεραίνεται το φαινόμενο της ρόφησης [85]. Επί παραδείγματι, σε όξινες συνθήκες, η τυλοσίνη βρισκόταν υπό μορφή κατιόντος και το χώμα στο οποίο είχε διασπαρθεί ήταν θετικά φορτισμένο. Το φαινόμενο αυτό εξηγείται μέσω της ανάπτυξης ηλεκτροστατικών απωθήσεων μεταξύ της φαρμακευτικής ένωσης και του εν προκειμένω εδάφους, κάτι που εμποδίζει την ρόφηση, και συνάγεται το συμπέρασμα ότι το συγκεκριμένο ζεύγος ροφητικού – ροφούμενου, χαρακτηρίζεται από υψηλή ρόφηση σε αλκαλικές συνθήκες, και συγκεκριμένα σε $pH > 9.45$ [27]. Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί ότι η ρόφηση των ασθενών οξέων και βάσεων είναι ανάλογη με την περιεκτικότητα του εδάφους σε οργανική ουσία και αντιστρόφως ανάλογη με το pH. Επιπλέον, στην περίπτωση των ασθενών βάσεων και των μη ιονισμένων γεωργικών φαρμάκων, η ρόφηση εξαρτάται και από την περιεκτικότητα του εδάφους σε άργιλο [82].

- [Ιοντική Ισχύς](#)

Κωδωνοειδής Μεταβολή

Μέσω πειραματικών αναλύσεων, διαπιστώθηκε ότι αντιβιοτικά όπως η σουλφαμεθοξαζόλη αντιδρούσαν με μεταλλοκατιόντα και θετικά φορτισμένες επιφάνειες, διαδικασία που ονομάζεται και γέφυρα κατιόντος. Διαπιστώθηκε πως όσο αυξανόταν η συγκέντρωση των μεταλλοκατιόντων, υπήρχε ανταγωνιστική ρόφηση μεταξύ αυτών και των αντιβιοτικών, με αποτέλεσμα τη μειωμένη ρόφηση των τελευταίων. [32]

Μείωση ρόφησης με αύξηση IS

Η παρεμποδιστική επίδραση της ιοντικής ισχύος στη ρόφηση μιας PPCP, διαπιστώνεται με τους κάτωθι τρόπους. Κατ' αρχήν, πιθανολογείται η ύπαρξη ανταγωνιστικού μηχανισμού ρόφησης μεταξύ της φαρμακευτικής ουσίας και των κατιόντων [54]. Με αύξηση της ιοντικής ισχύος, τα κατιόντα ανέπτυσαν ηλεκτροστατικούς δεσμούς με την επιφάνεια του εδάφους και ανόργανα κατιόντα ικανά ανταλλαγής κατέλαβαν τα εν δυνάμει σημεία ρόφησης. Συν τω χρόνω, οι καρβοξυλικές και οι υδροξυλικές ομάδες των οργανικών ουσιών δεν μπορούσαν να ενωθούν με την εκάστοτε φαρμακευτική ουσία με δεσμούς υδρογόνου, όπως θα αναμενόταν, με αποτέλεσμα να εξασθενεί η ροφητική ικανότητα.

Με αύξηση της ιοντικής ισχύος, κατά *Bialk-Bielinska et al., 2012*, παρατηρήθηκε λέπτυνση της ηλεκτρικής διπλοστιβάδας κάτι που οδήγησε σε μείωση του αρνητικού φορτίου και κατ' επέκταση μείωση της ρόφησης του θετικού φορτίου. [8]

Οι Guo et al., 2016, μέσω πειραματικών μετρήσεων σε τυλοσίνη και χουμικά οξέα, κατέγραψαν πως η αύξηση της ιοντικής ισχύος συνδεόταν άμεσα με τη συρρίκνωση και τη μείωση του πορώδους των χουμικών οξέων. Κάτι τέτοιο, οδήγησε στη μείωση του αριθμού των σημείων ρόφησης, εξού και η εξασθένηση των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ της τυλοσίνης και των χουμικών οξέων, καταλήγοντας στη μείωση της ροφητικής ικανότητας. [26]

Αύξηση ρόφησης με αύξηση IS

Υπάρχουν δύο βασικοί μηχανισμοί μέσω των οποίων εκφράζεται η ιοντική ισχύς επηρεάζει τη ρόφηση PPCPs από το έδαφος. Η θεωρία DLVO, που έχει ονομασθεί από τους Derjaguin, Landau, Verwey και Overbeek, ορίζει ότι υψηλή ιοντική ισχύς μπορεί να συμπιέσει την ηλεκτρική διπλοστιβάδα, να μειώσει τις ηλεκτροστατικές απωθήσεις μεταξύ του εδάφους και μιας φαρμακευτικής ένωσης και κατ' επέκταση να διευκολύνει το ροφητικό φαινόμενο [88]. Επιπλέον, αυξημένη ιοντική ισχύς συνδέεται άμεσα με αύξηση της ρόφησης της σουλφαμεθοξαζόλης σε κοινό χώμα, κάτι που αποδίδεται σε γέφυρα κατιόντος. Όταν αυξάνεται η ιοντική ισχύς, τα κατιόντα ασβεστίου Ca^{2+} μπορούν να αντικαταστήσουν τα υδρογονοκατιόντα και η σουλφαμεθοξαζόλη να συμπλοκοποιηθεί με Ca^{2+} . Μια άλλη εξήγηση υπαγορεύει ότι το φαινόμενο salting-out προκάλεσε τη μείωση της διαλυτότητας της σουλφαμεθοξαζόλης σε ηλεκτρολυτικό διάλυμα, και κατ' επέκταση την καθίζησή της στο χώμα. [64]

- [Θερμοκρασία](#)

Ενδόθερμη Ρόφηση

Κατά την ενδόθερμη ρόφηση, η αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνει την διαδικασία της ρόφησης στο έδαφος. Κάτι τέτοιο οφείλεται στο γεγονός ότι αυξημένη θερμοκρασία, συνεπάγεται χαμηλό ιξώδες του διαλύματος και κατ' επέκταση αύξηση του ρυθμού διάχυσης των μορίων, υποβοηθώντας τις PPCPs να εισχωρούν ευκολότερα στο πορώδες του ροφητικού μέσου. [25]

Εξώθερμη Ρόφηση

Κατά την εξώθερμη ρόφηση, επικρατεί η ακριβώς αντίστροφη κατάσταση. Η αποτελεσματικότητα της ρόφησης αυξάνεται με μείωση της θερμοκρασίας, φαινόμενο που απαντάται στην ρόφηση της σουλφαμεθοξαζόλης σε χουμικά οξέα του εδάφους. [45]

- [Οργανικό Φορτίο \(SOM\)](#)

Το οργανικό φορτίο θεωρείται ιδιαίτερα καίριος παράγοντας που επηρεάζει την ρόφηση υδρόφοβων οργανικών ρυπαντών. Τα χαρακτηριστικά της οργανικής ουσίας διαδραματίζουν

σημαντικότερο ρόλο στην διαδικασία της ρόφησης, καθώς μπορούν να επηρεάσουν την προσροφητική ικανότητα του εδάφους [34]. Σύμφωνα με μελέτες, έχει διαπιστωθεί ότι η οργανική ουσία στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, αυξάνει την προσρόφηση γεωργικών φαρμάκων στο έδαφος [13], και ως αποτέλεσμα η έκπλυση περιορίζεται. Η ισχυρή προσρόφηση, συνεπώς, ενδέχεται να οδηγήσει στη μετακίνηση των εν λόγω σκευασμάτων μέσω επιφανειακής απορροής. [23]

Παραδόξως, η ρόφηση ιονισμένων και πολικών ενώσεων, δεν επηρεάζεται σημαντικά από το οργανικό φορτίο, κάτι που έχει αποδειχθεί πειραματικά ουκ ολίγες φορές, και συχνά αποδίδεται στα αδύναμα ηλεκτροστατικά φαινόμενα που χαρακτηρίζουν τα χουμικά οξέα του εδάφους. [92]

Το οργανικό φορτίο μπορεί να προωθήσει τη ρόφηση μιας φαρμακευτικής ουσίας στο χώμα με ποικίλους τρόπους. Η φυσική οργανική ύλη μπορεί να αυξήσει το αρνητικό φορτίο στην επιφάνεια των οξειδίων του σιδήρου που υπάρχουν στο έδαφος, και ως αποτέλεσμα να ενταθούν οι ηλεκτροστατικές έλξεις και κατ' επέκταση να προαχθεί η ρόφηση θετικά φορτισμένων PPCPs. Η παρουσία οργανικού φορτίου μπορεί να αυξήσει τη σταθερότητα των κολλοειδών σωματιδίων οξειδίων σιδήρου, κάτι που οδηγεί στη δημιουργία επιπλέον θέσεων ρόφησης για τις φαρμακευτικές ουσίες. Εκτός αυτού, ο σχηματισμός χημικών ενώσεων μπορεί να εντείνει τη ρόφηση. Για παράδειγμα, οι πρωτεϊνικές ουσίες που υπάρχουν στην οργανική ύλη μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως έναυσμα για τη δημιουργία μιας χημικής ένωσης με μόρια του εκάστοτε χώματος και κάποιας φαρμακευτικής ουσίας, όπως στην περίπτωση της έρευνας που διεξήχθη σε γκαϊτίτη με σουλφαμεθαζίνη. [5]

Παρά ταύτα, η οργανική ύλη μπορεί να αποτελέσει τροχοπέδη στο φαινόμενο της ρόφησης φαρμακευτικών ενώσεων από το έδαφος. Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι η ροφητική ικανότητα δείγματος μοντμοριλονίτη μειώθηκε σημαντικά όταν αυξήθηκε η συγκέντρωση των χουμικών οξέων στο έδαφος, κάτι που αποδόθηκε στο γεγονός ότι η οξυτετρακυκλίνη προσροφούταν από τα μόρια των χουμικών οξέων. [43]

Φυσικοχημικές Ιδιότητες PPCPs που επηρεάζουν τη ρόφηση

Οι βασικές φυσικοχημικές ιδιότητες μιας ένωσης που επηρεάζουν την προσρόφηση σχετίζονται με το μέγεθος του μορίου, την πολικότητα, τον ιονισμό, την υδροφιλία/υδροφοβία και κατ' επέκταση τη λιποφιλία του μορίου, τον χημικό χαρακτήρα, την διαλυτότητα στο νερό και φυσικά το συντελεστή ρόφησης [101]. Σχετικά με το χημικό χαρακτήρα, έχει διαπιστωθεί ότι ο βαθμός προσρόφησης φυτοπροστατευτικών ουσιών ακολουθεί την εξής αυξητική σειρά:

ασθενή οξέα < ασθενείς βάσεις < μη ιονιζόμενα < κατιονικά

Η βασική φυσικοχημική ιδιότητα, όμως, που επηρεάζει σημαντικά το ροφητικό φαινόμενο και θα απασχολήσει και την εργαστηριακή έρευνα που έγινε για την εν λόγω διπλωματική, είναι η λιποφιλία. Είναι ευρέως γνωστό ότι η ρόφηση μιας ουδέτερης χημικής ένωσης από το χώμα

συνδέεται άρρηκτα με την λιποφιλία της, καθώς η όλη διαδικασία μπορεί να θεωρηθεί ως μια κατανομή μεταξύ της υδατικής και της λιγότερο πολικής φάσης του χώματος. [69] [73] [31]

2.3. Συντελεστής ρόφησης (K_d)

Ο συντελεστής ρόφησης, ή συντελεστής κατακράτησης, (K_d), χρησιμοποιείται σε μοντέλα που προορίζονται για να εκφράσουν ποσοτικά την παρουσία μιας ουσίας είτε στο έδαφος είτε στον υδροφόρο ορίζοντα. Αποτελεί καίρια παράμετρο εκτίμησης της κατανομής, της κινητικότητας, της βιοαποικοδόμησης και της βιοσυσσώρευσης μιας φαρμακευτικής ουσίας σε κάποια συνεχή φάση, εκφράζοντας απτά την κινητικότητα της ουσίας στο μέσο αυτό. Γενικότερα, λόγω του προσεγγιστικού χαρακτήρα των υπολογιστικά εκτιμώμενων τιμών K_{oc} από τις παρούσες μεθόδους ανάλυσης, κρίνεται δόκιμη η χρήση πειραματικών τιμών προκειμένου να εκτιμηθεί η τύχη μιας ένωσης στο περιβάλλον.

Ο συντελεστής ρόφησης (K_d) αποτελεί, πρακτικά, τον λόγο κατανομής μιας ένωσης στην οργανική (χώμα) και την υδατική (H₂O) φάση, και προσδιορίζεται μέσω της σχέσης:

$$K_d = \frac{[\text{Chemical substance in soil}]}{[\text{Chemical substance in H}_2\text{O}]} \quad (1)$$

Υψηλή τιμή συντελεστή ρόφησης συνεπάγεται υψηλή δέσμευση στο χώμα και κατ' επέκταση χαμηλή ευκινησία της οργανικής ύλης, ενώ χαμηλή τιμή K_{oc} υποδηλώνει υψηλή κινητικότητα στο χώμα, άρα και μικρή δέσμευση στο ροφητικό μέσο.

Γενικότερα, είναι προτιμότερο η τιμή K_d να βρίσκεται εντός μέσων επιπέδων, δηλαδή να μην είναι ούτε ακραία υψηλή, ούτε ιδιαίτερα χαμηλή. Αυτό προκύπτει από το γεγονός ότι υπερβολικά υψηλή κατακράτηση μιας φαρμακευτικής ουσίας στο έδαφος ίσως δυσχεραίνει την επιβίωση έμβιων όντων των οποίων φυσικό βιότοπο αποτελεί το χώμα, όπως οι σκώληκες ή τα φυτά. Υπερβολικά χαμηλή κατακράτηση, από την άλλη, σηματοδοτεί την πιθανή διήθηση και μεταφορά των ενώσεων αυτών στο υπόγειο νερό, με εν δυνάμει συνέπεια την ρύπανση του υδροφόρου ορίζοντα και διατάραξη του κύκλου του νερού. [62]

Λόγω του ότι έχει αποδειχθεί ο συντελεστής ρόφησης (K_d) εξαρτάται άμεσα από το περιεχόμενο σε οργανική ουσία του χώματος, είθισται να γίνεται η διόρθωσή του με την ποσότητα οργανικού άνθρακα που εμπεριέχει το εν λόγω χώμα, κι έτσι προκύπτει ο διορθωμένος συντελεστής ρόφησης, K_{oc} [102]. Ο λόγος, λοιπόν, του συντελεστή ρόφησης K_d προς την μάζα οργανικού άνθρακα ανά μονάδα μάζας χώματος, δίδεται από την σχέση (2):

$$K_{oc} = \frac{K_d}{OC} \quad (2)$$

3. Λιποφιλία

Η λιποφιλία, βάσει της IUPAC, αποτελεί καίριας σημασίας φυσικοχημική ιδιότητα και εκφράζει την συγγένεια ενός μορίου (φαρμακομόριο) ή τμήματος αυτού προς ένα λιπόφιλο περιβάλλον

(έδαφος). Η λιποφιλία επηρεάζει σημαντικά την φαρμακοκινητική και τη φαρμακοδυναμική συμπεριφορά του μορίου, καθώς συνδέεται άρρηκτα με τις παθητικές διαδικασίες και τις διαδικασίες σύνδεσης.

Η υψηλή λιποφιλία συνεπάγεται χαμηλή βιοδιαθεσιμότητα κάτι που ευνοεί την παρατεταμένη παραμονή του φαρμάκου στον οργανισμό. Κατ' επέκταση, παρατηρούνται αθροιστικά φαινόμενα τα οποία με τη σειρά τους οδηγούν στην εκδήλωση τοξικότητας λόγω υπερβολικής συσσώρευσης φαρμάκου στα ουδέτερα λίπη. Προκειμένου ο οργανισμός να μπορεί να απεκκρίνει ιδιαίτερα λιπόφιλα μόρια, επιδίδεται στη μείωση της λιποφιλίας και σε βιομετατροπή αυτών σε υδρόφιλα. Εξαιτίας της τάσης του οργανισμού να αμυνθεί έναντι λιπόφιλων μορίων, η αυξημένη λιποφιλία δύναται να προκαλέσει, ακόμη και επαγωγή μικροσωμικών ενζύμων, ενώ πιθανολογείται ακόμη και η δυσχέραινηση της τελικής μορφοποίησης του φαρμάκου. [100]

Η σχέση μεταξύ λιποφιλίας – υδροφοβίας – πολικότητας δίνεται μέσω της παρακάτω ποιοτικής έκφρασης:

$$\text{ΛΙΠΟΦΙΛΙΑ} = \text{ΥΔΡΟΦΟΒΙΑ} - \text{ΠΟΛΙΚΟΤΗΤΑ} (3)$$

Η υδροφοβία εκφράζει την τάση σχηματισμού συσσωματωμάτων από μη πολικά μόρια ή ομάδες σε ένα υδατικό περιβάλλον, ενώ η πολικότητα αφορά την ικανότητα δημιουργίας δεσμών υδρογόνου. Παρ' όλα αυτά, η λιποφιλία, λανθασμένα χρησιμοποιείται εκ παραδρομής ως έννοια ταυτόσημη της υδροφοβίας, καθώς η μεν πρώτη, αποτελεί μια ιδιαίτερα σύνθετη φυσικοχημική παράμετρο έκφρασης της συγγένειας μια ουσίας με ένα λιπόφιλο περιβάλλον, ενώ η δε δεύτερη, αφορά την τάση μη πολικών μορίων ή ομάδων να σχηματίζουν συσσωματώματα όταν βρεθούν σε υδατικό περιβάλλον. [100]

3.1. Έκφραση λιποφιλίας μέσω συντελεστών

Η πολυδιάστατη φύση της λιποφιλίας έχει οδηγήσει στην ανάγκη να οριστούν δείκτες που εκφράζουν ποσοτικά την λιποφιλία μιας ένωσης, με σκοπό αφενός μια πιο απτή περιγραφή της συγγένειας με ένα λιπόφιλο περιβάλλον, κι αφετέρου την επιτάχυνση του σχεδιασμού νέων υποψήφιων φαρμάκων. Οι συντελεστές μερισμού και κατανομής αποτελούν τέτοιους δείκτες, οι οποίοι διεξάγονται ημιεμπιρικά, καθώς αποτελούν απόρροια επεξεργασίας πειραματικών τιμών από μια τεράστια βάση δεδομένων, μέσω υπολογιστικών συστημάτων.

Παρ' όλα αυτά, κρίνεται απαραίτητο να επισημανθεί ότι οι τιμές $\log D$, $\log P$ που προκύπτουν δεν είναι 100% αξιόπιστες, παρά το πλήθος των δεδομένων που υπάρχουν σχετικά με τον υπολογισμό τους. Για το λόγο αυτό, η έρευνα πάνω στο συγκεκριμένο πεδίο βρίσκεται συνεχώς σε εξέλιξη, προκειμένου να γίνεται άμεση επικαιροποίηση και βελτιστοποίηση του συστήματος δεδομένων. [100]

3.2. Συντελεστής Μερισμού (P)

Η ισορροπία μεταξύ υδατικής και λιπιδικής φάσης εκφράζει την κατανομή του φαρμάκου μεταξύ των δύο αυτών φάσεων μέσω της σταθεράς ισορροπίας P, ή αλλιώς το συντελεστή μερισμού (Partition Coefficient), ο οποίος αποτελεί μέτρο της λιποφιλίας ενός μορίου.

$$C_{\text{υδατική}} \rightleftharpoons C_{\text{λιπιδική}} \quad (4)$$

Στην παραπάνω ισορροπία μεταξύ των δύο φάσεων, ο συντελεστής μερισμού P εκφράζεται ως εξής:

$$P = \frac{C_{\text{λιποειδική}}}{C_{\text{υδατική}}} \quad (5)$$

3.3. Συντελεστής Κατανομής (D)

Τα φάρμακα ανάλογα με το pH στο οποίο βρίσκονται δύνανται να εμφανίζονται άλλοτε με λιγότερο και άλλοτε με περισσότερο ιοντισμένη μορφή. Για το λόγο αυτό, θεσπίστηκε ο συντελεστής κατανομής (D), ο οποίος συνυπολογίζει την ενδογενή λιποφιλία κάθε ιοντισμένης ή αδιάστατης μορφής υπό την οποία εμφανίζεται η εκάστοτε φαρμακευτική ένωση, και συγκεκριμένα, ισούται με το πηλίκο του αθροίσματος των συγκεντρώσεων των ιοντισμένων και μη μορφών στην οργανική φάση προς την υδατική φάση. [100]

$$D = \frac{\sum C_{\text{οργ}}}{\sum C_{\text{υδ}}} \quad (6)$$

3.4. Συσχέτιση logP-logD

Υπό τη θεώρηση ότι η εκάστοτε ουσία βρίσκεται σε μονομερείς μορφές, γίνεται ο συσχετισμός των συντελεστών κατανομής και μερισμού μέσω της παρακάτω σχέσης:

$$\log D = \log [f^N P^N + \sum (f^I P^I)] \quad (7)$$

όπου f^N, f^I τα κλάσματα της ουδέτερης και της ιοντισμένης μορφής αντιστοίχως και P^N, P^I οι συντελεστές μερισμού της ουδέτερης και της ιοντισμένης μορφής αντιστοίχως. Παρ' όλα αυτά, αφενός επειδή ο συντελεστής μερισμού P της αδιάστατης μορφής είναι κατά τι μεγαλύτερος από εκείνον της ιοντισμένης, κι αφετέρου διότι αποδεικνύεται ότι στην οργανική φάση έχουμε κατανομή μόνο της ουδέτερης μορφής, καταλήγουμε στην εξής απλοποιημένη σχέση μεταξύ P,D:

$$\log D = \log (f^N P) \quad (8)$$

Η σχέση (8) μετατρέπεται στην ακόμα απλούστερη μορφή:

$$\log P = \log D + Q \quad (9)$$

όπου Q η διόρθωση που εξαρτάται από την σταθερά ισορροπίας της ένωσης (pKa) και το pH του διαλύματος. [100]

3.5. Μέθοδος Ανακινούμενης Φιάλης

Η Μέθοδος Ανακινούμενης Φιάλης, αποτελεί άμεση μέθοδο προσδιορισμού των συντελεστών μερισμού (logP) και κατανομής (logD) στο σύστημα οκτανόλης-νερού. Το σύστημα αυτό έχει επιλεγεί ως το ιδανικότερο για την εν προκειμένω ανάλυση, λόγω της μέσης ικανότητας κορεσμού της οκτανόλης σε νερό, ιδιότητα που προάγει τη διεξαγωγή των υπολογισμών.

Η διαδικασία που ακολουθείται είναι αρκετά χρονοβόρος και σύνθετη, λόγω της ακρίβειας που απαιτείται στους υπολογισμούς, της καθαρότητας που οφείλουν να πληρούν τα αντιδραστήρια καθώς επίσης και της φύσης της μεθόδου που διαθέτει αρκετά υψηλά όρια ανίχνευσης συγκριτικά με άλλες, πιο ευαίσθητες μεθόδους. Τροχοπέδη στην αβίαστη διεξαγωγή των μετρήσεων αποτελεί και η κακή επαναληψιμότητα που τις χαρακτηρίζει, με αποτέλεσμα οι ελάχιστα διαφορετικές συνθήκες διεξαγωγής της ανάλυσης να διαφοροποιούν αισθητά τα προκύπτοντα αποτελέσματα.

Αρχικά, παρασκευάζεται το κατάλληλο ρυθμιστικό διάλυμα και ακολουθεί κορεσμός των δύο φάσεων. Στη συνέχεια, παρασκευάζεται ένα διάλυμα παρακαταθήκης της ουσίας στο κορεσμένο με οκτανόλη ρυθμιστικό διάλυμα και επιλέγεται η αναλογία όγκων οκτανόλης-νερού, με σκοπό την ιδανική κατανομή της ουσίας στην οργανική και την υδατική φάση. Να σημειωθεί πως όταν η ανάλυση αφορά σε λιπόφιλες ενώσεις, ο απαιτούμενος όγκος οκτανόλης είναι μικρός, ενώ σε υδρόφιλες συμβαίνει το αντίθετο. Ύστερα, το διάλυμα αφήνεται να έρθει σε ισορροπία και να κατανεμηθεί επαρκώς η ουσία στις δύο φάσεις για το απαραίτητο χρονικό διάστημα, το οποίο ποικίλει ανάλογα με τη φύση του διαλύματος, και κυμαίνεται από ορισμένα λεπτά μέχρι κάποιες ώρες. Εν τέλει, μεσολαβεί φυγοκέντρωση του διαλύματος, προκειμένου να διαχωριστούν καταλλήλως οι φάσεις και ύστερα ακολουθεί ο προσδιορισμός του συντελεστή μερισμού D μέσω της μαθηματικής σχέσης (10), όπου A_0 και A_1 το σήμα πριν και μετά την φυγοκέντρωση αντίστοιχα. [100]

$$D = \frac{A_0 - A_1}{A_1} \times \frac{V_{v\delta}}{V_{o\rho\gamma}} \quad (10)$$

4. Υπολογιστικές μέθοδοι εκτίμησης συντελεστή ρόφησης, (Kd)

Η αδυναμία προσδιορισμού της κατανομής φαρμακευτικών και μη ουσιών σε πάσης φύσεως εδαφικά υποστρώματα, για λόγους οικονομικούς και χρόνου, δημιούργησε την ανάγκη για ανάπτυξη κατάλληλων μηχανισμών προκειμένου να καταστεί δυνατή η πρόβλεψη της κατανομής των ουσιών στο έδαφος. Οι πειραματικοί προσδιορισμοί δεν είναι δυνατό να εφαρμοστούν σε κάθε περίπτωση, κι έτσι η επιστήμη έχει στραφεί στο σχεδιασμό ειδικών

λογισμικών, δωρεάν και μη, τα οποία εξειδικεύονται στην πρόβλεψη της συμπεριφοράς των φαρμακευτικών ενώσεων στο έδαφος.

Τα λογισμικά για τα οποία γίνεται λόγος, λειτουργούν χρησιμοποιώντας ειδικές εξισώσεις που συσχετίζουν τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ενώσεων που μελετώνται, με την αλληλεπίδρασή τους στον ανθρώπινο οργανισμό όταν πρόκειται για φαρμακευτικό/ιατρικό σκοπό, ή με τις περιβαλλοντικές συνθήκες όταν πρόκειται για κάποια περιβαλλοντική έρευνα. Οι εξισώσεις αυτές προκύπτουν από πραγματικά πειράματα που έχουν λάβει χώρα, και όσο πληθαίνουν οι προσδιοριζόμενες τιμές, τόσο πιο επικαιροποιημένες και ακριβείς γίνονται οι εξισώσεις, και κατ' επέκταση το εκάστοτε λογισμικό. [18]

4.1. Σχέσεις Δομής – Δράσης (QSAR)

Οι ποσοτικές σχέσεις δομής-δράσης (QSAR) αναπτύχθηκαν προκειμένου να γίνει συσχέτιση μεταξύ των δομικών ή φυσικοχημικών χαρακτηριστικών ενός μορίου με τη βιολογική του δράση.

Η μελέτη των QSAR μετρά δεκαετίες έρευνας, καθώς η πρώτη επαφή έγινε το 1868 από τους Crum-Brown και Fraser, οι οποίοι διατύπωσαν την άποψη ότι η βιολογική δράση προκύπτει συναρτήσει της δομής των χημικών ενώσεων. Αργότερα, θα προταθεί η σύνδεση της δράσης των ναρκωτικών με τη διαλυτότητά τους στο νερό από τον Richet, ενώ οι Overton και Meyer θα ανακαλύψουν ότι η βιολογική δράση των ναρκωτικών συσχετίζεται άμεσα με τη λιποφιλία.

Το 1964 θα σημειωθεί σημαντική πρόοδος για τη σχέση δομής – δράσης των ουσιών, όπου θα αναπτυχθεί η εφαρμογή μοντέρνων μεθοδολογιών QSAR. Η Hansch ανάλυση (1964) αφορούσε μια σειρά φαινοξυ-οξικών οξέων με δράση ρυθμιστών της ανάπτυξης των φυτών, και κατέληξε στην παρακάτω σχέση (11) που μαθηματικοποιεί την επίδραση των υδρόφοβων, στερικών και ηλεκτρονιακών παραμέτρων.

$$\log BR = -a(\log P)^2 + b \log P + \rho \sigma + dES + C \quad (11)$$

Όπου οι παράμετροι a , b , ρ , d και C αποτελούν σταθερούς όρους που προκύπτουν από πολλαπλή ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης. Επίσης, $\log BR$ είναι η γενική έκφραση της βιολογικής απόκρισης (Biological Response), $\log P$ ο συντελεστής μερισμού ως μέτρο της λιποφιλίας της ένωσης, σ η ηλεκτρονιακή σταθερά του Hammett, που εκφράζει τις ηλεκτρονιακές ιδιότητες των υποκαταστατών, και τέλος η στερική σταθερά του Taft, που εκφράζει τις στερικές ιδιότητες των υποκαταστατών. [28]

Μια σχέση QSAR, αποτελεί μια πολύπλοκη μαθηματική σχέση μεταξύ συνδυασμών δισδιάστατων ή και τρισδιάστατων φυσικοχημικών ιδιοτήτων και της βιολογικής τους δράσης. Η θεωρία στην οποία βασίζεται το QSAR υπαγορεύει ότι οι διαφορές στις δομικές ιδιότητες των μορίων που υπολογίζονται πειραματικά, βρίσκονται σε πλήρη αντιστοιχία με τις διαφορές που εντοπίζονται στις βιολογικές τους ιδιότητες. [29]

Η μελέτη QSAR, προκειμένου να θεωρηθεί αξιόπιστη, χρειάζεται να πληροί κάποιες προδιαγραφές. Συγκεκριμένα:

- Απαιτείται η επιλογή σειράς δομικών συγγενών ενώσεων, οι οποίες χαρακτηρίζονται από επαναληψιμότητα στις μετρήσεις, καθώς επίσης και από καταλλήλως κατανομημένες τιμές βιολογικής δράσης ως προς ορισμένο στόχο – υποδοχέα.
- Επιλογή παραμέτρων για την περιγραφή της δομής των ενώσεων (υπολογιστικές και πειραματικές).
- Εξαγωγή εξίσωσης – μοντέλου μέσω στατιστικών μεθόδων.
- Έλεγχος αξιοπιστίας και επικύρωση του μοντέλου QSAR που προέκυψε.
- Η ερμηνεία του μοντέλου ως προς τη συμβολή του σε περαιτέρω σύνθεση καινοτόμων αναλόγων.
- Επικαιροποίηση των ήδη υπάρχοντων μοντέλων μέσω ανατροφοδότησης με νέα δεδομένα.

Οι ποσοτικές σχέσεις Δομής – Δράσης αποτελούν σήμερα ένα εύχρηστο εργαλείο για την πρόβλεψη της συμπεριφοράς μιας ένωσης βάσει των φυσικοχημικών χαρακτηριστικών της, κάτι που έχει συμβάλει σημαντικά στον ταχύτερο σχεδιασμό φαρμάκων, στοχεύοντας αφενός στην κατανόηση του μηχανισμού της δράσης, κι αφετέρου στον περιορισμό της πιθανότητας αποτυχίας, και κατ' επέκταση του κόστους του όλου εγχειρήματος. [21]

Πέραν των φαρμακευτικών επιστημών, οι ποσοτικές σχέσεις Δομής-Δράσης (QSAR) βρίσκουν ευρεία εφαρμογή και στις περιβαλλοντικές επιστήμες. Έρευνες έχουν καταδείξει ότι οι ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις σχετίζονται άμεσα με το βαθμό ιονισμού της ένωσης, ο οποίος εκφράζεται μαθηματικά μέσω της τιμής pK_a [57]. Η προσρόφηση ιονισμένων ενώσεων από το χώμα είναι αλληλένδετη με το pH και την σύσταση του χώματος [35]. Άλλες έρευνες που έλαβαν χώρα με σκοπό την σύνδεση των ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων που αναπτύσσονται με το συντελεστή ρόφησης και τους συντελεστές μερισμού ($\log P$) και κατανομής ($\log D$), κατέληξαν σε εξισώσεις οι οποίες αποτέλεσαν εφαλτήριο για περαιτέρω πειραματική αναζήτηση σχετικά με τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που διέπουν την έκλυση φορτισμένων σωματιδίων από χρωματογραφικές στήλες [69] [70], καθώς επίσης και για τις ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα κατά την στοματική απορρόφηση στον άνθρωπο. [71] [72]

Τα βιολογικά και φυσικοχημικά μεγέθη που εξετάζονται στις μελέτες QSAR παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 1: Φυσικοχημικά μεγέθη στις μελέτες QSAR

Μέγεθος	Διαδικασία
K_d	Για φαρμακευτικούς στόχους.
K_i	
IC_{50}	

QSAR	K _M	Κινητικές μελέτες ενζυμικής δραστηριότητας.
	%Inh	
	ED ₅₀	Κυτταρικές σειρές και σε in vivo πειράματα.
	EC ₅₀	
	MIC	Μικροβιολογικά πειράματα.
	LD ₅₀	Πειράματα οξείας τοξικότητας με μοντέλα ζώων και υδρόβιων οργανισμών.
	Διαδικές απεικονίσεις	πχ τοξικό – μη τοξικό, μεταλλαξιογόνο – μη μεταλλαξιογόνο

Κατά συνέπεια, οι ποσοτικές σχέσεις Δομής – Δράσης είναι εκείνες που χρησιμοποιούνται από υπολογιστικά προγράμματα προκειμένου να αποτελέσουν εργαλείο για υπολογισμό των επιθυμητών ιδιοτήτων. Αναφορικά με τη ρόφηση των φαρμάκων από το έδαφος, προκειμένου να υπολογιστεί ο συντελεστής ρόφησης, τα λογισμικά χρησιμοποιούν την λιποφιλία ως βασική φυσικοχημική ιδιότητα, καθώς αποτελεί σημαντικό μαθηματικοποιημένο παράγοντα επιρροής του ροφητικού φαινομένου. Παρ' όλα αυτά, είναι σημαντικό να τονιστεί ότι τα λογισμικά δεν χαρακτηρίζονται πάντοτε από απaráμιλλη ακρίβεια και αξιοπιστία, γεγονός που αντιτίθεται στο πλεονέκτημα που τα χαρακτηρίζει ως προς τη χρήση. Παράδειγμα τέτοιου λογισμικού είναι το EPI-Suite της EPA (Estimation Programs Interface) που αναλύεται εκτενώς παρακάτω. [100]

4.1.1. EPI-Suite

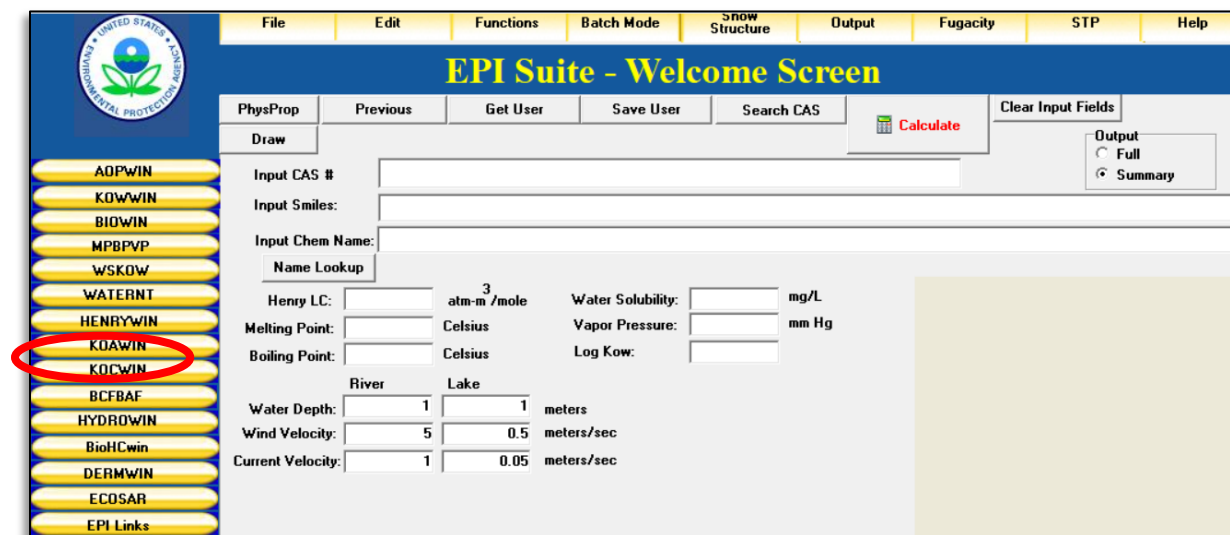
Το λογισμικό EPI-Suite της EPA (Estimation Programs Interface) αποτελεί ένα ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο για την πρόβλεψη ποικίλων παραμέτρων που αφορούν στην προσρόφηση οργανικών ενώσεων από το έδαφος, όπως ο συντελεστής ρόφησης K_d ή K_{oc}, ο δείκτης βιοσυσσώρευσης BCF, οι σταθερές Henry, ενώ παράλληλα παρέχει μοντέλα πρόβλεψης της μοίρας τους ύστερα από την απόθεσή τους στο περιβάλλον. Αποτελεί περιβαλλοντικό λογισμικό, που διατίθεται δωρεάν για χρήση, και διευκολύνει σε μεγάλο βαθμό το έργο της επιστημονικής κοινότητας στην πρόβλεψη της συμπεριφοράς ενός φαρμάκου στο περιβάλλον. Εκτός αυτών, διαθέτει πληροφορίες και για φυσικοχημικές ιδιότητες οργανικών ενώσεων, όπως τα σημεία ζέσεως και τήξεως, η διαλυτότητα στο νερό, ο δείκτης μερισμού σε σύστημα οκτανόλης/νερού. [18]

Χρήση Λογισμικού

Το πρόγραμμα αυτό ειδικεύεται στην εξαγωγή πληροφοριών για οργανικές μόνο ενώσεις, καθώς η βάση δεδομένων δεν περιλαμβάνει επαρκή στοιχεία για τις ανόργανες και τις οργανομεταλλικές. [18]

Το λογισμικό EPI-Suite της EPA καθίσταται ιδιαίτερα εύχρηστο, καθώς ύστερα από την εγκατάσταση, τα βήματα για τη διεξαγωγή των ζητούμενων πληροφοριών είναι ιδιαίτερα

συγκεκριμένα. Στην παρούσα εργασία, χρειάστηκαν πληροφορίες σχετικά με τον συντελεστή ρόφησης από το έδαφος, K_{oc} . Συνεπώς, επιλέγοντας στη γραμμή εργαλείων της αρχικής οθόνης του λογισμικού την επιλογή *KOCWIN*, που αφορά στην πρόβλεψη του συντελεστή ρόφησης.



Εικόνα 1: EPI-Suite, menu αρχικής σελίδας, επιλογή διερεύνησης συντελεστή ρόφησης K_{oc}

Ακολουθεί ανάδυση παραθύρου που ζητάει την εισαγωγή είτε του ονόματος της ένωσης, είτε της απλοποιημένης μορφής SMILE (*Simplified Molecular Input Line Entry Structure*). Βάσει της μορφής SMILE, το μόριο αναπαρίσταται σε μια ευθεία γραμμή, λαμβάνοντας υπόψη μόνο τα «βαριά» άτομα, δηλαδή όλα τα άτομα που υπάρχουν στην ένωση πλην του υδρογόνου, τα οποία απεικονίζονται με τα σύμβολά τους στον Περιοδικό Πίνακα. Τα άτομα του άνθρακα και του αζώτου συμβολίζονται με πεζά γράμματα αν βρίσκονται σε αρωματικό πυρήνα και με κεφαλαία όταν βρίσκονται σε αλειφατικό, ενώ εάν παρεμβάλλονται διακλαδώσεις, αυτές εμπεριέχονται μέσα σε παρενθέσεις. Επιπλέον, ο διπλός αλειφατικός δεσμός συμβολίζεται με =, ενώ ο τριπλός με #. Ο διπλός αλειφατικός δεσμός συμβολίζεται με = και ο τριπλός με #.

Επιλέχθηκε η εισαγωγή του smile της ένωσης norfloxacin, και όχι του ονόματος, καθώς είναι καθολικά αντιπροσωπευτικότερο για μια ένωση. Τα smiles προσδιορίζονται εύκολα μέσω της πλατφόρμας PUBCHEM [55], η οποία περιλαμβάνει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες σχετικά με τις φαρμακευτικές ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων και των smiles.

File Edit Functions BatchMode ShowStructure Help

DRAW Previous Get User Save User CAS Input Calculate

Enter SMILES:

Enter NAME:

NameLookup

[optional] Enter Known Log Kow:

Εικόνα 2: EPI-Suite, εισαγωγή smiles ένωσης

Πατώντας την επιλογή calculate στη γραμμή εργαλείων, αναδύεται παράθυρο που περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, τις ζητούμενες διορθωμένες τιμές K_{OC} που έχουν υπολογιστεί, αφενός βάσει του δείκτη μοριακής σύνδεσης (Molecular Connectivity Index, MCI), κι αφετέρου βάσει του συντελεστή μερισμού στο σύστημα οκτανόλης-νερού (K_{OW}). Οι τιμές εξάγονται σε l/kg, παρ' όλα αυτά, προκειμένου να είναι πιο εύχρηστες, μπορούν να μετατραπούν σε λογαριθμική κλίμακα.

```
SMILES : CCN1C=C(C(=O)c2cc(c(cc21)N3CCNCC3)F)C(=O)O
CHEM   :
MOL FOR: C16 H18 F1 N3 O3
      Koc may be sensitive to pH!
----- KOCWIN v2.00 Results -----

Koc Estimate from MCI:
-----
First Order Molecular Connectivity Index ..... : 11.024
Non-Corrected Log Koc (0.5213 MCI + 0.60) ..... : 6.3467
Fragment Correction(s):
  2 Nitrogen to non-fused aromatic ring ... : -1.0450
  6 Nitrogen to Carbon (aliphatic) (-N-C).. : -1.2764
  * Organic Acid (-CO-OH) ..... : -1.6249
  1 Ketone (-C-CO-C-) ..... : -1.1290
Corrected Log Koc ..... : 1.2714

      Estimated Koc: 18.68 L/kg <-----

Koc Estimate from Log Kow:
-----
Log Kow (experimental DB) ..... : -1.03
Non-Corrected Log Koc (0.55313 logKow + 0.9251) .... : 0.3554
Fragment Correction(s):
  2 Nitrogen to non-fused aromatic ring ... : -0.0432
  6 Nitrogen to Carbon (aliphatic) (-N-C).. : -0.1307
  * Organic Acid (-CO-OH) ..... : -0.7694
  1 Ketone (-C-CO-C-) ..... : 0.1956
Corrected Log Koc ..... : -0.3923

      Estimated Koc: 0.4052 L/kg <-----

*****
NOTE:
* The Koc of this structure may be sensitive to pH! The estimated *
* Koc represents a best-fit to the majority of experimental values *
* however, the Koc may vary significantly with pH. *
*****
```

Εικόνα 3: EPI-Suite, δεδομένα και φυσικοχημικές ιδιότητες ένωσης

Πέραν αυτών, όπως φαίνεται και στην παραπάνω εικόνα, δίνονται πληροφορίες σχετικά με τη στερεοχημική δομή της ένωσης, τον αριθμό ατόμων άνθρακα, υδρογόνου, οξυγόνου και λοιπών στοιχείων στο μόριο κλπ. Σε κάθε περίπτωση, όπως αναγράφεται και στο παράθυρο με τα αποτελέσματα, υπάρχει η πιθανότητα οι προκύπτουσες τιμές να αποκλίνουν από τα πραγματικά δεδομένα, λόγω αυξημένης επιρροής του pH στο συντελεστή ρόφησης.

5. Πειραματικές Μέθοδοι υπολογισμού συντελεστή ρόφησης, (Kd)

Σε αντίθεση με τις υπολογιστικές μεθόδους εκτίμησης του φαινομένου της ρόφησης, οι πειραματικές μέθοδοι καθίστανται ακριβέστερες και πιο αξιόπιστες. Αυτό συμβαίνει επειδή σε κάθε περίπτωση, μεσολαβεί πείραμα, στο οποίο επικρατούν μοναδικές συνθήκες, κάτι που οδηγεί στην διεξαγωγή αποτελεσμάτων τα οποία περιγράφουν με την καλύτερη δυνατή αξιοπιστία την κατάσταση.

Όπως είναι λογικό, η υψηλή αξιοπιστία και η ακρίβεια δεν γίνεται να μη συνοδεύονται και από αρνητικά χαρακτηριστικά τα οποία συνδέονται με το χρόνο και το κόστος της μεθόδου. Είναι γεγονός ότι οι πειραματικές μέθοδοι είναι αισθητά πιο χρονοβόρες, επίπονες και δαπανηρές, καθώς αφενός απαιτείται η χρήση εξοπλισμού και πρώτων υλών οι οποίες έχουν κάποιο κόστος. Εξάλλου, απαιτούν μια συγκεκριμένη προεργασία του δείγματος πριν την ανάλυση, γεγονός που δικαιολογεί το χρονοβόρο και δαπανηρό χαρακτήρα τους.

Οι χρωματογραφικές και οι βολταμμετρικές μέθοδοι αποτελούν τις βασικές τεχνικές πειραματικής μελέτης της ρόφησης, και αναλύονται παρακάτω.

5.1. Χρωματογραφικές τεχνικές

Οι χρωματογραφικές τεχνικές αποτελούν σημείο σταθμό για τις μεθόδους χημικής ανάλυσης. Η αρχή πάνω στη οποία βασίζεται η χρωματογραφία σχετίζεται με το διαχωρισμό των συστατικών ενός μίγματος βάσει κάποιου χημικού χαρακτηριστικού τους το οποίο καθορίζει το χρόνο που χρειάζεται το κάθε συστατικό για να εξέλθει από τη χρωματογραφική στήλη. Η κινητή φάση, ρέοντας πάνω στη στατική, μεταφέρει το υπό ανάλυση δείγμα, και ανάλογα με τη συγγένεια μεταξύ των συστατικών της κινητής φάσης και της στατικής φάσης, η κάθε ένωση εξέρχεται από τη στήλη σε διαφορετική χρονική στιγμή, με αποτέλεσμα να επιτυγχάνεται ο διαχωρισμός των επιμέρους ενώσεων. Ανάλογα με τη φυσική κατάσταση της κινητής φάσης, διακρίνονται οι εξής χρωματογραφικές τεχνικές:

- Υγρή Χρωματογραφία (LC)
- Αέρια Χρωματογραφία (GC)

ενώ η στατική φάση μπορεί να είναι :

- Επίπεδη

- Στήλη

Η υγρή χρωματογραφία (LC) έχει βελτιωθεί πλέον με χρήση αντλίας που εξασφαλίζει τη ροή της κινητής φάσης, και πλέον η έκλυση δεν βασίζεται στη βαρύτητα. Η εν λόγω τεχνική ονομάζεται Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC).

Η HPLC μπορεί να χαρακτηριστεί ως εξής:

- Κανονικής Φάσης, όπου η στήλη περιέχει κάποιο πολικό πληρωτικό υλικό και η κινητή φάση είναι μη πολική
- Αντιστρόφου Φάσεως, όπου η στατική φάση είναι μη πολική και η κινητή πολική.

Κατά συνέπεια, στην HPLC κανονικής φάσεως, τα πολικά μόρια του δείγματος έλκονται από το υλικό της στήλης σχηματίζοντας προσωρινούς δεσμούς, και αργούν να εξέλθουν λόγω μεγάλης συγγένειας με τη στατική φάση. Στην HPLC αντιστρόφου φάσεως, τα πολικά μόρια τους δείγματος απωθούνται από το υλικό της στήλης και κατά συνέπεια θα εκλυούνται γρήγορα. Έτσι, προκύπτει ο παρακάτω συγκεντρωτικός πίνακας σχετικά με τη συμπεριφορά των ενώσεων και το χρόνο έκλουσής τους ανάλογα με την πολικότητά τους. [100]

Πίνακας 2: Συμπεριφορά ουσίας στην HPLC βάσει πολικότητας

Χρωματογραφική Τεχνική	Μόρια δείγματος	Συγγένεια με στατική φάση	Χρόνος Έκλυσης
HPLC κανονικής φάσεως	Πολικά	Υψηλή	Μεγάλος
	Μη πολικά	Χαμηλή	Μικρός
HPLC αντιστρόφου φάσεως	Πολικά	Χαμηλή	Μικρός
	Μη πολικά	Υψηλή	Μεγάλος

Οι χρωματογραφικές τεχνικές αποτελούν έμμεση μέθοδο προσδιορισμού του συντελεστή κατανομής και μερισμού, και απαρτίζονται από τις εξής:

- Χρωματογραφία Αντιστρόφου Φάσεως Λεπτής Στιβάδας, Reversed Phase Thin Layer Chromatography (RP-TLC)
- Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης, High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

Εν αντιθέσει με τη Μέθοδο Ανακινούμενης Φιάλης, οι χρωματογραφικές τεχνικές αντιστρόφου φάσεως είναι κατά τι ταχύτερες και ευκολότερες στο χειρισμό. Η αρχή στην οποία βασίζονται οι τεχνικές αυτές, αφορά στην κατανομή της αναλυόμενης ουσίας στις δυο φάσεις (οργανική – υδατική), και στις γραμμικές σχέσεις μεταξύ του $\log D$ του συστήματος οκτανόλης – νερού και στη χρωματογραφική συγκράτηση. Οι σχέσεις αυτές αναφέρονται και ως εξισώσεις τύπου

Collander και παρατίθενται παρακάτω (12),(13). Οι παράμετροι a,b προέκυψαν από ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης.

$$R_M = a \log P + b \quad (12)$$

$$\log k = a \log P + b \quad (13)$$

Οι τιμές των παραμέτρων που προκύπτουν από την ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης των παραπάνω σχέσεων για ενώσεις με γνωστά $\log P$, δύνανται να αποτελέσουν εφελκτήριο για τον προσδιορισμό των $\log P$ σε ενώσεις οι οποίες είναι συγγενείς ως προς τη δομή και τις φυσικοχημικές ιδιότητες, δεδομένου ότι οι αναλύσεις έχουν εκτελεστεί υπό τις ίδιες εργαστηριακές συνθήκες. [100]

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC)

Η Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης, High Performance Liquid Chromatography (HPLC), αποτελεί αδιαμφισβήτητα μια ιδίως εξελιγμένη εκδοχή της χρωματογραφίας στήλης, κατά την οποία η κινητήριος δύναμη είναι η πίεση από κάποια αντλία, και όχι η βαρύτητα. Λόγω αυτού, απαιτείται μικρότερο μέγεθος σωματιδίων πληρωτικού υλικού, κάτι που αυξάνει την επιφάνεια και κατ' επέκταση το χρόνο επαφής της στατικής με την κινητή φάση, με αποτέλεσμα τον αποτελεσματικότερο και καλύτερο διαχωρισμό των ουσιών, καθώς επίσης και την χρήση μικρότερου μεγέθους στηλών.

Η χρωματογραφία HPLC αντιστρόφου φάσεως αποτελεί την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο διαχωρισμού ουσιών ανάμεσα σε όλες τις αναλυτικές τεχνικές. Τα βήματα που ακολουθούνται για την διεξαγωγή της ανάλυσης αυτής συνοψίζονται παρακάτω:

1. Καθορισμένη ποσότητα δείγματος ενίεται στην κινητή φάση στην αρχή της στήλης.
2. Ακολουθεί μετατόπιση του δείγματος υπό την αδιάλειπτη ροή της κινητής φάσης εντός της στήλης.
3. Κατανομή των επιμέρους συστατικών του δείγματος μεταξύ στατικής και κινητής φάσης.
4. Ανάλογα με την φύση του κάθε συστατικού, παρατηρείται και διαφορετικός τρόπος κίνησης επάνω στην στατική φάση, υπό την συνεχή ροή της κινητής φάσης.
5. Για τα επιμέρους μόρια, κάθε στιγμή, επέρχεται νέος καταμερισμός μεταξύ στατικής και κινητής φάσης.
6. Ο χρόνος έκλουσης του κάθε συστατικού εξαρτάται άμεσα από το κλάσμα του χρόνου παραμονής στην κινητή φάση προς τον χρόνο παραμονής του στην στατική, και είναι ανάλογη του συντελεστή κατανομής του στις δύο φάσεις.
7. Η ταχύτητα του κάθε συστατικού εξαρτάται από το συντελεστή κατανομής του στις δύο φάσεις. Με την προϋπόθεση ότι τα επιμέρους συστατικά έχουν διαφορετικούς συντελεστές κατανομής, κινούνται σε διαφορετικά μήκη διαμορφώνοντας ζώνες.

8. Τα υδρόφιλα/πολικά μόρια τείνουν να εξέρχονται ταχύτερα, ενώ τα μη πολικά/λιπόφιλα μόρια κατακρατούνται περισσότερο λόγω συγγένειας με την στατική φάση.
9. Τα εξερχόμενα συστατικά ανιχνεύονται από κατάλληλο ανιχνευτή που είναι προσαρμοσμένος στην έξοδο της στήλης, το είδος του οποίου μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τη φύση των εκλούμενων συστατικών. (UV-Vis, X-RD, MS, NMR κλπ)

Η ανάλυση γίνεται στη χρωματογραφική στήλη, σκοπός της οποίας είναι ο υπολογισμός του χρόνου έκλυσης των ουσιών που τίθενται σε διαχωρισμό. Η σχέση (14), αποτελεί το μέσο υπολογισμού του χρόνου έκλυσης των εκάστοτε ουσιών:

$$\log k = \log\left(\frac{t_R - t_0}{t_0}\right) \quad (14)$$

όπου t_R ο χρόνος έκλυσης και t_0 ο χρόνος που χρειάζεται μια μη κατακρατούμενη ουσία να διασχίσει τη στήλη, ή αλλιώς, ο νεκρός χρόνος.

Η επιλογή στατικής φάσης γίνεται λαμβάνοντας υπόψη ορισμένες προδιαγραφές που αφορούν τη στήλη σε συνδυασμό με τη μοριακή δομή της προσδιοριζόμενης ουσίας, αλλά και των προσμίξεων που αναμένονται στο αναλυόμενο δείγμα. Τέτοια χαρακτηριστικά σχετίζονται με την ομόλογη σειρά στην οποία ανήκει η ουσία, την πολικότητά της, το μέγεθος του μορίου κλπ. Αναλυτικότερα, εξετάζεται:

- Το μέγεθος των μορίων του υλικού πληρώσεως
- Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της στήλης
- Τη διάμετρο των πόρων του πληρωτικού υλικού
- Τη σταθερότητα της στήλης στη μεταβολή pH
- Την περιεκτικότητα της στήλης σε σιλανολικά υδροξύλια, τα οποία καθορίζουν την πολικότητα της στήλης. Μεγάλο ποσοστό σιλανολικών υδροξυλίων συνεπάγεται αυξημένη πολικότητα της στήλης, και ως εκ τούτου ασθενέστερη συγκράτηση των μη πολικών/λιπόφιλων ενώσεων.
- Τη φύση της ουσίας που είναι δεσμευμένη στο υπόστρωμα, η οποία καθορίζει την εκλεκτικότητα της στατικής φάσης.

Η στατική φάση συνήθως είναι επιφάνεια προσροφητικού μέσου τροποποιημένη με πρόσδεση μακρών αλυσίδων υδρόφοβων μορίων, με σκοπό την μετατροπή της σε άπολη. Είθισται να αποτελεί στήλη επικαλυμμένη με σιλανοποιημένη πυριτία με υδρογονανθρακικές αλυσίδες έως και 18 ατόμων άνθρακα. Ένας γενικός κανόνας που ακολουθείται, όμως, υπαγορεύει την επιλογή της στατικής φάσης βάσει του τύπου της προσδιοριζόμενης ένωσης, καθώς είναι σημαντικό να έχουν παρόμοια πολικότητα. Κατά την μέθοδο HPLC, εν αντιθέσει με την RP-TLC που αναλύθηκε νωρίτερα, η επίδραση των σιλανόφιλων αλληλεπιδράσεων κρίνεται καίρια καθώς έτσι επιτυγχάνεται η αύξηση του χρόνου έκλυσης, ενώ οι κορυφές που προκύπτουν είναι πλατύτερες, κάτι που συνεπάγεται καλύτερο διαχωρισμό των ενώσεων. Είναι σημαντικό

να ειπωθεί ότι κατά την έκλυση όξινων ενώσεων, οι σιλανόφιλες αλληλεπιδράσεις πραγματοποιούνται μέσω σχηματισμού δεσμών υδρογόνου με την αδιάστατη μορφή των σιλανολών, ενώ στην περίπτωση των βασικών ενώσεων, παρατηρείται σχηματισμός ηλεκτροστατικών δεσμών με τις ανιοντικές ομάδες των σιλανολών. [40]

Η κινητή φάση απαρτίζεται από μίγμα νερού ή ρυθμιστικού διαλύματος με κάποιον οργανικό διαλύτη. Μη πολικά ή λιπόφιλα μόρια στο μίγμα που τίθεται υπό διαχωρισμό, συγκρατούνται ισχυρά στις υδρογονανθρακικές αλυσίδες, και ως εκ τούτου σημειώνεται αυξημένος χρόνος έκλυσης και ευρείες κορυφές στο τελικό διάγραμμα. Αντίθετα, πολικές ή υδρόφιλες ομάδες κινούνται ταχύτερα διαμέσου της στήλης, κι έτσι εκλύονται γρηγορότερα.

Τα μεγέθη R_f και t_r δύνανται να ρυθμιστούν σε κατάλληλα όρια, μέσω ιδανικής επιλογής του είδους και της συγκέντρωσης του οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση. Η επιλογή της συγκέντρωσης του οργανικού διαλύτη εξαρτάται αφενός από τη λιποφιλία του ίδιου του διαλύτη, κι αφετέρου από τη λιποφιλία της προς διαχωρισμό ένωσης. Ως εκ τούτου, προκειμένου να επιτευχθεί η μετατόπιση της κινητής φάσης, αυξημένη λιποφιλία συνεπάγεται ανάγκη για αύξηση της συγκέντρωσης του οργανικού διαλύτη. Τα μεγέθη R_M και $\log k$ σχετίζονται γραμμικά για ένα συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων οργανικού τροποποιητή. Οι παρακάτω εξισώσεις επιτρέπουν τον προσδιορισμό των αντίστοιχων μεγεθών υπό την πλήρη απουσία οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση, R_{Mw} και $\log k_w$. Η κλίση S σε συγκέντρωση φ οργανικού διαλύτη 0% και οι αντιπροσωπευτικοί δείκτες λιποφιλίας R_{Mw} και $\log k_w$, αφού δεν εξαρτώνται από τον οργανικό διαλύτη, προκύπτουν με ανάλυση γραμμικής παλινδρόμησης.

$$R_M = -S_\varphi + R_{Mw} \quad (15)$$

$$\log k = -S_\varphi + \log k_w \quad (16)$$

Οι τιμές R_{Mw} και $\log k_w$ κυμαίνονται στην ίδια τάξη μεγέθους με το $\log P$ και σχετίζονται μαζί του μέσω των παρακάτω σχέσεων, όπου με τη διεξαγωγή των αναλύσεων υπό κατάλληλες χρωματογραφικές συνθήκες, είναι πιθανό το να προκύψουν τιμές για την κλίση a πλησίον της μονάδας και για την αποτέμνουσα b κοντά στο 0.

$$R_M = a \log P + b \quad (17)$$

$$\log k = a \log P + b \quad (18)$$

Κατ' επέκταση, βάσει της σχέσης (18), προκύπτει ότι υπάρχουν περιπτώσεις κατά τις οποίες τα μεγέθη $\log k$ και $\log P$ ταυτίζονται μεταξύ τους στο σύστημα οκτανόλης-νερού. Η διαπίστωση αυτή έφερε ως επακόλουθο την προτυποποίηση της μεθόδου HPLC για τον προσδιορισμό της λιποφιλίας, κυρίως σε βασικές και ουδέτερες ενώσεις. [100]

[Χρωματογραφία Αντιστρόφου Φάσεως Λεπτής Στιβάδας \(RP-TLC\)](#)

Σκοπός της μεθόδου είναι ο προσδιορισμός της σταθεράς K_M μέσω της σχέσης (19):

$$R_M = \log\left(\frac{1}{R_f} - 1\right) \quad (19)$$

όπου R_f : παράγοντας επιβράδυνσης, έννοια που εκφράζεται ως ο λόγος της απόστασης που διανύει η ένωση πάνω στη χρωματογραφική πλάκα προς την απόσταση που διανύει ο διαλύτης. Οι τιμές R_f που θεωρούνται αξιόπιστες κυμαίνονται μεταξύ του διαστήματος 0.2-0.8. Οι πλάκες που χρησιμοποιούνται είναι από silica gel, και προκειμένου να καταστούν αντιστρόφου φάσεως, είναι επικαλυμμένες με κάποια υδρόφοβη ουσία (πχ κάποιο έλαιο). Συνεπώς, η υδρόφοβη ουσία αποτελεί τη στατική φάση και η πολική αποτελεί την κινητή φάση. Οι λιπόφιλες ενώσεις σημειώνουν μικρή μετατόπιση επάνω στην πλάκα, κάτι που συνεπάγεται χαμηλές τιμές R_f και κατ' επέκταση, βάσει της σχέσης (19), υψηλές τιμές R_M . Κάτι τέτοιο είναι λογικό να αναμένεται ως αποτέλεσμα, καθώς οι λιπόφιλες ενώσεις εμφανίζουν υψηλή συγγένεια με τη στατική – μη πολική φάση. Αντίθετα, οι υδρόφιλες ουσίες, έχουν υψηλές τιμές R_f , λόγω της παράλληλης και ίσης μετατόπισης με τον διαλύτη, και κατά συνέπεια χαμηλές τιμές R_M . [100]

Βιομμητική Χρωματογραφία

Η Βιομμητική Χρωματογραφία αποτελεί μεταγενέστερη μέθοδο προσδιορισμού και εκτίμησης φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων, η οποία παρά την υπεροχή της σε αρκετά σημεία έναντι των κλασικών μεθόδων ανάλυσης, βρίσκεται ακόμη σε πρώιμο στάδιο εξέλιξης. Η μέθοδος αυτή, χρησιμοποιεί τον όρο $\log k$ για την περιγραφή του ύψους της λιποφιλίας μιας ένωσης, εν αντιθέσει με τις προγενέστερες χρωματογραφικές τεχνικές που εμπεριείχαν τα μεγέθη $\log P$, $\log D$. Οι μετρήσεις στη βιομμητική χρωματογραφία διακρίνονται από υψηλή ταχύτητα και μεγάλη επαναληψιμότητα, χαρακτηριστικά που επιβεβαιώνουν την βελτιστοποιημένη φύση της τεχνικής. Ανάλογα με το είδος της κινητής φάσης, η βιομμητική χρωματογραφία αποτελείται από τις εξής τεχνικές [100]:

- Χρωματογραφία Ακίνητοποιημένων Τεχνητών Μεμβρανών (Immobilized Artificial Membrane Chromatography, IAM)
- Μικκυλιακή Χρωματογραφία (Micellar Liquid Chromatography, MLC)
- Χρωματογραφία Συγγένειας Υψηλής Απόδοσης (High Performance Affinity Chromatography, HPAC)

Η Βιομμητική Χρωματογραφία, χρησιμοποιείται σε διαδικασίες όπου απαιτείται η προσομοίωση βιολογικών διεργασιών. Ως εκ τούτου, μπορεί να φανεί ιδιαίτερα χρήσιμη στη διαδικασία εκτίμησης της επίδρασης της λιποφιλίας στην ρόφηση φαρμακευτικών ενώσεων από το χώμα.

Στήλη Ακίνητοποιημένων Τεχνητών Μεμβρανών (IAM)

Η ανάγκη για αντικατάσταση του συστήματος οκτανόλης – νερού κατά τον προσδιορισμό της λιποφιλίας, οδήγησε την ερευνητική κοινότητα στην προσομοίωση των κυτταρικών μεμβρανών με λιποσώματα φωσφολιπιδίων, τα οποία, αποτελούμενα από διπλοστιβάδες λιπιδίων, παρατηρήθηκε ότι προσιδιάζουν εμφανώς περισσότερο στις βιολογικές μεμβράνες. Η χρωματογραφία Ακίνητοποιημένων Τεχνητών Μεμβρανών, Immobilized Artificial Membrane

Chromatography (IAM), που αναπτύχθηκε τη δεκαετία του 1980, και αποδείχθηκε ιδιαίτερα χρήσιμο εργαλείο για την ανάπτυξη φαρμάκων, ξεχωρίζει για την ταχύτητα και την αυξημένη επαναληψιμότητα των μετρήσεων της. Η πρώτη χρωματογραφική στήλη IAM που σχεδιάστηκε από τον Ridgeon, περιείχε μονομερή φωσφατιδυλοχολίνης και σκοπός της ήταν ο διαχωρισμός πρωτεϊνών. [6]

Οι δείκτες $\log k_{IAM}$ χρησιμοποιούνται, πέραν της συσχέτισης με τη λιποφιλία, και σε μοντέλα διαπερατότητας βιολογικών φραγμών, και ιδίως των κύριων φυσιολογικών φραγμών, όπως ο αιματοεγκεφαλικός φραγμός και η απορρόφηση από τα εντερικά τοιχώματα, από τους οποίους διέρχονται τα φαρμακευτικά μόρια κατά βάση. Η κατανομή στα λιπώδη σώματα του ανθρώπινου οργανισμού προσιδιάζει στη συγκράτηση των ενώσεων στη χρωματογραφία IAM, και λόγω αυτού του χαρακτηριστικού, χρησιμοποιούνται για την προσομοίωση πλήθους άλλων φαρμακοκινητικών ιδιοτήτων, όπως ο όγκος κατανομής, στον οποίο συνδυάζονται εξίσου φαινόμενα παθητικής διάχυσης και μη ειδικής σύνδεσης. [100]

Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC)

Η Μικκυλιακή Χρωματογραφία αποτελεί τεχνική χρωματογραφίας που προσιδιάζει στις πραγματικές συνθήκες που επικρατούν στις υδρογονανθρακικές αλυσίδες των βιολογικών φραγμών. Η μέθοδος έχει διερευνηθεί εκτενώς και έχει καθιερωθεί ως ένα χρήσιμο εργαλείο στην αναλυτική χημεία, τη γεωργία και τα τρόφιμα, την ιατρική και τη φαρμακοβιομηχανία [9]. Είναι χρωματογραφία αντιστρόφου φάσεως, της οποίας κινητή φάση καθίσταται υδατικό διάλυμα τασιενεργού ένωσης με μικκύλια. Ως τασιενεργή ορίζεται μια ένωση που έχει την ιδιότητα να προσροφάται στις διεπιφάνειες ενός συστήματος μεταβάλλοντας, ως ένα σημείο, την επιφανειακή τάση αυτών [58]. Η σταθερή φάση τροποποιείται από την υδρόφοβη ή σιλανοφιλική προσρόφηση των επιφανειοδραστικών μονομερών σε αυτήν, και όπως συμβαίνει και στους βιολογικούς φραγμούς, διαθέτει σημεία υδρόφοβων και ηλεκτρονιακών αλληλεπιδράσεων. Επιπλέον, η αμφίφιλη φύση των επιφανειοδραστικών αυτών μορίων, προσιδιάζει στη συμπεριφορά των πολικών περιοχών μιας μεμβράνης, καθώς χαρακτηρίζεται από υδρόφοβα και υδρόφιλα τμήματα. Ως εκ τούτου, υπάρχει προσομοίωση των συνθηκών ροής που επικρατούν στην απορρόφηση, απέκκριση και γενικότερη μεταφορά φαρμακευτικών σκευασμάτων στον ανθρώπινο οργανισμό. [49]

Τα μικκύλια δύνανται αφενός να βελτιώσουν τη διαλυτότητα υδρόφοβων ενώσεων, οι οποίες υπό φυσιολογικές συνθήκες είναι αδιάλυτες στο νερό, κι αφετέρου να προάγουν τη μικκυλιακή διαλυτοποίηση, διαδικασία που ελέγχει το διαχωρισμό των ενώσεων και σχετίζεται με την κατανομή τους μεταξύ του υδατικού διαλύτη και των μικκυλίων. [41]

5.2. Βολταμμετρία

Ο κλάδος της ηλεκτροχημείας που είθισται να αποκαλείται βολταμμετρία, αποτελεί εξέλιξη της πολαρογραφίας, τεχνική που εισήγαγε πρώτος ο Τσέχος χημικός Jaroslav Heyrovsky το 1922. Η βολταμμετρία ασχολείται με τον υπολογισμό του ποσού του ρεύματος που προκύπτει από την εφαρμογή ορισμένου δυναμικού, και εν αντιθέσει με την πλειονότητα των ηλεκτροχημικών τεχνικών που χρησιμοποιούν δύο ηλεκτρόδια, η εν λόγω λειτουργεί με τρία, το ηλεκτρόδιο

εργασίας (working), το ηλεκτρόδιο αναφοράς (reference) και το βοηθητικό ηλεκτρόδιο (auxiliary). [7]

Η επιστημονική κοινότητα και ιδιαίτερα ο κλάδος της χημείας, χρησιμοποιεί ευρέως βολταμμετρικές τεχνικές για πλήθος σκοπών, όπως για παράδειγμα για τη μελέτη της οξειδοαναγωγής, τις διεργασίες προσρόφησης σε διάφορες επιφάνειες και τους μηχανισμούς μεταφοράς και αντίδρασης των ηλεκτρονίων [7]. Εξάλλου, η βολταμμετρία αποτελεί ιδιαίτερα καρποφόρα τεχνική προσδιορισμού ενώσεων φαρμακευτικού ενδιαφέροντος, κάτι που συνέβαλλε στην επιλογή της για την διεξαγωγή τμήματος του πειραματικού μέρους της παρούσας εργασίας, και στόχος της ήταν ο υπολογισμός της συγκέντρωσης της οργανικής ένωσης που έχει απομείνει στην υδατική φάση μετά την ανακίνησή της με χρώμα. [52]

5.2.1. Ηλεκτρόδια Εργασίας

Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο στη βολταμμετρία είναι υαλώδους άνθρακα (*Glass Carbon Electrode, GCE*), χρυσού (*Au*) και πλατίνας (*Pt*). Τα ηλεκτρόδια αυτά είναι τα πιο διαδεδομένα στο εμπόριο, έχουν καλή εφαρμογή σε πλήθος εργαστηριακών αναλύσεων και είναι διαθέσιμα στο εργαστήριο όπου έγιναν οι μετρήσεις. Είναι επίσης συνήθης η κατασκευή αυτοσχέδιων ηλεκτροδίων στο εργαστήριο, με επίστρωση, εμφάνιση και επικάλυψη των ηλεκτροδίων με διάφορα αντιδραστήρια, όπως πχ η πάστα υαλώδους άνθρακα (*Modified Glassy Carbon Paste Electrode, MGCPPE*) [80], ή η επικάλυψη διαμαντιού με βόριο (*Boron-Doped Diamond Electrode, BDDE*) [46], προκειμένου να αποκτήσουν τις κατάλληλες μηχανικές και ηλεκτροχημικές ιδιότητες για να διεξαχθεί το εκάστοτε πείραμα. [68]

Ηλεκτρόδια Υαλώδους Άνθρακα - (*Glass Carbon Electrode, GCE*)

Ο υαλώδης άνθρακας (GC), αποτελεί ευρέως χρησιμοποιούμενο υλικό ηλεκτροδίου εργασίας σε ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές από το 1960 και το πλέον διαδεδομένο με βάση τον άνθρακα. Κυκλοφορεί και υπό την ονομασία *πολυμερικός άνθρακας* και αποτελείται από άνθρακες τύπου sp².

Το ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα διαθέτει δομή που προσιδιάζει στη δομή υαλώδους υλικού, καθώς χαρακτηρίζεται από κάποιο σημείο θραύσης όπως το γυαλί, παρ' όλα αυτά διατηρεί πολλές από τις ιδιότητες του γραφίτη. Κατά συνέπεια, χαρακτηρίζεται από υψηλή ανθεκτικότητα στη χημική προσβολή, ιδιαίτερα μεγάλη μηχανική αντοχή, καθώς επίσης και από μηδενική διαπερατότητα από αέρια και υγρά. Συγκριτικά με άλλα υλικά που βασίζονται στον άνθρακα, ο υαλώδης άνθρακας έχει το μικρότερο ρυθμό οξείδωσης από οξυγόνο, υδρατμούς και CO₂. Η αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί αύξηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας του υαλώδους άνθρακα.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι ο υαλώδης άνθρακας ομοιάζει με τον πολυκρυσταλλικό γραφίτη σε σημεία όπως η σύνθεση, η συγκόλληση και η αντίσταση, ενώ διαφέρει από τον

τελευταίο αρκετά στο πορώδες, την σκληρότητα, την πυκνότητα, την αντοχή, την ηλεκτρική αγωγιμότητα και γενικά στις μηχανικές ιδιότητες. Σε υψηλή θερμοκρασία, πιθανολογείται η προσβολή του υαλώδους άνθρακα από οξειδωτικούς παράγοντες όπως το οξυγόνο ή ορισμένα ισχυρά οξέα. Σε γενικές γραμμές, όμως, συνεχίζει να αποτελεί, ακόμη κι έτσι, πιθανότατα το πιο αδρανές υλικό που έχει ως βάση τον άνθρακα. [52]

Ηλεκτρόδιο Λευκόχρυσου (Pt)

Ο λευκόχρυσος ή αλλιώς πλατίνα (Pt) αποτελεί ένα από τα πιο διαδεδομένα ευγενή μέταλλα που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή ηλεκτροδίων. Η εξαιρετική αντοχή στη διάβρωση, η υψηλή καταλυτική δράση, καθώς επίσης και η δυνατότητα σαφούς διαχωρισμού των δυναμικών περιοχών για προσρόφηση υδρογόνου και οξυγόνου, είναι λίγα μόνο από τα πλεονεκτήματα των ηλεκτροδίων λευκοχρύσου.

Η υπερευαισθησία ενεργοποίησης του οξυγόνου στην πλατίνα μπορεί να αποτελέσει αιτία για υπέρβαση των θεωρητικών τιμών των πρακτικών ανοδικών ορίων των ηλεκτροδίων λευκοχρύσου. Μια πιθανή εξήγηση για το φαινόμενο αυτό είναι η αμελητέα υπέρταση του υδρογόνου σε ηλεκτρόδιο πλατίνας, κάτι που αποτελεί ανασταλτικό παράγοντα στη χρήση τέτοιων ηλεκτροδίων σε καθοδικές περιοχές, κι έτσι η χρήση τους περιορίζεται μόνο σε ανοδικά δυναμικά για προσδιορισμό δύσκολων προς οξείδωση οργανικών ενώσεων.

Οι επιφάνειες των ηλεκτροδίων λευκοχρύσου δεν προστατεύεται εύκολα από το σχηματισμό στρώματος οξειδίου, το οποίο δύναται να αλλοιώσει έντονα την κινητική της αντίδρασης ηλεκτροδίων ευγενών μετάλλων σε υδατικούς υποστηρικτικούς ηλεκτρολύτες. Ως λύση του προβλήματος αυτού προτείνεται η χρήση μη υδατικών ηλεκτρολυτών, καθώς το φαινόμενο της επιφανειακής στιβάδας συναντάται σε υδατικά μέσα. [52]

Ηλεκτρόδιο Χρυσού (Au)

Κατ' αντιστοιχία με τον λευκόχρυσο, έτσι και ο χρυσός αποτελεί ευγενές μέταλλο που βρίσκει ευρεία εφαρμογή στην κατασκευή ηλεκτροδίων. Λόγω της αδράνειάς τους, τα ηλεκτρόδια χρυσού είναι ακόμη πιο ανθεκτικά στην δημιουργία επιφανειακής μόλυνσης, συγκριτικά με του λευκοχρύσου, και κατά συνέπεια προτιμώνται σε πλήθος αναλύσεων, όπως ο προσδιορισμός ορισμένων ιχνοστοιχείων με τεχνικές απογύμνωσης και οι μελέτες ηλεκτροπαραγωγής.

Τόσο τα ηλεκτρόδια χρυσού όσο και τα ηλεκτρόδια πλατίνας υφίστανται σχηματισμό στρώματος οξειδίου στην ανοδική κατεύθυνση. Παρ' όλα αυτά, τα ηλεκτρόδια χρυσού μπορούν να χρησιμοποιούνται για ανοδικές μετρήσεις όπως τα ηλεκτρόδια πλατίνας, με εξαίρεση αυτής της εφαρμογής να αποτελεί η περίπτωση όπου ο υποστηρικτικός ηλεκτρολύτης περιέχει κάποιο χλωρίδιο. Κάτι τέτοιο συμβαίνει διότι κατ' αυτόν τον τρόπο, το μέταλλο οξειδώνεται σε σύνθετα χλωρίδια. Αυτό το είδος χημικής συμπεριφοράς μπορεί να προκαλέσει επιπλοκές σε πλήθος ηλεκτροαναλυτικών τεχνικών, καθώς οι στιβάδες οξειδίου δύνανται να επιβραδύνουν την αντίδραση μεταφοράς ηλεκτρονίων, ή ακόμη να δώσουν μια

απροσδόκητη αντίδραση με τον αναλυτή. Προκειμένου να προληφθεί μια τέτοια κατάσταση, χρησιμοποιούνται διάφορες προεπεξεργασίες προκειμένου να καθαριστεί η επιφάνεια των ηλεκτροδίων, και ως εκ τούτου να τροποποιηθούν οι χημικές ιδιότητες.

Κατά γενική ομολογία, τα ηλεκτρόδια χρυσού θεωρούνται καλύτερα από εκείνα του λευκοχρύσου. [52]

5.2.2. Κυκλική Βολταμμετρία – Cyclic Voltammetry (CV)

Η κυκλική βολταμμετρία αποτελεί την πλέον διαδεδομένη μέθοδο βολταμμετρικής ανάλυσης, λόγω της ευελιξίας κινήσεων που παρέχει. Η ευκολία στο χειρισμό συνδυαστικά με την ευρεία εφαρμογή που βρίσκει στις ηλεκτροαναλυτικές τεχνικές, έχει συμβάλλει σημαντικά στην εκτεταμένη χρήση στον τομέα της ηλεκτροχημείας, της βιοχημείας, της ανόργανης και της οργανικής χημείας. Εκτός αυτών, διέπεται από αρκετά υψηλή ακρίβεια και αποτελεσματικότητα, χαρακτηριστικά που αποδίδονται στην ικανότητά της να ανιχνεύει την οξειδοαναγωγική συμπεριφορά μιας ουσίας, σε ένα ευρύ φάσμα δυναμικού. Η κυκλική βολταμμετρία αποτελεί συχνά την πρώτη μέθοδο προσέγγισης όταν χρειάζεται να αναλυθεί μια ουσία ηλεκτροχημικά, καθώς προσφέρει γρήγορο υπολογισμό των οξειδοαναγωγικών δυναμικών των ηλεκτροδραστικών στοιχείων και αξιολόγηση της επίδρασης του οποιουδήποτε μέσου κατά της διαδικασία της οξειδοαναγωγής.

Κατά τη διεξαγωγή αναλύσεων με κυκλική βολταμμετρία, χρησιμοποιούνται τρία ηλεκτρόδια, το εργασίας (working electrode), το αναφοράς (reference electrode) και το βοηθητικό (auxiliary electrode). Σκοπός είναι η μέτρηση του δυναμικού του ηλεκτροδίου εργασίας, το οποίο είναι βυθισμένο σε κάποιο διάλυμα ουσίας, και μπορεί να είναι ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα, χρυσού, λευκόχρυσου κτλ. Το δυναμικό του ηλεκτροδίου εργασίας ελέγχεται από το ηλεκτρόδιο αναφοράς, το οποίο μπορεί να είναι ηλεκτρόδιο καλομέλενα (SCE) ή αργύρου/χλωριούχου αργύρου (Ag/AgCl). Υπάρχει ροή φορτίου μεταξύ του ηλεκτροδίου εργασίας και του βοηθητικού ηλεκτροδίου, και το ρεύμα που απαιτείται για να πραγματοποιηθεί η ηλεκτρόλυση στο ηλεκτρόδιο εργασίας, το παρέχει το βοηθητικό ηλεκτρόδιο. [68]

Η κυκλική βολταμμετρία είναι μια τεχνική σάρωσης δυναμικού και περιλαμβάνει την σάρωση δυναμικού μεταξύ κάποιων ορίων. Όταν η σάρωση αγγίξει το ένα όριο, αντιστρέφεται προς την αντίθετη κατεύθυνση με σκοπό τη δημιουργία μιας κυκλικής σάρωσης. Το προκύπτον βολταμμογράφημα είναι μια αναπαράσταση του ρεύματος (current, A) στον κατακόρυφο άξονα, συναρτήσει του δυναμικού (potential, U) στον οριζόντιο άξονα. Το μέγεθος του ρεύματος είναι ανάλογο με τη συγκέντρωση του αναλύτη στο διάλυμα που τίθεται υπό προσδιορισμό, πράγμα που επιτρέπει στην κυκλική βολταμμετρία να χρησιμοποιείται για τον αναλυτικό προσδιορισμό της συγκέντρωσης. [42]

5.2.3. Βολταμμετρία Γραμμικής Σάρωσης - Linear Sweep Voltammetry (LSV)

Κατά τη βολταμμετρία γραμμικής σάρωσης, παρατηρείται το ρεύμα που ρέει στο κύκλωμα, ενώ εφαρμόζεται γραμμική σάρωση του δυναμικού στο ηλεκτρόδιο εργασίας. Όπως σε όλες τις βολταμμετρικές τεχνικές, έτσι και στην LSV, ο σκοπός είναι η ταυτοποίηση ή ο εντοπισμός συστατικών σε ένα διάλυμα.

Η μέθοδος αυτή είναι συνήθης στην πολαρογραφία, όπου τα ηλεκτροενεργά συστατικά ενός διαλύματος μπορούν να προσδιοριστούν μέσω του ρεύματος που παράγεται από μια διαδικασία οξειδοαναγωγής στο διάλυμα κατά τη γραμμική σάρωση. Η σάρωση μπορεί να είναι είτε θετική είτε αρνητική, κάτι που σημαίνει ότι δεν υφίσταται περιορισμός στην κατεύθυνση του ρεύματος. [52]

5.2.4. Διαφορική Παλμική Βολταμμετρία - Differential Pulse Voltammetry (DPV)

Η Διαφορική Παλμική Βολταμμετρία (DPV) διαφοροποιείται από τις υπόλοιπες μεθόδους ως προς την ευαισθησία της η οποία είναι σημαντικά υψηλότερη. Κατ' επέκταση, αυτό την καθιστά αποτελεσματικότερη ακόμη και σε δείγματα πολύ χαμηλής συγκέντρωσης, όπως για παράδειγμα στην περίπτωση της ανίχνευσης φαρμακευτικών ουσιών στο έδαφος, κάτι που πραγματεύεται και η παρούσα εργασία.

Το ρεύμα προσδιορίζεται σε δύο σημεία για κάθε παλμό, αφενός ελάχιστα πριν την εφαρμογή του και μετά το πέρας του. Η διαφορά που σημειώνεται μεταξύ των δυο αυτών σημείων καταγράφεται σε σχέση με το δυναμικό αναφοράς, και έτσι προκύπτει το σχετικό βολταμμετρικό διάγραμμα. Η απόκριση του ρεύματος δίνει μια συμμετρική κορυφή, καθώς η διαφορά στο ρεύμα ελέγχεται από τη διάχυση, φτάνει στο maximum και ταπεινώνεται στο μηδέν γύρω από το δυναμικό οξειδοαναγωγής. [30]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Σκοπός του πειράματος ήταν ο προσδιορισμός του συντελεστή ρόφησης οκτώ φαρμακευτικών ενώσεων από τέσσερα διαφορετικά είδη χρώματος με την οικονομική και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδο της Διαφορικής Παλμικής Βολταμμετρίας (DPV), και η επίδραση της λιποφιλίας στο μηχανισμό της ρόφησης. Προκειμένου τα αποτελέσματα που διεξήχθησαν να είναι αξιόπιστα, οι μετρήσεις έγιναν παραπάνω από μια φορά σε κάθε χρώμα για κάθε ένωση.

6. Σύστημα Βολταμμετρικών Αναλύσεων

Το σύνολο των βολταμμετρικών αναλύσεων έγιναν υπό τη βοήθεια του συστήματος 797 VA Computrace της Ελβετικής εταιρίας Metrohm, το οποίο απεικονίζεται στην παρακάτω εικόνα. Το εν λόγω όργανο διαθέτει ενσωματωμένο ποτενσιοστάτη νέας τεχνολογίας και γαλβανοστάτη, συνδυασμός που καθιστά τα αποτελέσματα των μετρήσεων αξιόπιστα και με ελάχιστες παρεμβολές στα προκύπτοντα διαγράμματα.

Ως ηλεκτρόδιο εργασίας μπορούν να χρησιμοποιηθούν τα εξής ηλεκτρόδια:

- Glassy Carbon, Au, Pt, Ag solid electrodes πολλαπλών χρήσεων
- Screen Printed electrodes
- Hg electrode πολλαπλών χρήσεων
- 3D printed electrode



Εικόνα 4: Απεικόνιση βολταμμετρικού συστήματος 797 VA Computrace, Metrohm.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγιναν μετρήσεις με χρήση στερεού ηλεκτροδίου υαλώδους άνθρακα, πλατίνας και χρυσού, screen printed ηλεκτρόδιο υαλώδους άνθρακα και

3D printed ηλεκτρόδιο, τα οποία είναι διαθέσιμα στο εργαστήριο. Παρακάτω, παρατίθενται εικόνες των εν λόγω ηλεκτροδίων εργασίας. Ως ηλεκτρόδιο αναφοράς, χρησιμοποιείται ηλεκτρόδιο Ag/AgCl πληρωμένο με διάλυμα KCl 3M, και ως βοηθητικό ηλεκτρόδιο σύρμα πλατίνας (Pt).



Εικόνα 5: Απεικόνιση ηλεκτροδίων που δοκιμάστηκαν

Το σύστημα διαθέτει τη δυνατότητα σύνδεσης με αυτόματο συλλέκτη δειγμάτων (π.χ. 863 Compact Autosampler) της εταιρίας Metrohm για την αυτοματοποίηση των μετρήσεων. Τα τεχνικά χαρακτηριστικά του βολταμετρικού συστήματος παρατίθενται στον πίνακα.

Πίνακας 3: Τεχνικά χαρακτηριστικά Βολταμετρικού Συστήματος

<p>Σύστημα Ανάδευσης</p>	<p>200 – 3000 rpm, αναδευτήρας κατασκευασμένος από PET</p>
--------------------------	--

Όγκος Κυψελίδας	10 – 17 mL και 50 – 150 mL, παρέχεται η δυνατότητα θερμοστάτησης
Μετρούμενη Ένταση Ρεύματος	10 nA – 10 mA, με 7 τάξεις μεγέθους
Ρυθμός Σάρωσης	< 1mV/s – 3V/s (ακρίβεια 1mV) < 1mV/s – 35V/s (ακρίβεια 10mV)
Θερμοκρασία Λειτουργίας Οργάνου	0 – 45 °C (20 – 80 % σχετική υγρασία)

Το βολταμετρικό σύστημα συνδέεται με ηλεκτρονικό υπολογιστή μέσω λογισμικού που το συνοδεύει για τον προγραμματισμό των λειτουργιών (π.χ. χρόνος απαερίωσης, ρυθμός σάρωσης δυναμικού, εύρος σάρωσης δυναμικού, ταχύτητα ανάδευσης περιστρεφόμενου ηλεκτροδίου κλπ), την καταγραφή και την αξιολόγηση των ηλεκτροχημικών δεδομένων. Τέλος, το πρόγραμμα διαθέτει ειδική πλατφόρμα ελέγχου καλής λειτουργίας βασικών τμημάτων του πολαρογράφου, όπως των ηλεκτροδίων, του αναδευτήρα (*stirrer*) και του συστήματος απαερίωσης (*purging*).

7. Πρωτόκολλο κατεργασίας με χώμα

Τα πειράματα που αφορούν στην κατεργασία κάποιας υδατικής φάσης με χώμα, ακολουθούν συγκεκριμένη διαδικασία. Τα δείγματα χώματος συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας, και αποτελούν κομμάτι του ανώτερου εδαφικού στρώματος. Τα κριτήρια με βάση τα οποία έγινε η επιλογή των χωμάτων που θα χρησιμοποιούνταν για το πείραμα ήταν αφενός το pH τους να καλύπτει ένα σχετικό εύρος στην πεχαμετρική κλίμακα, κι αφετέρου το περιεχόμενό τους σε οργανικό άνθρακα να είναι σε συγκεκριμένα όρια, καθώς οι δύο αυτές παράμετροι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ροφητική ικανότητα του εκάστοτε χώματος. [36]

Αρχικά, παρασκευάστηκαν πρότυπα υδατικά διαλύματα 1000mg/L των φαρμάκων ακεταμινοφαίνη, ινδομεθακίνη, μεφαιναμικό οξύ, μινοξιδίλη, νιμεσουλίδη, ναπροξένη, σουλφαμεθοξαζόλη και βαρφαρίνη. Σε ογκομετρική φιάλη των 100mL εισήχθησαν 0.1 g προζυγισμένης φαρμακευτικής ουσίας, και έπειτα η φιάλη πληρώθηκε μέχρι τη χαραγή με αιθανόλη. Ακολούθησε ανάδευση με σκοπό την εξ' ολοκλήρου διάλυση της ουσίας στην αλκοόλη.

Παρασκευάστηκαν εναιωρήματα χώματος με τον κατάλληλο όγκο CaCl₂ 0.01 M. Ύστερα από δοκιμές, αποφασίστηκε ότι η ιδανική αναλογία μάζας χώματος:CaCl₂ ήταν 1:5 για όλες τις φαρμακευτικές ουσίες που εξετάστηκαν. Σε κωνικές φιάλες των 25mL, προστίθενται 3g χώματος και 15mL CaCl₂ 0.01M τα οποία υποβάλλονται σε ανάδευση με μαγνητικό αναδευτήρα για 30min. Ύστερα από την παρέλευση του χρόνου αυτού, και χωρίς να διακοπεί η ανάδευση, γίνεται η έγχυση 100μL του εκάστοτε προπαρασκευασμένου πρότυπου διαλύματος φαρμακευτικής ουσίας, συγκέντρωσης 1000mg/L. Ακολουθεί επιπλέον ανάδευση για 90min. Έπειτα, το εναιώρημα μεταφέρεται στο σύστημα φυγοκέντρισης, το οποίο θα τεθεί σε

λειτουργία για 10min με ταχύτητα 4000rpm και θα διαχωρίσει την υδατική φάση από το στερεό χώμα.

Το υπερκείμενο υγρό μεταφέρεται με σιφώνιο των 10mL στην κυψελίδα του οργάνου προκειμένου να τεθεί υπό βολταμμετρική ανάλυση με τη μέθοδο της Διαφορικής Παλμικής Βολταμμετρίας. Έπειτα από την λήψη του βολταμμετρικού διαγράμματος της ανάλυσης του αρχικού υπερκείμενου υγρού, ενίεται μικρή ποσότητα επιπλέον φαρμακευτικής ουσίας (30-40μL) και επαναλαμβάνεται η μέτρηση. Η διαδικασία της επιπλέον προσθήκης επαναλαμβάνεται για 2 φορές.

Η αρχική συγκέντρωση της φαρμακευτικής ουσίας που υπήρχε εντός του αρχικού υπερκείμενου υγρού δίνεται από τη σχέση (20), όπου $V_p=100\mu\text{L}$ αιθανολικού διαλύματος φαρμάκου, $C_p=1000\text{mg/L}$ η συγκέντρωση του πρότυπου αιθανολικού διαλύματος φαρμάκου και $V_{sol}=15,1\text{mL}$ ο συνολικός όγκος CaCl_2 0.01M (15mL) και χώματος (100μL=0.1mL).

$$C_o = \frac{V_p * C_p}{V_{sol}} \quad (20)$$

Βάσει των παραπάνω, η αρχική συγκέντρωση προκύπτει ίση με $C_o=6.622\text{mg/L}$, και ισχύει για κάθε πρότυπο διάλυμα φαρμάκου. Ύστερα από καταγραφή του ύψους του ρεύματος στα βολταμμογραφήματα που προέκυψαν, εισήχθησαν τα αποτελέσματα σε φόρμα Microsoft Excel Office και με χρήση της εξίσωσης της γραμμής τάσης που αντιστοιχούσε σε κάθε ανάλυση, υπολογίζεται η τελική συγκέντρωση της φαρμακευτικής ουσίας που παρέμεινε στην υδατική φάση (C_w). Με γνωστή, λοιπόν, την αρχική συγκέντρωση του εναιωρήματος σε φαρμακευτική ένωση ($C_o=6.62\text{ mg/L}$), μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση της φαρμακευτικής ένωσης που απορροφήθηκε από το χώμα (C_s) χρησιμοποιώντας τη σχέση:

$$C_s = \frac{(C_o - C_w) * V}{m_s} \quad (21)$$

Στην σχέση (21), ως m_s συμβολίζεται η μάζα του χώματος, ως V ο όγκος του εναιωρήματος, ως C_o η αρχική συγκέντρωση πριν την κατεργασία του εναιωρήματος και ως C_w η συγκέντρωση που συγκέντρωση που παρέμεινε στην υδατική φάση και προσδιορίστηκε με την αναλυτική τεχνική. [77]

Ο συντελεστής κατανομής (k_d), που εκφράζει την ποσότητα φαρμάκου που κατανεμήθηκε αφενός στην οργανική (χώμα) φάση και αφετέρου στην υδατική, και που χαρακτηρίζει το κάθε ροφητικό φαινόμενο που έλαβε χώρα, υπολογίζεται από την σχέση (22):

$$k_d = \frac{C_s}{C_w} \quad (22)$$

ο οποίος πρόκειται να μετατραπεί σε λογαριθμική κλίμακα, χάριν απλούστευσης και βελτίωσης της ανάγνωσης των συσχετίσεων. [77]

Ο συντελεστής κατακράτησης (k_d) που προκύπτει από τη σχέση (22), διορθώνεται ύστερα με την περιεκτικότητα σε οργανικό άνθρακα OC ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) σύμφωνα με την εξίσωση (23) [77]:

$$K_{OC} = \frac{k_d \cdot 1000}{[OC]} \quad (23)$$

Στην παρούσα εργαστηριακή έρευνα δεν προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα των δειγμάτων χώματος σε οργανικό άνθρακα. Σε περίπτωση που ήταν γνωστή η περιεκτικότητα των δειγμάτων χώματος σε οργανικό άνθρακα, θα γινόταν σύγκριση μεταξύ των πειραματικών τιμών $\log K_{OC}$ κάθε δείγμα χώματος, και των προβλεπόμενων (υπολογιστικών) τιμών $\log K_{OC}$ από το EPI-Suite, προκειμένου να προσδιοριστεί το πόσο κοντά βρίσκονται οι πειραματικές μετρήσεις στις υπολογιστικά αναμενόμενες.

8. Αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν

Στην παράγραφο αυτή θα αναλυθούν όλες οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των μετρήσεων, από το ακατέργαστο χώμα και τις φαρμακευτικές ενώσεις αυτές καθ' αυτές, έως τα επικουρικά αντιδραστήρια που ήταν απαραίτητα για την ομαλή διεκπεραίωση των πειραμάτων.

8.1. Προκαταρκτικές Μετρήσεις

Η εργαστηριακή έρευνα ξεκίνησε με μετρήσεις στο βολταμετρικό σύστημα, στο οποίο υποβλήθηκαν τα αλκοολικά διαλύματα των φαρμακευτικών ουσιών χωρίς προσθήκη χώματος, με σκοπό την επιβεβαίωση ότι εμφανίζεται χαρακτηριστική κορυφή που σηματοδοτεί την ύπαρξη της ουσίας στο ηλεκτρολυτικό διάλυμα. Η διαδικασία αυτή καθίστατο απαραίτητο να μεσολαβήσει προτού ξεκινήσουν οι επίσημες μετρήσεις, διότι σε περίπτωση που κάποια ουσία δεν ανιχνευόταν από το όργανο ούσα καθαρή, η ανάδευση με το χώμα θα καθιστούσε την ανίχνευσή της αδύνατη. Ο σκοπός των μετρήσεων αυτών ήταν η επιβεβαίωση της εκπομπής σήματος των ενώσεων σε διαχειρίσιμα δυναμικά (0-1V).

Πραγματοποιήθηκαν αρκετές προκαταρκτικές δοκιμές στα εν λόγω φάρμακα χρησιμοποιώντας την Διαφορική Παλμική Βολταμετρία (DPV), μέθοδος που χαρακτηρίζεται από την ευαισθησία της, με τα διαθέσιμα στο εργαστήριο ηλεκτρόδια, όπως ο υαλώδης άνθρακας (*glassy carbon, GCE*), ο χρυσός (*Au*), η πλατίνα (*Pt*), τα 3D ηλεκτρόδια του Πανεπιστημίου Αθηνών και τα Screen Printed ηλεκτρόδια υαλώδη άνθρακα. Ανάλογα με τη φύση της ουσίας και βάσει βιβλιογραφικών αναφορών, προσδιορίσαμε τα ηλεκτρόδια που είχαν την βέλτιστη απόδοση στο εκάστοτε φάρμακο, προκειμένου να εμφανίζονται ευδιάκριτες κορυφές στο βολταμμογράφημα. Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιήθηκαν χρειάζονταν αρχικά ενεργοποίηση με διάλυμα KCl 0.1 M με ειδική μέθοδο καθαρισμού.

8.2. Επιλογή φαρμακευτικών ενώσεων προς μελέτη

Οι προδιαγραφές για τις οποίες έγινε λόγος νωρίτερα, σχετίζονται με το ηλεκτρόδιο εργασίας που χρησιμοποιείται για την ανάλυση του εκάστοτε φαρμάκου, με το δυναμικό όπου εμφανίζεται η κορυφή (peak potential), με τον ηλεκτρολύτη που είναι πιο συμβατός, με την μέθοδο ανάλυσης που ακολουθήθηκε (CV, DPV etc) και έως ένα σημείο με το pH στο οποίο διεξήχθησαν οι μετρήσεις. Βιβλιογραφικές αναφορές οδήγησαν στην σύνταξη του παρακάτω πίνακα, ο οποίος περιλαμβάνει όλες τις ενώσεις που εξετάστηκαν στο εργαστήριο, αλλά δεν κρίθηκαν όλες κατάλληλες για να προχωρήσουν σε περαιτέρω ανάλυση.

Οι εν λόγω ενώσεις, φαίνονταν να πληρούν τις προϋποθέσεις της εμφάνισης σήματος σε ένα φάσμα δυναμικών της τάξεως του 0-1 V περίπου, της ανίχνευσης με συνήθη ηλεκτρόδια που είναι διαθέσιμα στο εργαστήριο, του pH το οποίο βρίσκεται στο φάσμα του pH που μπορεί να απαντάται σε συνήθη εδάφη, καθώς επίσης και της συμβατότητας με ηλεκτρολύτες που μπορούν να παρασκευαστούν στο εργαστήριο.

Πίνακας 4: Βολταμμετρικά στοιχεία των προς εν δυνάμει ανάλυση φαρμάκων

Φάρμακο	Ηλεκτρόδιο Εργασίας	Δυναμικό Κορυφής	Ηλεκτρολύτης	Βολταμμετρική Τεχνική	pH
Acetaminophen [24]	GCE (bare)	+0.544 V	PBS 0.1 M	CV	7.0
Acyclovir [79]	GCE (bare)	no peak	CBPS 0.1 M	CV	7.36
	MWNT-DHP/GCE	+0.93 V			
Carbamazepine [75]	GCE (bare)	+1.175 V	PBS 0.1 M	CV	6.89
Ciprofloxacin [96]	GCE	+1.17 V	KCl 0.1 M	CV	5.5
		+0.26 V			
Ibuprofen [47]	GCE (bare)	+1.4 V	ABS 0.25 M	CV	4
Indomethacin [4]	GCE (bare)	+0.59 V	PBS 0.1 M	CV	8.0
Ketoprofen [16]	GCE (bare)	-1.3 V	PBS 0.01 M	DPV	7
Mefenamic Acid [10]	GCE (bare)	+0.67 V	PBS 0.1 M	CV	7.4
Minoxidil [38]	GCE (bare)	+0.095V	KCl 0.1 M	CV	3
		+0.2 V			
Naproxen [2]	Pt	+1.180 V	MeCN/LiClO ₄ 0.1 M	DPV	
Nicotine [39]	GCE (bare)	+0.92 V	PBS 0.1 M	CV	7.0
Nimesulide [78]	GCE (bare)	+1.251 V	H ₂ SO ₄ 0.05 M	DPV	1.6
Norfloxacin [33]	GCE (bare)	1.1 V	ABS 0.5 M	LSV	4.4
Nortriptyline [50]	Au	+0.65 V	H ₃ PO ₄ 0.05 M	CV	
		+1.15 V			

<i>Ofloxacin [93]</i>	GCE (bare)	no peak	PBS 0,1 M	LSV	6
	MWNT-Nafion/GCE	+0,97 V			
<i>Pindolol [60]</i>	GCE (unmodified)	+0,8 V	PBS 0,1 M	DPV	4
<i>Propafenone [19]</i>	GCE (bare)	+0,9 V	PRBS	DPV	7
<i>Rifampicin [51]</i>	NiHCF/GCE	+0,6 V	KNO ₃ 0,1 M	CV	3
		+0,75 V			
<i>Sulfamethoxazole [94]</i>	GCE (bare)	+0,05 V	KCl 0,1 M	CV	
		+0,3 V			
<i>Warfarin [48]</i>	GCE (unmodified)	+0,89 V	PBS 0,1 M	CV	3

¹ GCE: Glass Carbon Electrode

² MWNT-DHP / GCE : Multi-Wall Carbon Nanotubes – Dihexadecyl Hydrogen Phosphate. Film coat on GCE.

³ MWNT-Nafion / GCE : : Glass Carbon Electrode modified with Multi-Wall Carbon Nanotubes and Nafion (copolymer).

⁴ NiHCF / GCE nickel hexacyanoferrate.

⁵ PBS : Phosphate Buffer Solution.

⁶ ABS : Acetate Buffer Solution.

⁷ PRBS : Britton-Robinson Buffer Solution.

Composition: 0,04 H₃PO₄ / 0,04 M CH₃COOH / 0,04 M H₃BO₃ / 0,2 M NaOH to get the desired value of pH between 2-10.

⁸ CV : Cyclic Voltammetry.

⁹ DPV : Differential Pulse Voltammetry.

¹⁰ SV : Linear Sweep Voltammetry.

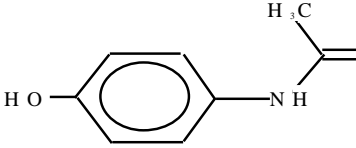
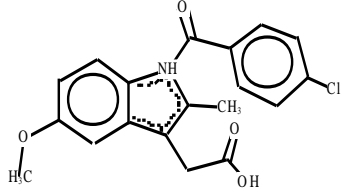
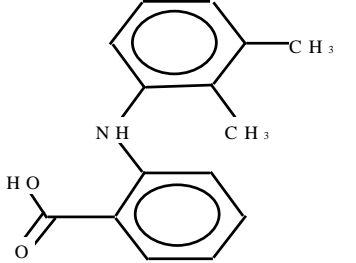
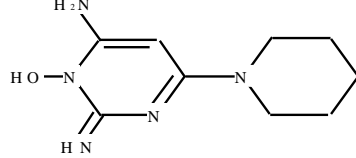
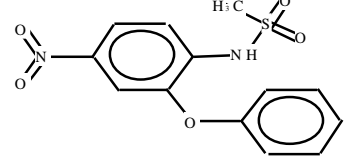
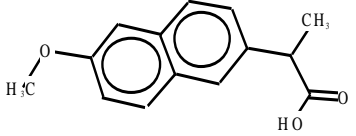
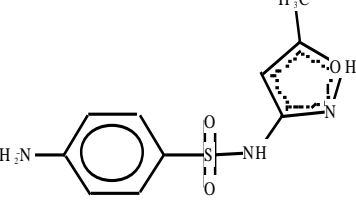
Εν τέλει, επιλέχθηκαν 8 ενώσεις (παρακεταμόλη, ινδομεθακίνη, μεφαιναμικό οξύ, μινοξιδίλη, ναπροξένη, νιμεσουλίδη, σουλφαμεθοξαζόλη, βαρφαρίνη) για να υποβληθούν σε ανάλυση, των οποίων τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά συνοψίζονται στον πίνακα 4.

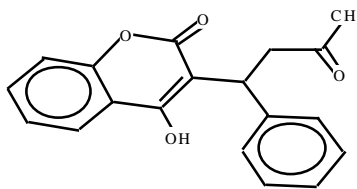
8.3. Φαρμακευτικές ενώσεις που αναλύθηκαν

Οι φαρμακευτικές ενώσεις που τέθηκαν υπό ανάλυση στο βολταμμετρικό σύστημα ήταν οι εξής:

Πίνακας 5: Συγκεντρωτικός πίνακας στοιχείων των υπό ανάλυση φαρμακευτικών ενώσεων

Compound	Formula	Smiles	MW	LogP ¹
----------	---------	--------	----	-------------------

Acetaminophen		<chem>CC(=O)NC1=CC=C(C=C1)O</chem>	151.16	0.46
Indomethacin		<chem>CC1=C(C2=C(N1C(=O)C3=CC=C(C=C3)C)C=C(C=C2)OC)CC(=O)O</chem>	357.8	4.27
Mefenamic Acid		<chem>CC1=C(C(=CC=C1)N)C2=CC=CC=C2C(=O)O</chem>	241.28	5.12
Minoxidil		<chem>C1CCN(CC1)C2=NC(=N)N(C(=C2)N)O</chem>	209.25	1.24
Nimesulide		<chem>CS(=O)(=O)NC1=C(C=C(C=C1)[N+](=O)[O-])OC2=CC=CC=C2</chem>	308.31	2.6
Naproxen		<chem>CC(C1=CC2=C(C=C1)C=C(C=C2)OC)C(=O)O</chem>	230.26	3.18
Sulfamethoxazole		<chem>CC1=CC(=NO1)NS(=O)(=O)C2=CC=C(C=C2)N</chem>	253.28	0.89

Warfarin

CC(=O)CC(C1=CC=CC=C1)C2=C(C(=O)C)C=CC=C2OC3=CC=CC=C3 308.3 2.7

¹Βάσει του PubChem. [55]

Οι ενώσεις του πίνακα 6, επιλέχθηκαν ως οι καταλληλότερες για διεξαγωγή μετρήσεων στο εργαστήριο, καθώς προέκυψε, ύστερα από προκαταρκτικές μετρήσεις με όλα τα δείγματα χρώματος, ότι ανιχνεύονταν σε δυναμικά που δεν ήταν ούτε ιδιαίτερα υψηλά, ούτε ιδιαίτερα χαμηλά, δηλαδή δεν έχουν ακραία μικρό ή ακραία μεγάλο δυναμικό οξειδωσης ή αναγωγής. Συγκεκριμένα, όλες οι ενώσεις έδιναν σήμα μεταξύ 0 και 1 V. Παράλληλα, τα ηλεκτρόδια Screen Printed υαλώδους άνθρακα είχαν τη βέλτιστη απόδοση στην ανάλυση των εν λόγω ουσιών, καθώς οι παρεμβολές από άγνωστα συστατικά του χρώματος ήταν πράγματι μικρές και δεν εμπόδιζαν την διεξαγωγή των βολταμμογραφημάτων. Ακολουθεί ανάλυση των χαρακτηριστικών κάθε ένωσης.

Ακεταμινοφαίνη

Η ακεταμινοφαίνη, ή αλλιώς παρακεταμόλη, αποτελεί φαρμακευτική ουσία με αναλγητικές ιδιότητες. Εντοπίζεται σε φαρμακευτικά αναλγητικά σκευάσματα όπως το Deron και το Panadol. Είναι ουδέτερη ένωση, και από άποψη λιποφιλίας, η ακεταμινοφαίνη χαρακτηρίζεται από χαμηλή λιποφιλία. Κατ' επέκταση αναμένεται μικρή κατακράτηση από το χρώμα και συσσώρευση στην υδατική φάση, άρα σχετικά αυξημένη τελική συγκέντρωση, πλησίον της αρχικής. [99]

Αναλύθηκε με 3D, GCE και Screen Printed ηλεκτρόδια σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή), δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης και δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα. Παρ' όλα αυτά, μόνο το SP-electrode οδήγησε σε αξιοποιήσιμα αποτελέσματα.

Ινδομεθακίνη

Η ινδομεθακίνη αποτελεί αναλγητικό φάρμακο με αντιπυρετικές και αντιφλεγμονώδεις δράσεις. Πρόκειται για μια αρκετά λιπόφιλη ένωση, συνεπώς αναμένεται αυξημένη κατακράτηση από το χρώμα και κατ' επέκταση μικρή τελική συγκέντρωση στην υδατική φάση. [99]

Η ανάλυση της εν προκειμένω ένωσης έγινε με ηλεκτρόδια υαλώδους άνθρακα (GCE), 3D και Screen Printed, αλλά μόνο τα τελευταία έδωσαν αξιοποιήσιμα αποτελέσματα στη μήτρα χρώματος που διατίθετο. Το πείραμα έγινε σε τέσσερις τύπους χρώματος, δείγμα εδάφους από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας), δείγμα εδάφους από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή

Αλμυρής), δείγμα εδάφους από περιοχή Παλλήνης και δείγμα εδάφους από περιοχή Μαραθώνα, και όλες οι απόπειρες οδήγησαν σε εκμεταλλεύσιμα αποτελέσματα.

Μεφαιναμικό Οξύ

Το μεφαιναμικό οξύ είναι μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο με αντιφλεγμονώδη, αντιπυρετική και αναλγητική δράση. Αποτελεί τη δραστική ουσία του φαρμακευτικού σκευάσματος Ponstan. Από άποψη λιποφιλίας, χαρακτηρίζεται ως λιπόφιλο φάρμακο, κάτι που σηματοδοτεί την αναμονή υψηλής κατακράτησης από το χώμα και χαμηλής τελικής συγκέντρωσης στην υδατική φάση. [99]

Η ανάλυση που υπέστη το μεφαιναμικό οξύ ήταν ίσως η εκτενέστερη που έλαβε χώρα στο εργαστήριο για την παρούσα διπλωματική, και αφορούσε σε τέσσερις τύπους εδάφους με τέσσερα διαφορετικά ηλεκτρόδια. Τα χώματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας), δείγμα εδάφους από περιοχή Παλλήνης, δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής) και δείγμα εδάφους από περιοχή Μαραθώνα, και τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν υαλώδης άνθρακας, πλατίνα, 3D και Screen Printed υαλώδους άνθρακα. Παρ' όλα αυτά, δεν είχαν όλες οι απόπειρες καρποφόρα αποτελέσματα, καθώς μόνο το Screen Printed ηλεκτρόδιο αποδείχθηκε κατάλληλο για τις μετρήσεις.

Μινοξιδίλη

Η μινοξιδίλη αποτελεί αντιυπερτασικό αγγειοδιασταλτικό φάρμακο που αρχικά χρησιμοποιείτο για τη θεραπεία της υψηλής αρτηριακής πίεσης. Παρ' όλα αυτά, η χορήγησή του συνδέθηκε αργότερα με ενδυνάμωση της τριχοφυΐας των ασθενών, με αποτέλεσμα πλέον να χρησιμοποιείται και για την αντιμετώπιση της τριχόπτωσης. Χαρακτηρίζεται από σχετικά χαμηλή λιποφιλία, συνεπώς αναμένεται χαμηλή κατακράτηση στο έδαφος, και κατ' επέκταση μεγάλη τελική συγκέντρωση στην υδατική φάση. [99]

Η ανάλυση της μινοξιδίλης έγινε με ηλεκτρόδια Screen Printed υαλώδη άνθρακα σε τέσσερις τύπους χώματος, δείγμα χώματος από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), από περιοχή Παλλήνης, από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής) και από περιοχή Μαραθώνα.

Ναπροξένη

Η ναπροξένη αποτελεί ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο που χρησιμοποιείται κυρίως για τη θεραπεία του πόνου, των φλεγμονών και του πυρετού. Κυκλοφορεί στο εμπόριο εντός του φαρμακευτικού σκευάσματος Aleve. Από άποψη λιποφιλίας, χαρακτηρίζεται από μέτρια προς υψηλή λιποφιλία, και κατ' επέκταση αναμένεται σχετική συγκράτηση στα μόρια του εδάφους και μικρότερη παραμονή στην υδατική φάση. [99]

Η ανάλυση της ναπροξένης έγινε με ηλεκτρόδια Screen Printed υαλώδους άνθρακα σε τέσσερις τύπους χώματος, δείγμα χώματος από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), από

περιοχή Παλλήνης, από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή) και από περιοχή Μαραθώνα.

Νιμεσουλίδη

Η νιμεσουλίδη, είναι ένα μη στεροειδές αντιφλεγμονώδες φάρμακο με αντιπυρετικές και αναλγητικές ιδιότητες, που κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Nimesulide στην Ελλάδα. Από άποψη λιποφιλίας, χαρακτηρίζεται ως μέτρια λιπόφιλο φάρμακο, κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι πρόκειται να σημειωθεί ροφητικό φαινόμενο μέτριας έντασης, και κατ' επέκταση η συγκέντρωση να μειωθεί σχετικά. [99]

Η κατεργασία της νιμεσουλίδης έγινε με τέσσερα ηλεκτρόδια (GCE, Pt, SP, 3D), σε τέσσερις τύπους χώματος, σε δείγμα χώματος από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας), από περιοχή Παλλήνης, από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή) και από περιοχή Μαραθώνα. Δεν ήταν όλα τα πειράματα τελεσφόρα, μιας και εν τέλει μόνο το Screen Printed ηλεκτρόδιο αποδείχθηκε κατάλληλο για μετρήσεις με νιμεσουλίδη.

Σουλφαμεθοξαζόλη

Η σουλφαμεθοξαζόλη αποτελεί αντιβιοτικό που χρησιμοποιείται κυρίως για την καταπολέμηση βακτηριακών λοιμώξεων, όπως οι λοιμώξεις του ουροποιητικού. Είναι παρούσα στο φαρμακευτικό σκεύασμα Bactrimel, το οποίο χορηγείται σε περιστατικά ουρολοιμώξης ή πνευμονίας. Η δράση της περιορίζεται στην αναστολή της σύνθεσης από το βακτήριο του διυδροφυλλικού οξέος, διότι ανταγωνίζεται το παρααμινοβενζοϊκό οξύ, προκαλώντας βακτηριόσταση. Χαρακτηρίζεται από σχετικά χαμηλή λιποφιλία, συνεπώς αναμένεται να έχει μικρή κατακράτηση από τα μόρια του εδάφους, και ταυτόχρονα υψηλή συγγένεια με την υδατική φάση. Κατ' επέκταση, στην πειραματική διαδικασία, αναμένεται υψηλή τελική συγκέντρωση σουλφαμεθοξαζόλης στο εναιώρημα. [99]

Η ανάλυση της σουλφαμεθοξαζόλης έγινε με τρία ηλεκτρόδια σε τέσσερις τύπους εδάφους, Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), δείγμα εδάφους από περιοχή Παλλήνης, δείγμα εδάφους από Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή) και δείγμα εδάφους από περιοχή Μαραθώνα. Παρ' όλο που τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 3D, υαλώδους άνθρακα και Screen Printed, μόνο τα τελευταία απέδωσαν εκμεταλλεύσιμα αποτελέσματα.

Βαρφαρίνη

Η βαρφαρίνη αποτελεί φάρμακο για παθήσεις του κυκλοφορικού συστήματος με αντιπηκτική και αντιθρομβωτική δράση. Διατίθεται με διάφορες εμπορικές ονομασίες, όμως στην Ελλάδα κυκλοφορεί ως Panwarfin από την Abbot. Η δράση της σχετίζεται με την αναστολή της αναγωγής της βιταμίνης K, με αποτέλεσμα την μείωση της σύνθεσης ορισμένων παραγόντων πήξης και των επιπέδων προθρομβίνης, κάτι που συντελεί στην μείωση της θρομβογεννητικότητας. Η βαρφαρίνη θεωρείται ένωση μέσης λιποφιλίας, συνεπώς στη φύση αναμένεται μέση ελευθερία μετακίνησης με το νερό της βροχής. Αναφορικά με το παρόν

πείραμα, αναμένεται μέτρια κατακράτηση από το χώμα και κατ' επέκταση μέτρια μείωση της συγκέντρωσής της στο εναιώρημα μετά την κατεργασία με χώμα. [99]

Η βαρφαρίνη υποβλήθηκε σε κατεργασία και με τα τέσσερα διαφορετικά διαθέσιμα δείγματα εδάφους, όμως μόνο το ένα από αυτά οδήγησε σε καρποφόρα αποτελέσματα, καθώς τα υπόλοιπα δείγματα πιθανόν να περιείχαν συστατικά τα οποία είτε εμπόδιζαν το σήμα της βαρφαρίνης, είτε χαρακτηρίζονταν από υπερβολικά υψηλή λιποφιλία, με αποτέλεσμα να μην απομένει επαρκής ποσότητα βαρφαρίνης στην υδατική φάση για να ανιχνευτεί στη μέτρηση. Τα ηλεκτρόδια που χρησιμοποιήθηκαν ήταν 3D, υαλώδης άνθρακας, πλατίνα και Screen Printed υαλώδους άνθρακα. Παρ' όλα αυτά, μόνο το Screen Printed ηλεκτρόδιο έδωσε ικανοποιητικές μετρήσεις.

8.4. Τύποι εδάφους

Στην εργαστηριακή έρευνα που έγινε για την παρούσα διπλωματική εργασία, χρησιμοποιήθηκαν τέσσερις τύποι χώματος. Ο προσδιορισμός του pH τους έγινε στο εργαστήριο με βάση το πρωτόκολλο ISO 10390, Soil Quality – Determination of pH, σε νερό και σε KCl 1M. Βάσει αυτού, η διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η εξής: Αρχικά, δημιουργήθηκε εναιώρημα χώματος σε νερό με αναλογία 1:5, κι έπειτα εναιώρημα χώματος σε KCl 1M με αναλογία επίσης 1:5. Τα εναιωρήματα υποβλήθηκαν σε ανάδευση με ταχύτητα 500rpm για 30min και ύστερα έγινε προσδιορισμός pH με το πεχάμετρο Mettler της Toledo.

Η τιμές pH που προσδιορίστηκαν για κάθε χώμα σε H₂O και KCl 1M και οι λοιπές πληροφορίες συλλογής παρατίθενται στον επόμενο πίνακα:

Πίνακας 6: Φυσικοχημικές Ιδιότητες τύπων χώματος που χρησιμοποιήθηκαν

Δείγματα εδάφους	Περιοχή συλλογής	Ημ/νία συλλογής	pH (KCl 1M)	pH (H ₂ O)
Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)	Λουτράκι Κορινθίας	13/10/17	7.83	7.89
Περιοχή Παλλήνης	Παλλήνη Μεσογαίας	άγνωστη	3.98	6.01
Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής)	Λουτράκι Κορινθίας	13/10/17	7.64	7.54
Περιοχή Μαραθώνα	Λίμνη Μαραθώνα	άγνωστη	7.35	7.52

Όπως φαίνεται από τις μετρήσεις, οι τιμές μεταξύ των pH των χωμάτων που χρησιμοποιήθηκαν σημειώνουν ορισμένες διαφορές. Συγκεκριμένα, υψηλό pH υποδηλώνει την αυξημένη **συγκέντρωση κατιόντων ασβεστίου και μαγνησίου** (Ca²⁺, Mg²⁺), τα οποία δημιουργούν συνθήκες αλκαλικότητας. Αντίθετα, η μειωμένη τιμή pH συνεπάγεται χαμηλή περιεκτικότητα σε Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺ τα οποία πιθανόν να έχουν παρασυρθεί από το νερό της βροχής. Το CO₂ που παράγεται από την αποσύνθεση οργανικής ύλης και την αναπνοή των ριζών εντός του εδάφους διαλύεται στο νερό που υπάρχει στο χώμα και μετατρέπεται σε

ασθενή οργανικά οξέα τα οποία συμβάλλουν με τον τρόπο τους στην μείωση του pH. Αναφορικά με τα καλλιεργήσιμα εδάφη, η αποσύνθεση οργανικής ύλης, συνδυαστικά με την οξείδωση της αμμωνίας και του θείου που υπάρχει στα λιπάσματα, σχηματίζουν ισχυρά οργανικά και ανόργανα οξέα, όπως το νιτρικό και το θειικό οξύ (HNO_3 , H_2SO_4), γεγονός που συμβάλλει στη μείωση του pH. Τέλος, οι όξινες συνθήκες είναι αλληλένδετες με υψηλές συγκεντρώσεις σε κατιόντα αργιλίου (Al^{3+}), σιδήρου ($\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$) και μαγγανίου (Mn^{2+}). [63]

8.5. Επικουρικά αντιδραστήρια

Πέραν των βασικών συστατικών του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν και επικουρικά αντιδραστήρια. Συγκεκριμένα, έγινε χρήση πρότυπου διαλύματος CaCl_2 0.01M, υπερκάθαρου νερού που αντλούταν από το σύστημα απιονισμού Barnstead EASY PURE II της εταιρείας Thermo Scientific με ειδικά φίλτρα, πρότυπη αιθανόλη ($\geq 98\%$) και πρότυπη ακετόνη ($\geq 99.5\%$) για τον καθαρισμό των σκευών της εταιρείας Honeywell.

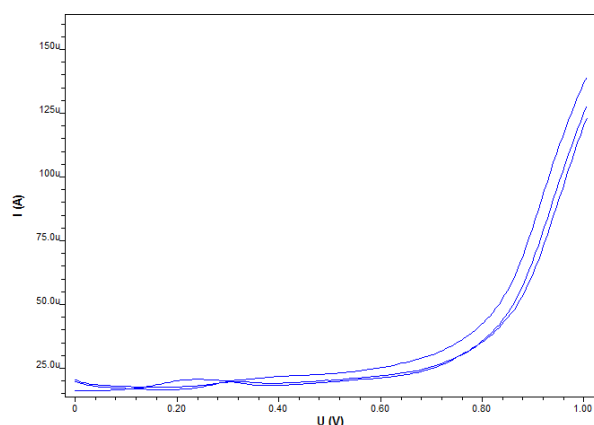
9. Αποτελέσματα

Σε κάθε φαρμακευτική ένωση έγιναν προκαταρκτικές μετρήσεις, με κάθε διαθέσιμο ηλεκτρόδιο και χρώμα στο εργαστήριο, προκειμένου να επιλεγεί το κατάλληλο ηλεκτρόδιο για την ανίχνευση σήματος σε κάθε περίπτωση. Οι επίσημες μετρήσεις, πλην των αξιοποιήσιμων, περιλαμβάνουν αφενός μεν μετρήσεις που εμπεριέχουν σφάλμα, εξού και η ακραίες τιμές τους, κι αφετέρου δε μετρήσεις όπου δεν ευδοκίμησαν είτε λόγω της στασιμότητας του σήματος κατά τη μέθοδο προσθήκης, είτε λόγω της μείωσης της έντασης του σήματος κατά την προσθήκη επιπλέον φαρμακευτικής ουσίας. Οι δύο τελευταίες περιπτώσεις θεωρούνται εσφαλμένες, καθώς καθίσταται αδύνατη η αύξηση της ποσότητας του φαρμάκου να συνοδεύεται από μηδενική μεταβολή ή ακόμη και μείωση του σήματος.

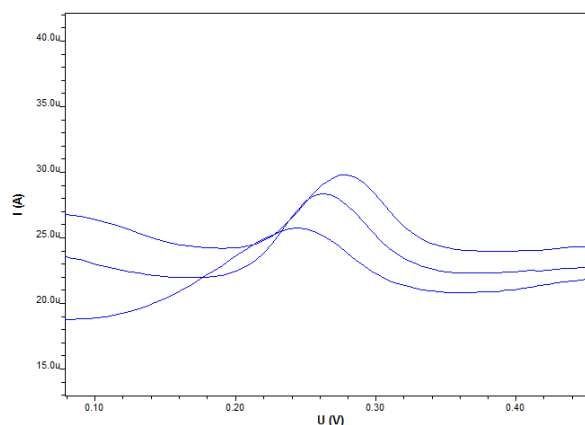
Τα βολταμμετρικά διαγράμματα που προέκυψαν παρουσιάζονται αναλυτικά στις επόμενες παραγράφους, για κάθε μια φαρμακευτική ένωση ξεχωριστά. Κάθε φάρμακο υπέστη βολταμμετρική ανάλυση με παραπάνω από ένα ηλεκτρόδια. Παρ' όλα αυτά, λόγω της αδυναμίας ορισμένων ηλεκτροδίων να ανιχνεύουν κάποια ένωση, δεν προέκυψαν εκμεταλλεύσιμα διαγράμματα από κάθε δοκιμή. Συνεπώς, παρατίθενται όλα τα διαγράμματα που αφορούν στα ηλεκτρόδια που οδήγησαν σε αξιοποιήσιμα αποτελέσματα και που αφορούσαν σε ανάλυση με ηλεκτρόδια *Screen Printed* υαλώδους άνθρακα *DRP-C110* της εταιρείας *Drop Sens*. Στα αποτελέσματα, συμπεριλαμβάνονται και οι περιπτώσεις όπου η ανάλυση δεν ήταν καρποφόρα, προκειμένου να παρουσιαστεί όλο το εύρος της δουλειάς που έλαβε χώρα στο εργαστήριο.

9.1. Ακεταμινοφαίνη

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας)



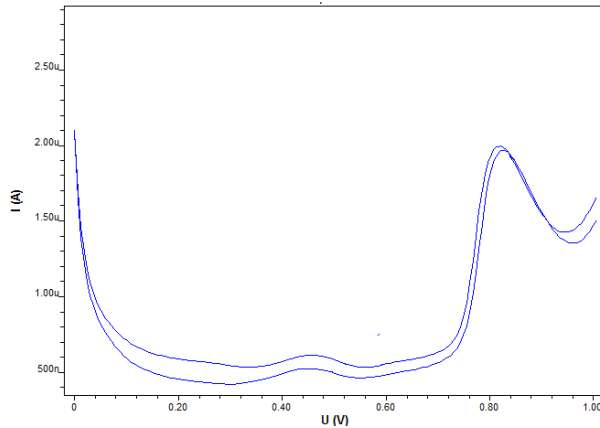
Εικόνα 6: Ενωίωρημα ακεταμινοφαίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας).



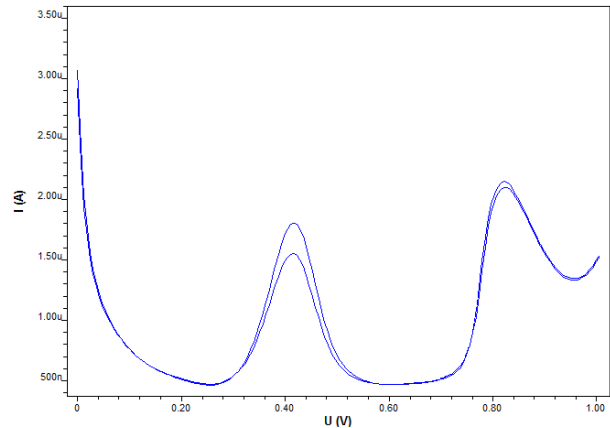
Εικόνα 7: Υστερα από την προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος ακεταμινοφαίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας).

Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ακεταμινοφαίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **3.6 mg/L**.

Δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



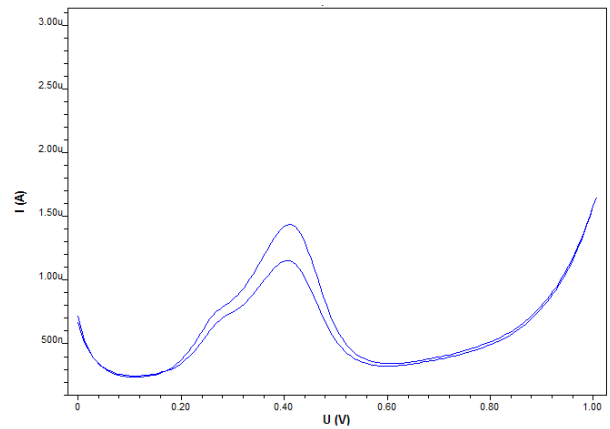
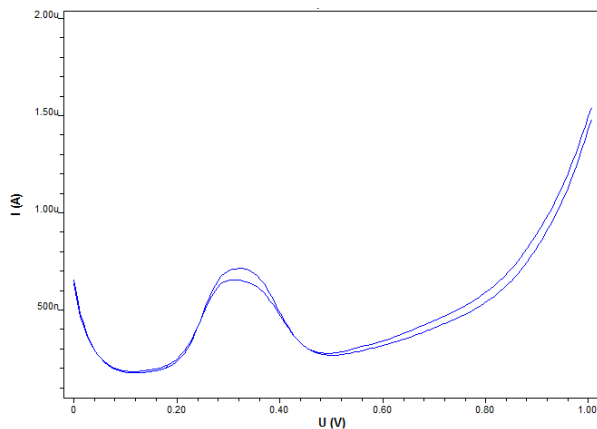
Εικόνα 8: Εναιώρημα ακεταμινοφαίνης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



Εικόνα 9: Ύστερα από προσθήκη 90 μL επιπλέον διαλύματος ακεταμινοφαίνης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης

Όπως άλλωστε είναι εμφανές από τα ανωτέρω διαγράμματα, οι καμπύλες που σχηματίζονται είναι σε δύο διαφορετικά δυναμικά και με διαφορετική ένταση η κάθε μία. Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ακεταμινοφαίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **0.21 mg/L** για τα 0.40 V και **0.72 mg/L** για τα 0.85 V.

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής)



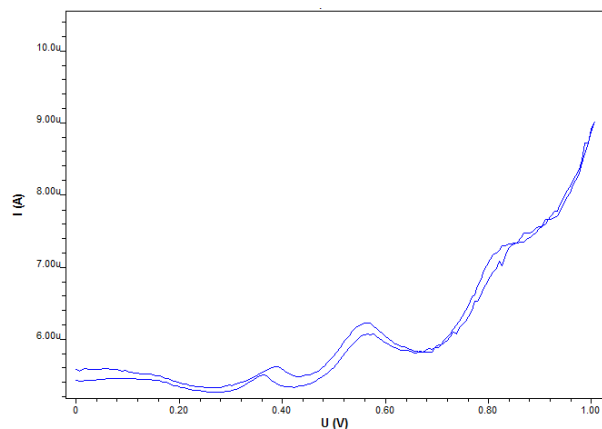
Εικόνα 10: Ενωτήριο ακεταμινοφαίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής)

Εικόνα 11: Ύστερα από προσθήκη επιπλέον 90 μL διαλύματος ακεταμινοφαίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής)

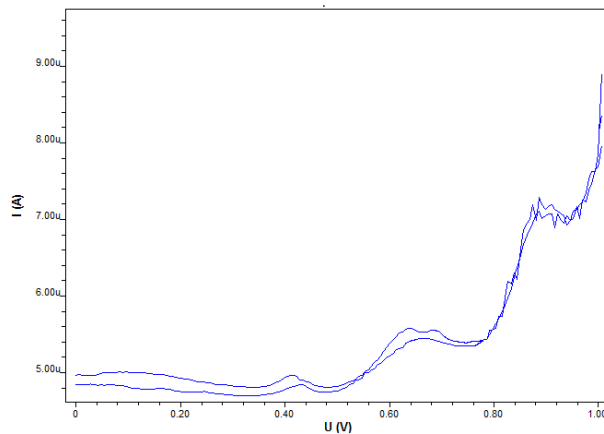
Είναι εμφανές ότι υπήρχε εξ αρχής μια καμπύλωση στο βολταμετρικό διάγραμμα στα 0.40 V, το οποίο όμως με προσθήκη επιπλέον ινδομεθακίνης εντάθηκε σημαντικά. Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ακεταμινοφαίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **5.2 mg/L**.

9.2. Ινδομεθακίνη

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας)



Εικόνα 12: Εναίωρημα ινδομεθακίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας)

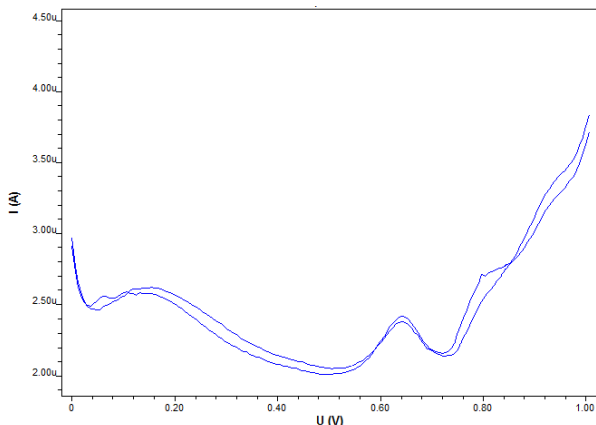


Εικόνα 13: Ύστερα από προσθήκη επιπλέον 60µL διαλύματος ινδομεθακίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας)

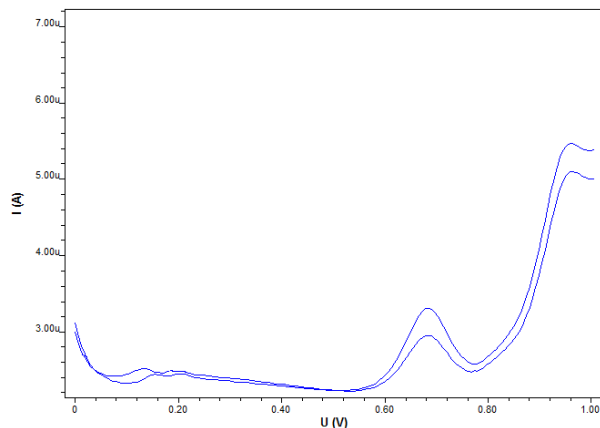
Στο διάγραμμα φαίνεται η διαμόρφωση τριών κορυφών, μία στα 0.40 V, μία στα 0.65 V και μια στα 0.85 V περίπου. Οι πρώτες δύο κατά σειρά εμφάνισης κορυφές ήταν πιο ξεκάθαρες και έντονες πριν την προσθήκη επιπλέον ποσότητας ινδομεθακίνης, κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι οφείλονταν σε αλληλεπιδράσεις του ηλεκτροδίου με συστατικά της μήτρας του χώματος, και κατ' επέκταση δε θα ληφθούν υπόψη στην ανάλυση.

Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ινδομεθακίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **3.2 mg/L** στα 0.85 V.

Δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



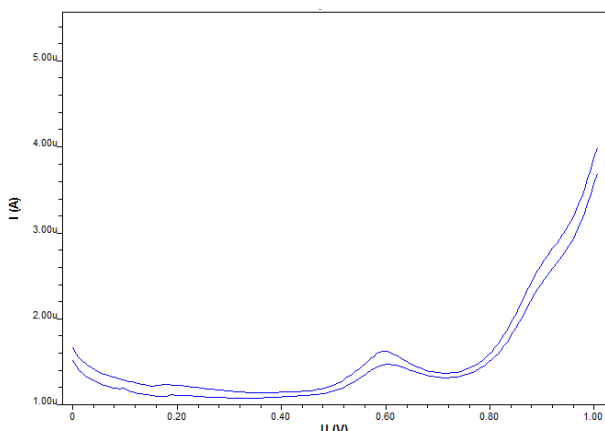
Εικόνα 14: Εναίωρημα ινδομεθακίνης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



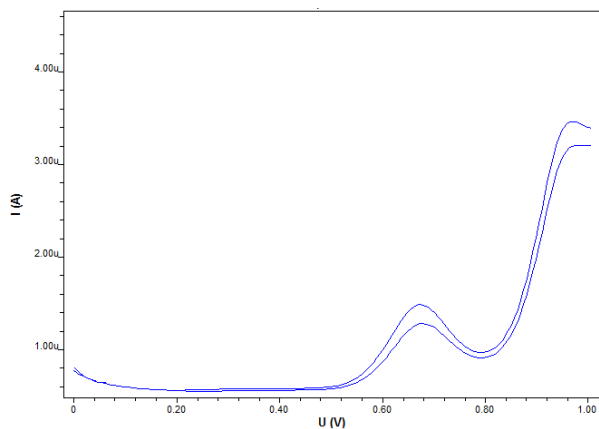
Εικόνα 15: Ύστερα από προσθήκη 90 μL επιπλέον διαλύματος ινδομεθακίνης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης

Στο διάγραμμα φαίνεται η διαμόρφωση δύο καμπύλων, μία στα 0.65 V και μία στα 0.90 V περίπου. Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ινδομεθακίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **5.2 mg/L** στα 0.65 V και **0.84 mg/L** στα 0.90 V.

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής)



Εικόνα 16: Εναίωρημα ινδομεθακίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)

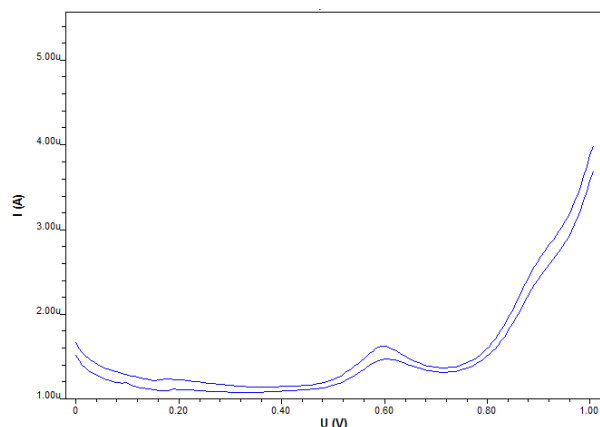


Εικόνα 17: Ύστερα από προσθήκη 90μL διαλύματος ινδομεθακίνης επιπλέον σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)

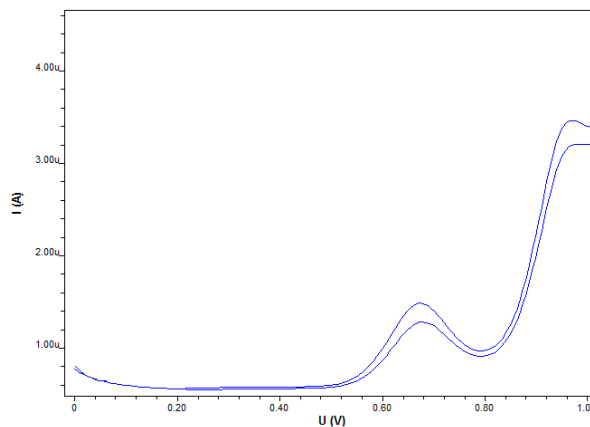
Στο διάγραμμα φαίνεται η διαμόρφωση δύο καμπύλων, μία στα 0.65 V και μία στα 0.90 V περίπου. Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ινδομεθακίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **3.0 mg/L** στα 0.90 V, ενώ η καμπύλη που σχηματίστηκε στα 0.65 V πιθανόν να αφορούσε σε εσωτερικές παρεμβολές τυχόν συστατικών

της μήτρας του χώματος, λόγω της σάρωσης στην οποία υποβλήθηκε από το βολταμετρικό σύστημα.

Δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα



Εικόνα 18: Εναίωρημα ινδομεθακίνης σε δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα

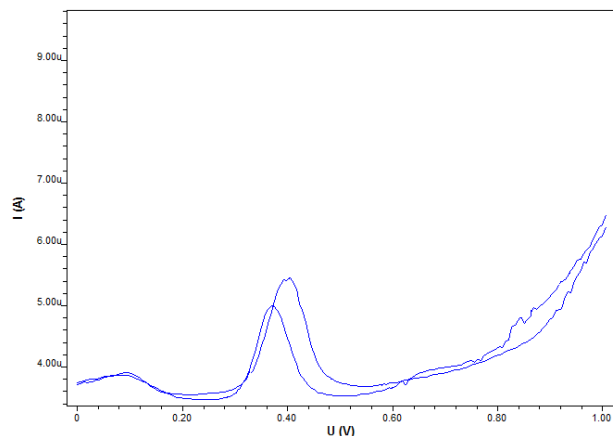


Εικόνα 19: Ύστερα από την προσθήκη 120μL επιυλέον διαλύματος ινδομεθακίνης

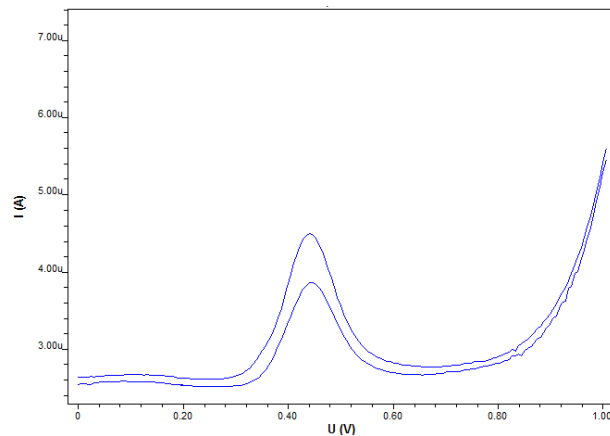
Στο διάγραμμα φαίνεται η διαμόρφωση δύο καμπύλων, μία στα 0.70 V και μία στα 0.90 V περίπου. Ύστερα από τον προσδιορισμό της διαφοράς έντασης μεταξύ των προσθηκών ουσίας, τα αποτελέσματα αναλύθηκαν στο Excel και προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της ινδομεθακίνης που έμεινε στην υδατική φάση ήταν **3.5 mg/L** στα 0.95 V, ενώ η καμπύλη που σχηματίστηκε στα 0.70 V πιθανόν να αφορούσε σε εσωτερικές παρεμβολές τυχόν συστατικών της μήτρας του χώματος, λόγω της σάρωσης στην οποία υποβλήθηκε από το βολταμετρικό σύστημα.

9.3. Μεφαιναμικό Οξύ

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)



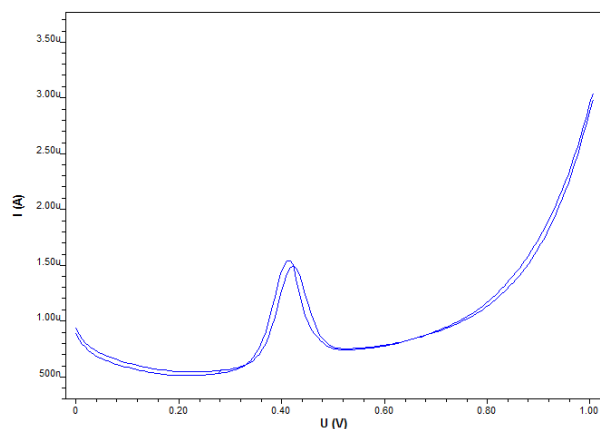
Εικόνα 20: Εναίωρημα μεφαιναμικού οξέος σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)



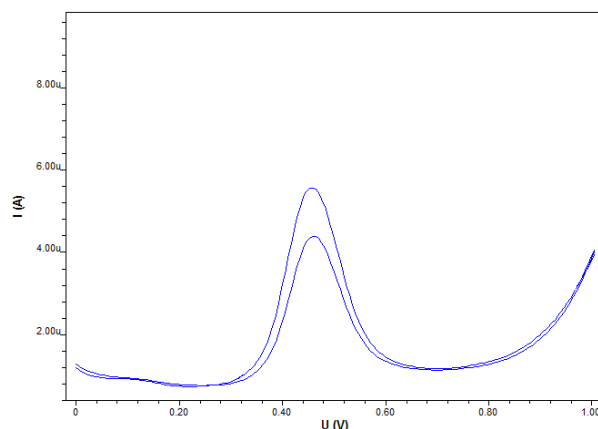
Εικόνα 21: Ύστερα από προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος μεφαιναμικού οξέος σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)

Ύστερα από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων της διαφοράς έντασης ύστερα από κάθε ένεση φαρμάκου, εξήχθησε το συμπέρασμα ότι η τελική συγκέντρωση στην υδατική φάση είναι **4.8 mg/L**.

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)



Εικόνα 22: Εναίωρημα μεφαιναμικού οξέος σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)

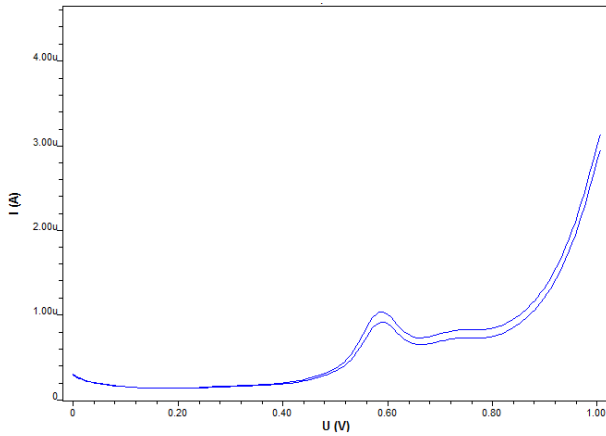


Εικόνα 23: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος μεφαιναμικού οξέος σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)

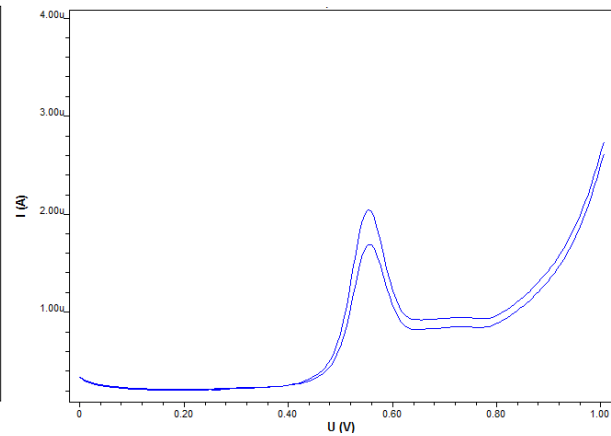
Η ένταση του ρεύματος ύστερα από τις διαδοχικές προσθήκες καταγράφηκε και επεξεργάστηκε στο Excel, από όπου προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση μεφαιναμικού οξέος στο εναιώρημα δείγματος χώματος από περιοχή Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή) ήταν **1.3 mg/L**.

9.4. Μινοξιδίλη

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)



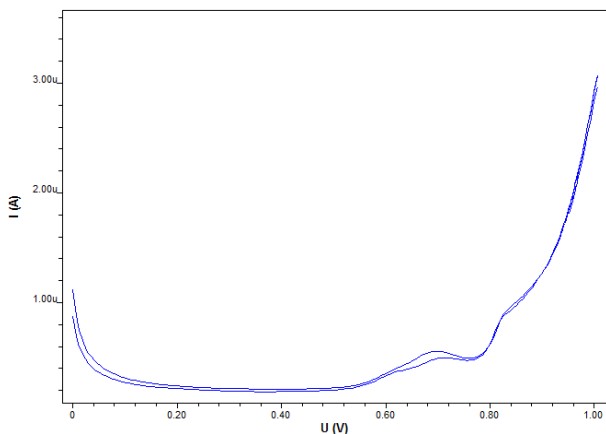
Εικόνα 24: Εναίωρημα μινοξιδίλης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)



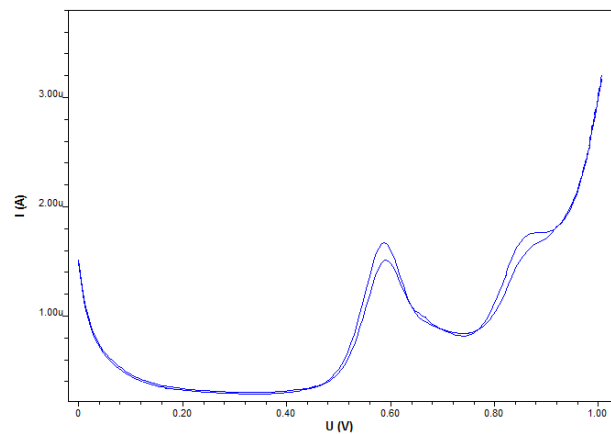
Εικόνα 25: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 120μL διαλύματος μινοξιδίλης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)

Εισάγοντας τα αποτελέσματα της έντασης του ρεύματος στο Excel, έγινε επεξεργασία αυτών και η τελική συγκέντρωση της μινοξιδίλης στην υδατική φάση ήταν ίση με **5.7 mg/L**.

Δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



Εικόνα 26: Εναίωρημα μινοξιδίλης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



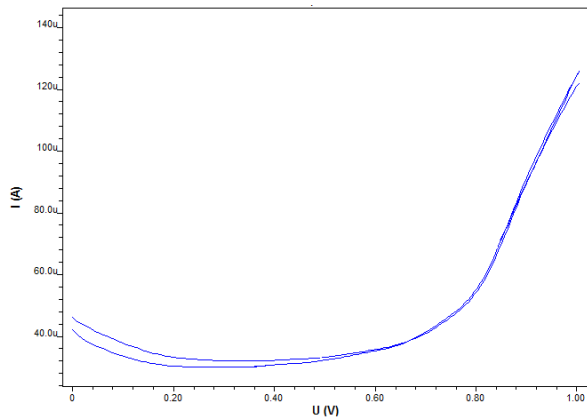
Εικόνα 27: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 120μL διαλύματος μινοξιδίλης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω διαγράμματα έχουν δημιουργηθεί δύο κορυφές, μια αρκετά ευδιάκριτη στα 0.60 V και μια λιγότερο ευκρινής στα 0.85 V. Ύστερα από την εισαγωγή των

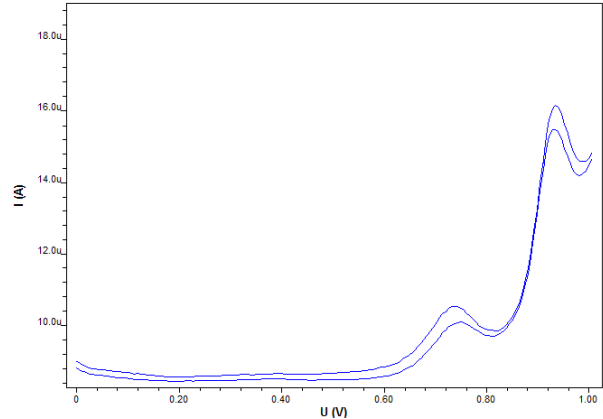
αποτελεσμάτων στο Excel προέκυψε η τελική συγκέντρωση της φαρμακευτικής ένωσης στην υδατική φάση ίση με **0.23 mg/L** στα 0.60 V και **3.0 mg/L** στα 0.85 V.

9.5. Ναπροξένη

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)



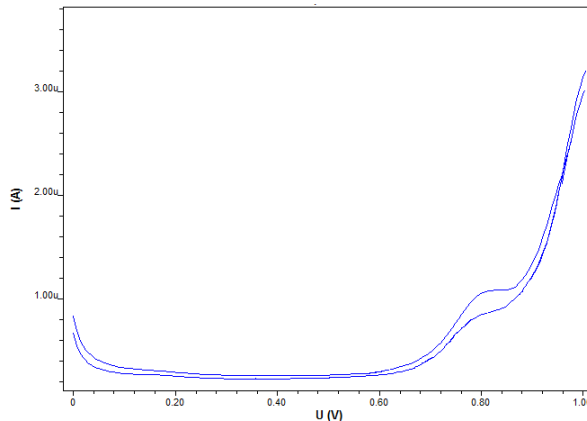
Εικόνα 28: Εναιώρημα ναπροξένης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)



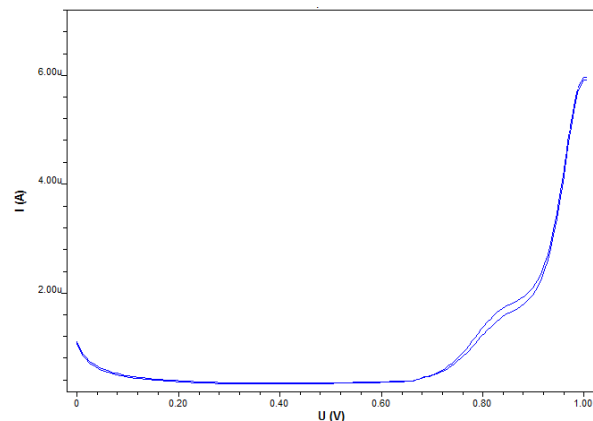
Εικόνα 29: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος ναπροξένης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)

Όπως είναι εμφανές από τα παραπάνω διαγράμματα, τα σημεία όπου σχηματίζεται κορυφή είναι δύο. Η κορυφή στα 0.75 V αφορά πιθανότατα σε εσωτερικές παρεμβολές συστατικών της μήτρας του χώματος με το ηλεκτρόδιο του οργάνου λόγω της σάρωσης στην οποία υποβάλλεται. Εισάγοντας στο Excel τα δεδομένα της έντασης του ρεύματος για την κορυφή στα 0.95 V, προκύπτει ότι η τελική συγκέντρωση της ναπροξένης στο εναιώρημα **0.86 mg/L**.

Δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



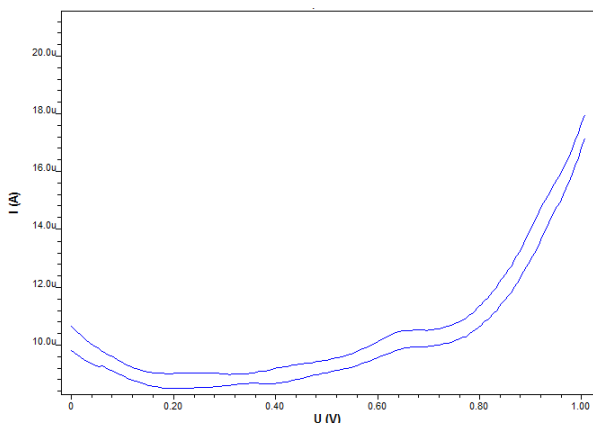
Εικόνα 30: Εναιώρημα ναπροξένης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



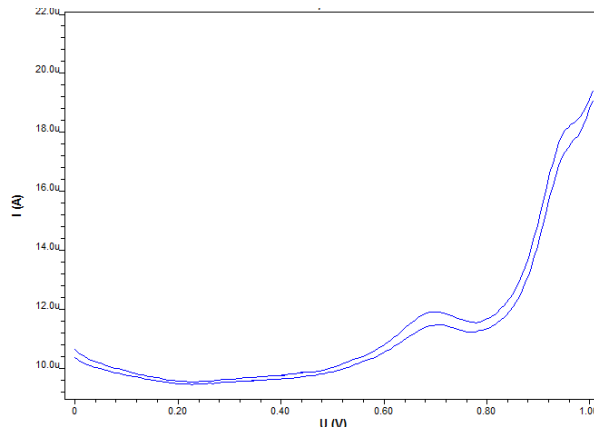
Εικόνα 31: Ύστερα από την προσθήκη 90μL διαλύματος ναπροξένης επιπλέον σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης

Στο διάγραμμα διακρίνεται μοναδική κορυφή στα 0.80 V, η οποία θα τεθεί υπό ανάλυση για την εύρεση της τελικής συγκέντρωσης της ουσίας στο εναιώρημα. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων στο Excel οδήγησε στο συμπέρασμα ότι η τελική συγκέντρωση της ναπροξένης στην υδατική φάση ήταν **5.1 mg/L**.

Δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα



Εικόνα 32: Εναιώρημα ναπροξένης σε δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα

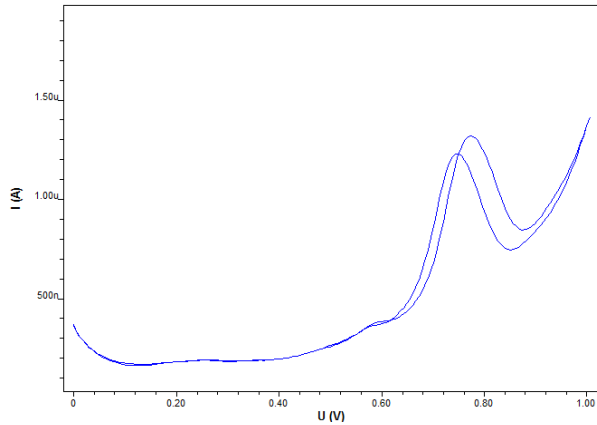


Εικόνα 33: Υστερα από την προσθήκη επιπλέον 120μL διαλύματος ναπροξένης σε δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα

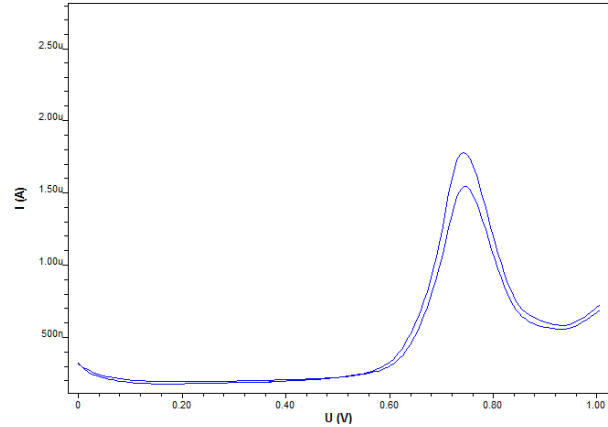
Στο διάγραμμα απεικονίζεται μια αρκετά ευδιάκριτη κορυφή στα 0.70 V, και μια ακόμη ανεπαίσθητη στα 0.95 V. Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων της έντασης του ρεύματος κατέδειξε ότι η τελική συγκέντρωση της ναπροξένης στην υδατική φάση για την κορυφή στα 0.70 V ήταν **4.8 mg/L**, ενώ για την κορυφή στα 0.95 V ήταν **0.70 mg/L**.

9.6. Νιμεσουλίδη

Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)



Εικόνα 34: Εναίωρημα νιμεσουλίδης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής).

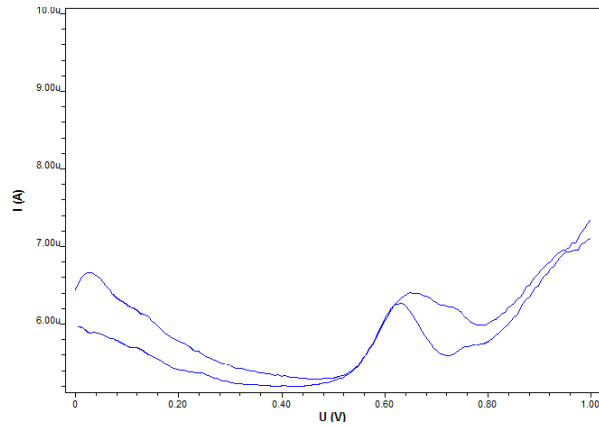


Εικόνα 35: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος νιμεσουλίδης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής).

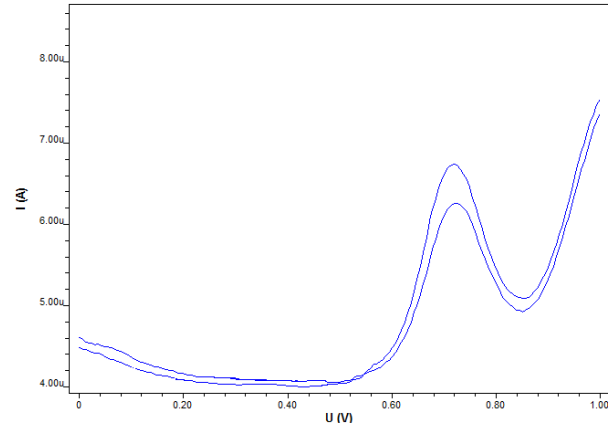
Ύστερα από την τέλος της μεθόδου προσθήκης, τα δεδομένα της αύξησης του ρεύματος εισάγονται στο Excel. Η κορυφή που σχηματίζεται στα 0.75 V μεταφράζεται, όπως εκτιμήθηκε, σε τελική συγκέντρωση **6.4 mg/L**.

9.7. Σουλφαμεθοξαζόλη

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας)



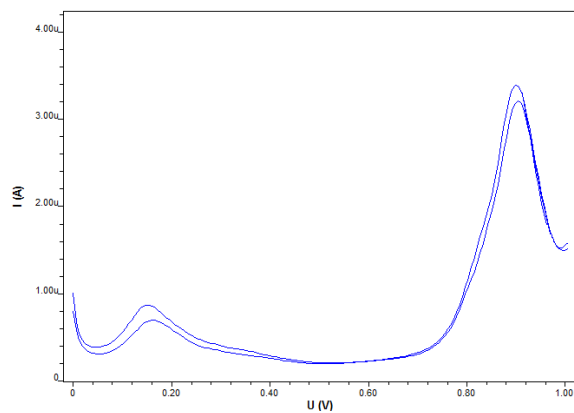
Εικόνα 36: Εναίωρημα σουλφαμεθοξαζόλης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα).



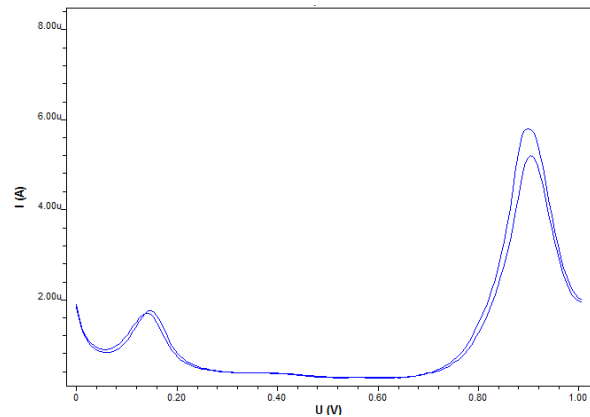
Εικόνα 37: Ύστερα από την προσθήκη 80μL διαλύματος σουλφαμεθοξαζόλης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα).

Ύστερα από την τέλος της μεθόδου προσθήκης, τα δεδομένα της αύξησης του ρεύματος εισάγονται στο Excel. Η κορυφή που σχηματίζεται στα 0.70 V μεταφράζεται, όπως εκτιμήθηκε, σε τελική συγκέντρωση **5.6 mg/L**.

Δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης



Εικόνα 38: Εναίωρημα σουλφαμεθοξαζόλης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης.

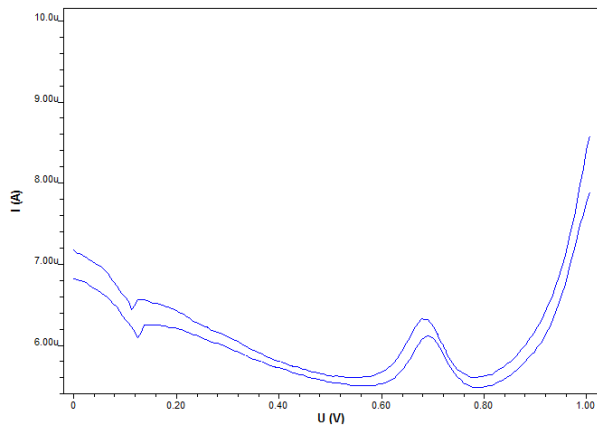


Εικόνα 39: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος σουλφαμεθοξαζόλης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης.

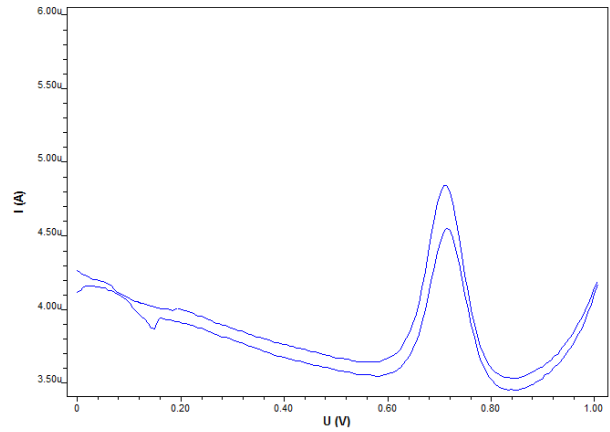
Από τα άνωθεν διαγράμματα, φαίνεται ότι ανιχνευόταν εξαρχής σήμα σε δύο διαφορετικά σημεία της γραμμής τάσης, τα οποία εντεινόντο με τις διαδοχικές προσθήκες φαρμάκου. Παρ' όλα αυτά, από την επεξεργασία των αποτελεσμάτων στο Excel, προέκυψε ότι η κορυφή στα 0.90 V αφορούσε σε αλληλεπιδράσεις του οργάνου με ορισμένα συστατικά του εδάφους, και όχι στην σουλφαμεθοξαζόλη. Συνεπώς, η κορυφή στα 0.10 V αντιστοιχεί σε τελική συγκέντρωση σουλφαμεθοξαζόλης ίσης με **5.6 mg/L**.

9.8. Βαρφαρίνη

Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)



Εικόνα 40: Εναίωρημα βαρφαρίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή).



Εικόνα 41: Ύστερα από την προσθήκη επιπλέον 90μL διαλύματος βαρφαρίνης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής).

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω διαγράμματα, η βαρφαρίνη εμφανίζει σήμα στα 0.70 V περίπου. Εισάγοντας τα δεδομένα στο Excel, προέκυψε ότι η τελική συγκέντρωση της βαρφαρίνης στην υδατική φάση ήταν **6.5 mg/L**.

10. Πίνακες Αποτελεσμάτων

Προκαταρκτικές μετρήσεις έγιναν σε κάθε φαρμακευτική ένωση, με κάθε διαθέσιμο ηλεκτρόδιο και χρώμα στο εργαστήριο, προκειμένου να επιλεγεί το κατάλληλο ηλεκτρόδιο για την ανίχνευση σήματος σε κάθε περίπτωση. Οι επίσημες μετρήσεις, πλην των αξιοποιήσιμων που αναλύθηκαν ενδελεχώς παραπάνω, περιλαμβάνουν αφενός μεν μετρήσεις που εμπεριέχουν σφάλμα, εξού και η ακραίες τιμές τους, κι αφετέρου δε μετρήσεις όπου δεν ευδοκίμησαν είτε λόγω της στασιμότητας του σήματος κατά τη μέθοδο προσθήκης, είτε λόγω της μείωσης της έντασης του σήματος κατά την προσθήκη επιπλέον φαρμακευτικής ουσίας. Οι δύο τελευταίες περιπτώσεις θεωρούνται εσφαλμένες, καθώς καθίσταται αδύνατο η αύξηση της ποσότητας του φαρμάκου να συνοδεύεται από μηδενική μεταβολή ή ακόμη και μείωση του σήματος.

Τα αποτελέσματα της έρευνας που διεξήχθη για τη συγγραφή της παρούσας διπλωματικής εργασίας, συνοψίζονται στον παρακάτω συγκεντρωτικό πίνακα, ο οποίος περιλαμβάνει τους συντελεστές κατακράτησης που σημειώθηκαν για κάθε φάρμακο σε κάθε δείγμα χρώματος. Ο πίνακας αυτός συμπεριλαμβάνει όλες τις επίσημες μετρήσεις που ακολούθησαν ύστερα από τις προκαταρκτικές.

Πίνακας 7: Συντελεστές μερισμού και κατανομής και συντελεστές κατακράτησης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα)

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδας)

Drug	Class	logK _d	logP	logD
Acetaminophen	N	-5.390	0.460	0.46
Indomethacin	A	-5.260	4.270	1.10
Mefenamic Acid	A	-5.444	5.120	1.70
Minoxidil	N	-6.083	1.240	1.24
Nimesulide	A		2.600	0.67
Naproxen	A	-4.471	3.180	-0.24
Sulfamethoxazole	A	-6.043	0.890	-1.24
Warfarin	A		2.700	-0.39

Πίνακας 8: Συντελεστές μερισμού και κατανομής και συντελεστές κατακράτησης σε δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης

Δείγμα εδάφους περιοχής Παλλήνης

Drug	Class	logK _d	logP	logD
Acetaminophen	N	-4.10	0.460	0.460
Indomethacin	A	-5.16	4.270	4.180
Mefenamic Acid	A		5.120	4.960
Minoxidil	N	-4.52	1.240	0.520
Nimesulide	A		2.600	2.590
Naproxen	A	-5.81	3.180	3.010
Sulfamethoxazole	A	-6.38	0.890	0.880
Warfarin	A		2.700	2.590

Πίνακας 9: Συντελεστές μερισμού και κατανομής και συντελεστές κατακράτησης σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρή)

Δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Αλμυρής)

Drug	Class	logK _d	logP	logD
Acetaminophen	N	-5.879	0.460	0.46
Indomethacin	A	-5.212	4.270	1.26
Mefenamic Acid	A	-4.667	5.120	1.96
Minoxidil	N		1.240	1.24
Nimesulide	A	-6.825	2.600	0.85
Naproxen	A		3.180	-0.09
Sulfamethoxazole	A		0.890	-1.05
Warfarin	A	-7.205	2.700	-0.22

Πίνακας 10: Συντελεστές μερισμού και κατανομής και συντελεστές κατακράτησης σε δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα

Δείγμα εδάφους περιοχής Μαραθώνα

Drug	Class	logK _d	logP	logD
Acetaminophen	N		0.460	0.46
Indomethacin	A	-5.355	4.270	1.54
Mefenamic Acid	A		5.120	2.12
Minoxidil	N		1.240	1.23
Nimesulide	A		2.600	1.14
Naproxen	A		3.180	0.17
Sulfamethoxazole	A		0.890	-0.76
Warfarin	A		2.700	0.06

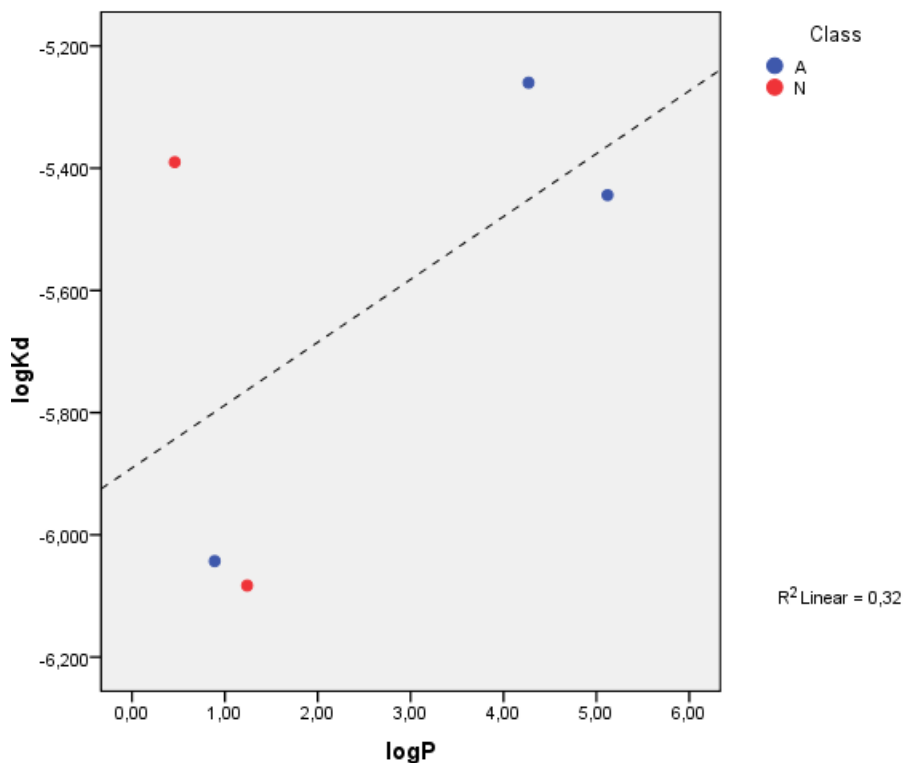
11. Συσχέτιση με λιποφιλία

Πραγματοποιήθηκαν ενδεικτικές συσχετίσεις φαρμακευτικών ενώσεων στο χώμα από την περιοχή Νεράιδα Λουτρακίου Κορινθίας σε pH=7.83, καθώς ήταν το μόνο έδαφος στο οποίο έγινε επαρκής αριθμός μετρήσεων. Από τα διαγράμματα συσχετίσεων έχει αφαιρεθεί η ναπροξένη, καθώς φαινόταν να είναι έκτροπη τιμή (outlier) και πιθανόν να διαστρέβλωνε τα αποτελέσματα. Οι φαρμακευτικές ενώσεις χωρίζονται, βάσει του χημικού είδους τους, σε οξέα (Acid, A), βάσεις (Base, B), ουδέτερα (Neutral, N) και αμφολύτες (Zwitterion, Z). Ενώ συνήθως, τα περισσότερα φάρμακα ανήκουν στην κατηγορία των βάσεων, στο εν προκειμένω πείραμα, τα φάρμακα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οξέα και ουδέτερα. Στα διαγράμματα υπάρχει χρωματική διαφοροποίηση των φαρμάκων βάσει του είδους τους, με σκοπό να διαπιστωθεί οποιαδήποτε ομαδοποίηση σύμφωνα με το χαρακτηριστικό αυτό. Κάτι τέτοιο, όμως, δεν παρατηρήθηκε.

Να τονιστεί ότι τα δεδομένα τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή των συσχετίσεων ήταν σχετικά λίγα συγκριτικά με τα όσα απαιτούνται ώστε να προκύψει μια ικανοποιητική και στατιστικά σημαντική συσχέτιση. Για το λόγο αυτόν, παρατίθενται τα διαγράμματα όπου απεικονίζεται η γραμμή τάσης που συνδέει τη λιποφιλία ως φυσικοχημική παράμετρο επηρεασμού της ρόφησης με τον συντελεστή κατανομής του φαρμάκου από το έδαφος.

11.1. Συντελεστής μερισμού σε σύστημα οκτανόλης-νερού, (logP)

Η αξιολόγηση της μεθόδου που ακολουθήθηκε για τον προσδιορισμό του συντελεστή κατανομής, πραγματοποιείται κυρίως από τη συσχέτιση των αποτελεσμάτων με τους συντελεστές μερισμού (logP) και κατανομής (logD). Ο συντελεστής προσδιορισμού της συσχέτισης των $\log K_d$ με τα $\log P$ βρέθηκε ίσος με $R^2=0.320$. Η τιμή αυτή σημαίνει ότι η ρόφηση επηρεάζεται από τη λιποφιλία σε ένα ποσοστό της τάξεως περίπου 30%.



Εικόνα 42: Συσχέτιση $\log K_d$ με συντελεστή μερισμού, $\log P$, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

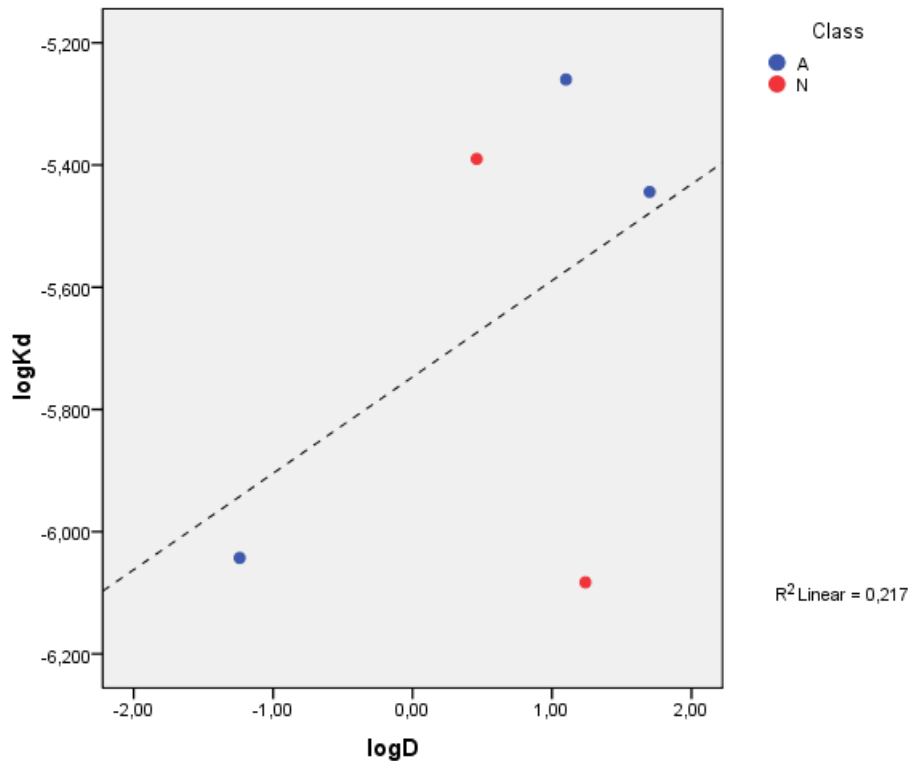
Η εξίσωση που συνδέει τα αποτελέσματα της μεθόδου με το $\log P$ είναι:

$$\log K_d = 0.103(\pm 0.086) \cdot \log P - 5.890(\pm 0.265) \quad (24)$$

Με $N=5$, $R^2= 0.320$, $s= 0.370$

11.2. Συντελεστής κατανομής σε σύστημα οκτανόλης-νερού, ($\log D$)

Ο συντελεστής κατανομής εμφάνισε λιγότερο ικανοποιητική συσχέτιση με τον συντελεστή κατανομής $\log K_d$, συγκριτικά με τον συντελεστή μερισμού. Συγκεκριμένα, προέκυψε συντελεστής προσδιορισμού $R^2=0.217$ που σηματοδοτεί περίπου 20% συμβολή της λιποφιλίας στο ροφητικό φαινόμενο. Το $\log D$ αφορά την ιονισμένη μορφή των φαρμάκων, που εκφράζει ακριβέστερα την κατάσταση τους σε υδατικό διάλυμα.



Εικόνα 43: Συσχέτιση $\log K_d$ με συντελεστή κατανομής, $\log D$, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

Η εξίσωση που συνδέει τα αποτελέσματα της μεθόδου με το $\log D$ είναι:

$$\log K_d = 0.158(\pm 0,173) \cdot \log D - 5.747(\pm 0.210) \quad (25)$$

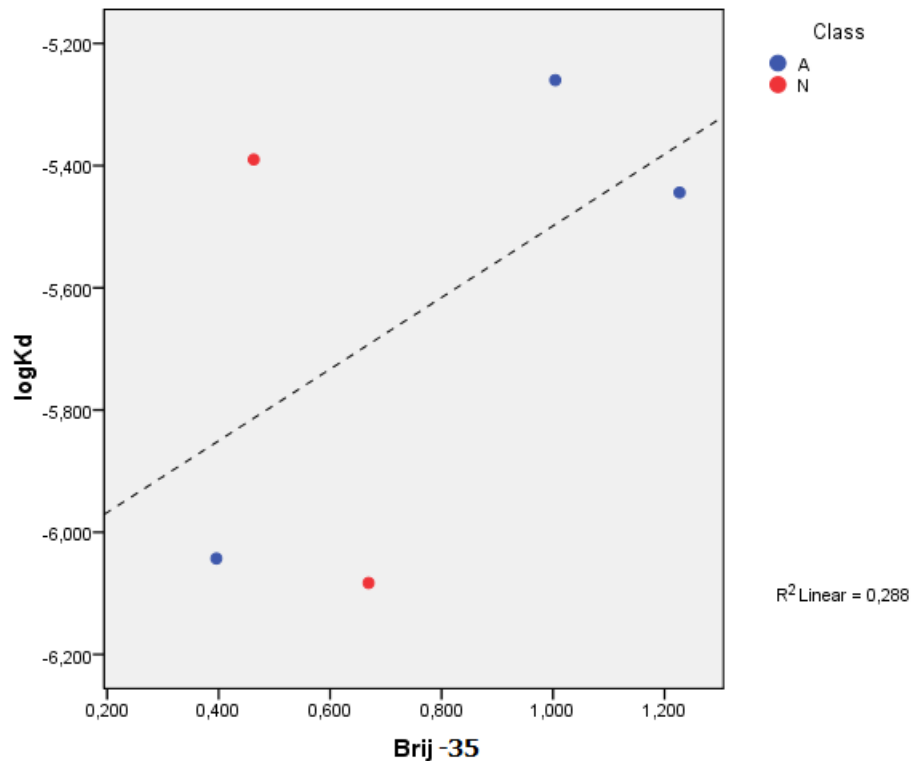
Με $N=5$, $R^2= 0.217$, $s= 0.397$

12. Συσχέτιση με Βιομμητική Χρωματογραφία

Η Βιομμητική Χρωματογραφία (BMC) χρησιμοποιείται ως επί το πλείστον σε διαδικασίες όπου απαιτείται η προσομοίωση βιολογικών διεργασιών. Κατά συνέπεια, μπορεί να θεωρηθεί δείκτης λιποφιλίας, τη βασική φυσικοχημική παράμετρο που επηρεάζει τη ρόφηση από το έδαφος. Έτσι χρησιμοποιείται για συσχετίσεις με τον συντελεστή κατακράτησης των φαρμάκων από το έδαφος.

12.1. Brij-35 από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC)

Το Brij-35 αποτελεί μη ιοντικό τασιενεργό και η συσχέτισή του με τον συντελεστή κατακράτησης προέκυψε ίσος με $R^2=0.288$.



Εικόνα 44: Συσχέτιση $\log K_d$ με μη ιοντικό τασιενεργό Brij-35, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

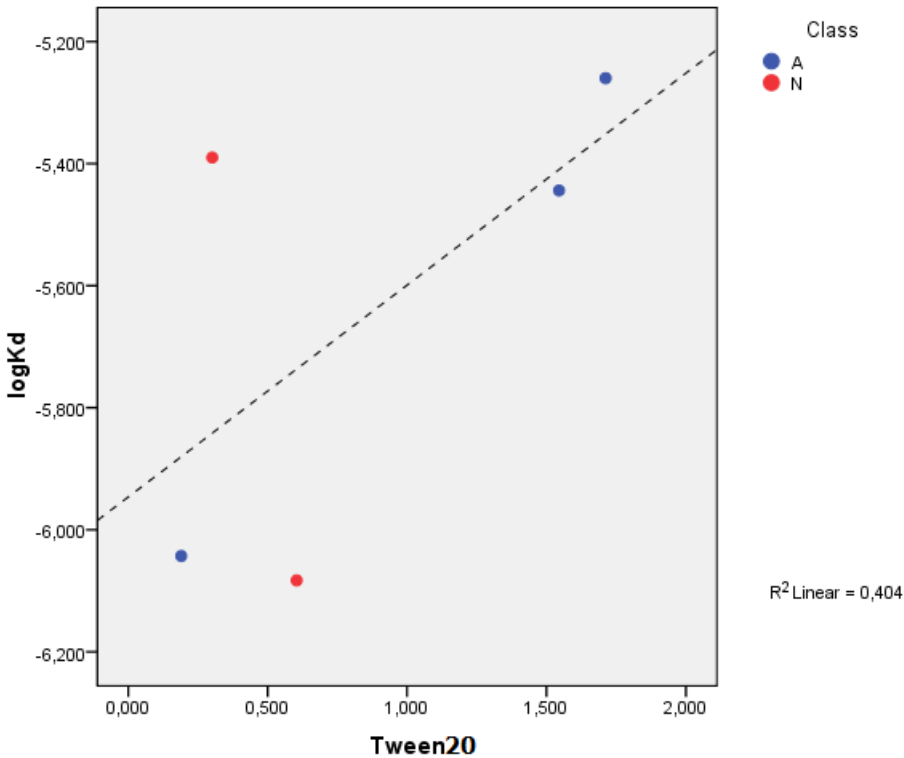
Η εξίσωση που εκφράζει τη μεταξύ τους συσχέτιση είναι η παρακάτω:

$$\log K_d = 0.586(\pm 0.532) \cdot \log k_{Brij-35} - 6.085(\pm 0.434) \quad (26)$$

Με $N=5$, $R^2= 0.288$, $s= 0.379$

12.2. Tween20 από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC)

Το μη ιοντικό τασιενεργό Tween20 από τη Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC) έδωσε τη δεύτερη καλύτερη συσχέτιση με συντελεστή προσδιορισμού $R^2=0.404$. Αυτό σημαίνει ότι με βάση τη συσχέτιση αυτή, η λιποφιλία συμβάλει σε ποσοστό άνω του 40% στο ροφητικό φαινόμενο.



Εικόνα 15: Συσχέτιση $\log K_d$ με μη ιοντικό τασιενεργό, Tween20, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

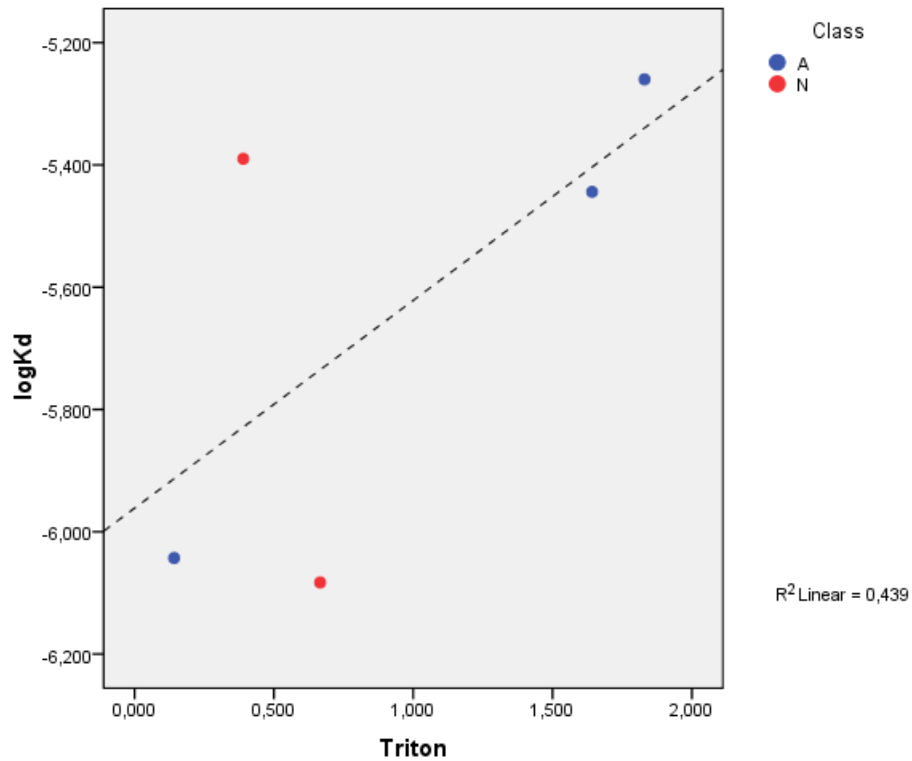
Η εξίσωση που εκφράζει την συσχέτιση αυτή είναι η εξής:

$$\log K_d = 0.347(\pm 0.244) \cdot \log k_{\text{Tween20}} - 5.946(\pm 0.263) \quad (27)$$

Με $N=5$, $R^2= 0.404$, $s= 0.346$

12.3. Triton X-100 από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC)

Το μη ιοντικό τασιενεργό Triton X-100 από τη Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC) έδωσε τη βέλτιστη συσχέτιση με συντελεστή προσδιορισμού $R^2=0.439$, βάσει της οποίας η λιποφιλία επηρεάζει τη ρόφηση σε ποσοστό σχεδόν 45%.



Εικόνα 46: Συσχέτιση $\log K_d$ με μη ιοντικό τασιενεργό, Triton X-100, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

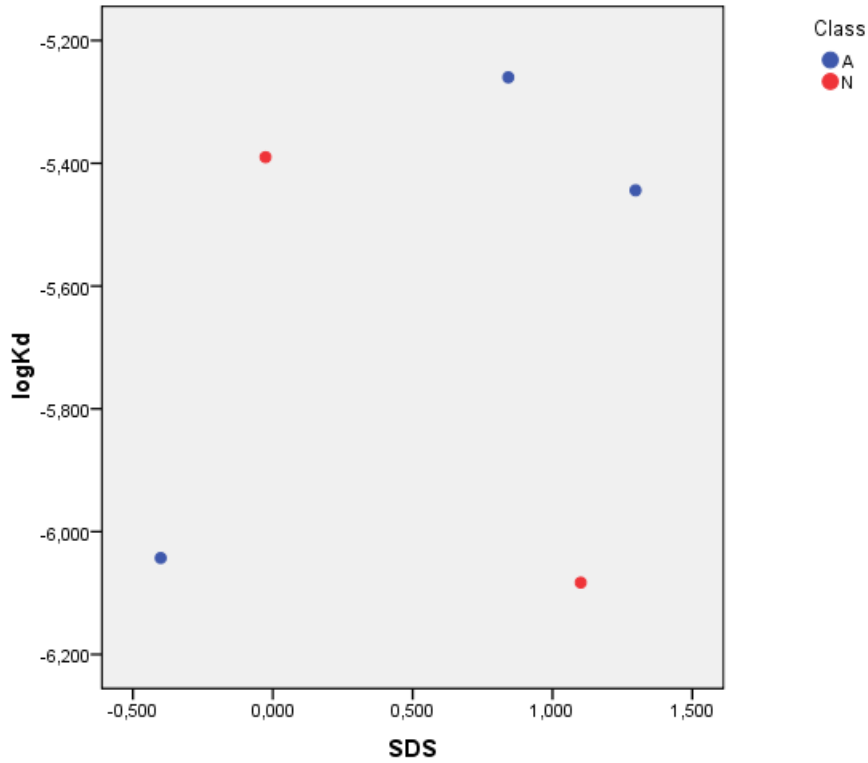
Η εξίσωση που συνδέει την συσχέτιση με το μη ιοντικό τασιενεργό Triton X-100 είναι η:

$$\log K_d = 0.340(\pm 0.222) \cdot \log k_{Triton} - 5.961(\pm 0.256) \quad (28)$$

Με $N=5$, $R^2=0.439$, $s=0.336$.

12.4. SDS από Μικκυλιακή Χρωματογραφία (MLC)

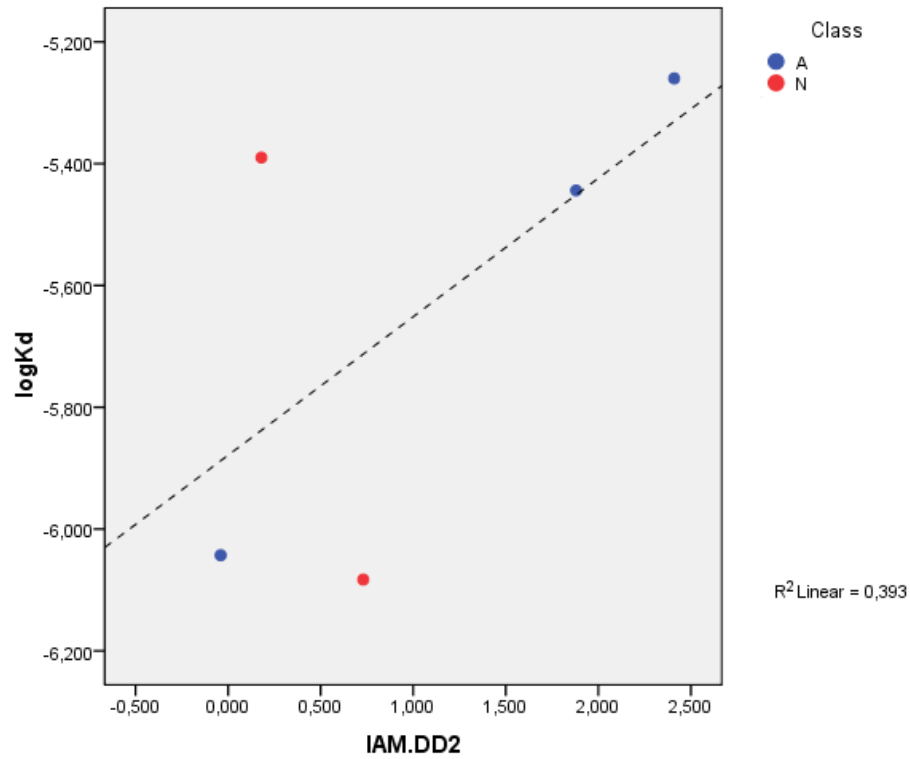
Το ανιοντικό τασιενεργό SDS δεν έδωσε κάποια συσχέτιση.



Εικόνα 47: Συσχέτιση $\log K_d$ με ανιοντικό τασιενεργό, SDS, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

12.5. [IAM.DD2](#)

Η συσχέτιση με $\log K_d$ από στήλη Ακίνητοποιημένων Τεχνητών Μεμβρανών (IAM) χαρακτηρίζεται από συντελεστή προσδιορισμού $R^2=0.393$, που σημαίνει ότι η λιποφιλία επηρεάζει το ροφητικό φαινόμενο κατά 40% σχεδόν.



Εικόνα 48: Συσχέτιση $\log K_d$ με $IAM.DD2$, σε δείγμα εδάφους Λουτρακίου Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα), $pH=7.83$

$$\log K_d = 0.227(\pm 0.162) \cdot \log k_{IAM.DD2} - 5.879(\pm 0.230) \quad (29)$$

Με $N=5$, $R^2=0.393$, $s=0.349$

13. Σχολιασμός Αποτελεσμάτων

Η ρόφηση φαρμακευτικών ενώσεων από το έδαφος με βολταμμετρική τεχνική βρίσκεται σε πρώιμα στάδια μελέτης, και η βάση βιβλιογραφικών δεδομένων που αφορούν το συντελεστή κατακράτησης ($\log K_d$) δεν είναι εμπλουτισμένη. Η εν λόγω εργασία αποτελεί εξέταση του εάν καθίσταται εφικτός ο προσδιορισμός του συντελεστή ρόφησης με κάποια βολταμμετρική τεχνική, και απόπειρα διεξαγωγής κάποιας συσχέτισης της λιποφιλίας με το $\log K_d$. Κατά συνέπεια, η έλλειψη βιβλιογραφίας, σε συνδυασμό με το μικρό αριθμό πειραμάτων που μπόρεσαν να διεξαχθούν στο εργαστήριο, να μην οδήγησαν στην επικύρωση της μεθόδου ως κατάλληλης για μελέτη του ροφητικού φαινομένου, προέκυψαν αποτελέσματα δε, τα οποία κυρίως λόγω του μικρού αριθμού πειραμάτων δεν είναι στατιστικά σημαντικά.

Η Διαφορική Παλμική Βολταμμετρία, δεν χαρακτηριζόταν από καλή επαναληψιμότητα σε όλα τα πειράματα. Από θεωρητικής απόψεως, βάσει της λιποφιλίας της ένωσης, ήταν δυνατό να προβλεφθεί, με κάποια προσέγγιση, η συμπεριφορά της συγκέντρωσης της ουσίας ύστερα από την κατεργασία με το χώμα.

Ο αριθμός των πειραμάτων που οδήγησαν σε αξιοποιήσιμα αποτελέσματα, δεν ταυτίζεται με τον αριθμό των συνολικών πειραμάτων που έλαβαν χώρα στο εργαστήριο. Συγκεκριμένα, όλα σχεδόν τα ηλεκτρόδια δοκιμάστηκαν σε όλους τους τύπους χώματος που ήταν διαθέσιμα, για κάθε φαρμακευτική ένωση. Οι λόγοι για τους οποίους τα προκύπτοντα αποτελέσματα δεν ήταν αξιοποιήσιμα μπορεί να έχουν σχέση αφενός με τη συμβατότητα των ηλεκτροδίων με την εκάστοτε ένωση και αφετέρου με την φύση του χώματος αυτήν καθ' αυτήν.

Αρχικά, η χαμηλή επαναληψιμότητα, ίσως οφειλόταν στη φύση του χώματος αυτή καθ' αυτή. Η λειοτρίβιση, η άλεση και η κοσκίνιση αποτελούν ιδιαίτερα σημαντικά βήματα στη διαδικασία της δειγματοληψίας από ένα μη ομογενοποιημένο υλικό. Το χώμα, στην εν προκειμένω περίπτωση, αποτελεί υλικό με πιθανότατα χαμηλή ομοιογένεια, κάτι που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι η λειοτρίβιση, η άλεση και η κοσκίνιση είναι προαπαιτούμενα βήματα πριν την ορθή δειγματοληψία. Το γεγονός ότι δεν προηγήθηκε καμία από τις ανωτέρω τεχνικές πριν την δειγματοληψία, ίσως είναι μια από τις αιτίες που οδήγησαν σε παράλογα αποτελέσματα αναφορικά με την τελική συγκέντρωση της ουσίας.

Σχετικά με τις περιπτώσεις όπου η τελική συγκέντρωση προέκυπτε πολύ μεγαλύτερη από την αρχική, είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι η εν λόγω ατασθαλία οφειλόταν σε αλληλεπιδράσεις των συστατικών του χώματος με τα ηλεκτρόδια. Η ένταση που «διαβαζόταν» στο βολταμμογράφημα δεν οφειλόταν εξ' ολοκλήρου στην συγκέντρωση της φαρμακευτικής ένωσης. Συγκεκριμένα, μέρος της έντασης αφορούσε σε συστατικά του χώματος τα οποία οξειδώνονταν με κάθε σάρωση και έδιναν εσφαλμένο σήμα στο βολταμμετρικό διάγραμμα. Ορισμένες τιμές δυναμικού τυγχάνουν μεγαλύτερης ευαισθησίας σε παρεμβολές, με αποτέλεσμα να μην καθίσταται δυνατό να γίνει ο διαχωρισμός του μέρους της έντασης που οφείλεται όντως στην συγκέντρωση του φαρμάκου, από το μέρος της έντασης που οφείλεται σε εσωτερικές παρεμβολές λόγω αλληλεπίδρασης του βολταμμογράφου με ορισμένα

συστατικά του χώματος. Κατά συνέπεια, λόγω του ότι ο υπολογισμός της έντασης του ρεύματος γινόταν αρκετά προσεγγιστικά, μέσω ανάγνωσης της τιμής, είναι φυσικό επόμενο να υπάρχουν τέτοιας φύσης αστοχίες στον υπολογισμό της έντασης.

Επιπροσθέτως, χρειάζεται να τονιστεί ότι η Μέθοδος Προσθήκης που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της βολταμμετρικής τεχνικής, προϋποθέτει πως η κορυφή του υπό ανάλυση δείγματος οφείλεται κατ' αποκλειστικότητα στον αναλύτη και όχι σε άλλο χημικό είδος που μπορεί ενδεχομένως να βρίσκεται στο χώμα και να οξειδώνεται στο ίδιο ή παραπλήσιο δυναμικό με την υπό προσδιορισμό ουσία και επομένως το ρεύμα που μετράται να αποτελεί το άθροισμα των επιμέρους ρευμάτων. Στην περίπτωση αυτή θα λάβει χώρα θετικό σφάλμα.

Πέρα από τη λιποφιλία, υπάρχουν και άλλες παράμετροι που επηρεάζουν την ρόφηση από το έδαφος. Ενδεικτικά, το pH, ο οργανικός άνθρακας και το περιεχόμενο των οξειδίων του σιδήρου αποτελούν λίγους από τους παράγοντες εκείνους που επηρεάζουν την ρόφηση ενός φαρμάκου από το χώμα. Κατά συνέπεια, είναι λογικό ο συντελεστής προσδιορισμού R^2 να μην τείνει στη μονάδα, καθώς αντιπροσωπεύει μόνο την συνεισφορά της λιποφιλίας στην ρόφηση των ενώσεων από το έδαφος, δηλαδή μιας αλλά σε κάθε περίπτωση βασικής φυσικοχημικής παραμέτρου που αναφέρεται στον αναλύτη.

14. Συμπεράσματα

Ως συμπεράσματα της παρούσας διπλωματικής εργασίας προκύπτουν τα εξής:

- Η χρήση της Διαφορικής Παλμικής Βολταμμετρίας (DPV) είναι εφικτή για τον προσδιορισμό των συντελεστών κατανομής στο έδαφος. Παρ' όλα αυτά, η μέθοδος χρειάζεται βελτίωση της επαναληψιμότητας και μείωση των παρεμβολών.
- Οι συσχετίσεις είναι ενδεικτικές, καθώς από τις πειραματικές μετρήσεις διεξήχθησαν μόνο λίγα σημεία. Ως παράδειγμα επιλέχθηκε το έδαφος Λουτράκι Κορινθίας (περιοχή Νεράιδα) που είχαν εκτελεστεί οι περισσότερες μετρήσεις. Για να έχουμε αξιόπιστες παρατηρήσεις χρειαζόμαστε περισσότερες ενώσεις και κυρίως με βελτίωση της επαναληψιμότητας της μεθόδου.
- Στα εν προκειμένω πρώιμα στάδια της μελέτης, φαίνεται να υπάρχει συσχέτιση μεταξύ λιποφιλίας και συντελεστή κατακράτησης στα πολύ ενδεικτικά αποτελέσματα των αναλύσεων.
- Οι συσχετίσεις αυτές αποτυπώνουν την επίδραση της λιποφιλίας στην κατακράτηση από το έδαφος σε ποσοστό περίπου 40% (R^2 περίπου ίσο με 0.40). Υπάρχουν ωστόσο και άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την κατακράτηση κυρίως από την πλευρά της σύστασης του εδάφους, π.χ. περιεκτικότητα εδάφους σε οργανικό άνθρακα, σε οξείδια μετάλλων και κυρίως οξείδια του σιδήρου, το pH.
- Θα είναι χρήσιμο να μελετηθούν όλοι αυτοί οι παράγοντες και να αναπτυχθούν συσχετίσεις με πολλαπλή γραμμική παλινδρόμηση. Χρειαζόμαστε όμως μετρήσεις σε τουλάχιστον 30-40 φαρμακευτικές ενώσεις και η καθεμία να μετρηθεί σε 8-10 εδάφη που να διαφέρουν κυρίως ως προς το pH, καθώς επηρεάζει τον ιοντισμό, και ως προς το περιεχόμενο τους σε οργανικό άνθρακα.
- Οι συσχετίσεις με την Βιομιμητική Χρωματογραφία οφείλονται στο γεγονός πως η έκλυση των ενώσεων από το είδος αυτό χρωματογραφίας βασίζεται σε μηχανισμό κατανομής (ποσοστό 60% περίπου) που εξαρτάται από την λιποφιλία των ενώσεων και φυσικά στο ότι η λιποφιλία είναι κύριος μηχανισμός που επηρεάζει την συγκράτηση φαρμακευτικών ενώσεων στο έδαφος.

15. Προτάσεις για μελλοντική έρευνα

Ακολουθεί παράθεση προτάσεων για μελλοντική έρευνα με αφορμή την παρούσα εργαστηριακή έρευνα.

- Αναφορικά με τη μέθοδο της βολταμμετρίας, προτείνεται η δοκιμή και άλλων ηλεκτροδίων (π.χ. boron doped diamond electrode) για την βελτίωση της επαναληψιμότητας της μεθόδου.
- Δοκιμή ανάλυσης υδατικής φάσης με LC-UV ή LC-MS, αντί των βολταμμετρικών τεχνικών, για τον προσδιορισμό των συντελεστών ρόφησης στο έδαφος.
- Συλλογή όσο το δυνατόν μεγαλύτερου αριθμού δειγμάτων εδαφών από διάφορες περιοχές της Ελλάδος, τα οποία θα ποικίλλουν ως προς τη σύσταση, ώστε να προκύψει μια εμπλουτισμένη βάση δεδομένων προς απόκτηση πιο αξιόπιστων μοντέλων.
- Προσδιορισμός συντελεστών ρόφησης σε όσο το δυνατόν περισσότερες φαρμακευτικές ενώσεις με χρήση όσο το δυνατόν περισσότερων δειγμάτων εδαφών για την ανάπτυξη αξιόπιστων σχέσεων πρόβλεψης του ροφητικού φαινομένου στο έδαφος.

Βιβλιογραφικές Αναφορές

- [1] "Προσρόφηση - Ρόφηση"
Πανεπιστήμιο Πατρών - Ηλεκτρονικά Μαθήματα. (Πρόσβαση 19-08-2021). [Ηλεκτρονικά Διαθέσιμο]: <https://eclass.upatras.gr/modules/document/file.php/ENV188/Prosrofisi.pdf>
- [2] Adhoum N., Monser L., Toumi M., Boujlel K., (2003).
Determination of naproxen in pharmaceuticals by differential pulse voltammetry at a platinum electrode.
Analytica Chimica Acta, 495:1-2, pp 69-75.
- [3] Ahmed, A.A., Thiele-Bruhn, S., et al., (2016).
Towards a molecular level understanding of the sulfanilamide-soil organic matter-interaction.
Sci. Total Environ., 559, 347–355.
- [4] Arvand M., Gholizadeh T. M., (2013).
Gold nanorods–graphene oxide nanocomposite incorporated carbon nanotube paste modified glassy carbon electrode for voltammetric determination of indomethacin.
Sensors and Actuators B: Chemical, 186, pp 622-632.
- [5] Bai L.L., Cao C.C., Wang C.L. et al., (2017).
Roles of phytoplankton- and macrophyte-derived dissolved organic matter in sulfamethazine adsorption on goethite.
Environ. Pollut. 230, 87–95.
- [6] Barbato F., (2006).
The Use of Immobilized Artificial Membrane (IAM) Chromatography for Determination of Lipophilicity.
Current Computer-Aided Drug Design.
- [7] Bard A.J. , Faulkner L. R., (1996).
Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications.
John Willey & Sons Eds.
- [8] Bialk-Bielinska A., (2012).
Sulfadimethoxine and sulfaguanidine: their sorption potential on natural soils.
Chemosphere 86, 1059–1065.
- [9] Boichenko A.P, Loginova L. P., Kulikov A. U., (2007).
Micellar liquid chromatography (Review). Part 1. Fundamentals, retention models and optimization of separation.
Methods and objects of chemical analysis, 2:2, 92-116.
- [10] Bonyadi S., Ghanbari K., Ghiasi M., (2020).
All-electrochemical synthesis of a three-dimensional mesoporous polymeric g-C₃N₄/PANI/CdO nanocomposite and its application as a novel sensor for the simultaneous determination of epinephrine, paracetamol, mefenamic acid, and ciprofloxacin.

Royal Society of Chemistry, 44, 3412-3424.

- [11] Boxall, A., Blackwell, P., Cavallo, R., Kay, P., Tolls, J., (2002).
The sorption and transport of a sulphonamide antibiotic in soil systems.
Toxicol. Lett., 131, 19–28.
- [12] Braschi, I., Emanuele, C. and Blasioli, S. (2017).
The Fate of Herbicides in Soil. In Herbicides and Environment.
A. Kortekamp Ed. In Tech., pp. 175-194.
- [13] Briceño, G., Palma, G. and Durán, N. (2007).
Influence of Organic Amendment on the Biodegradation and Movement of Pesticides.
Critical Reviews in Environmental Science and Technology ,37:3, 233-271.
- [14] Carter, A, (2000).
How pesticides get into water - and proposed reduction measures.
Pesticide Outlook, 11:4, pp.149-156.
- [15] Carter, A.D., (2000).
Herbicide movement in soils: principles, pathways and processes.
Weed Research, 40:1, 113-122.
- [16] Cebula Z., Niedziałkowski P., Ossowski T., (2018).
Electrochemical behavior and determination of ketoprofen at Glassy-carbon electrode.
Applied Biosciences, 1:3, pp 7-8.
- [17] Daughton C.G., Ternes T.A., (1999).
Pharmaceuticals and Personal Care Products in the Environment: Agents of Subtle Change?
Environmental Health Perspectives, 107:6, pp 907-938.
- [18] EPI Suite™-Estimation Program Interface (Πρόσβαση 24-09-2021). [Ηλεκτρονικά Διαθέσιμο]:
<https://www.epa.gov/tsc-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface>
- [19] Farag A. S., Bakirhan N. K., Švancara I., Ozkan S.A., (2019).
A new sensing platform based on NH₂fMWCNTs for the determination of antiarrhythmic drug Propafenone in pharmaceutical dosage forms.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 174, pp 534-540.
- [20] Feng Y., Li Z., Hao X., (2016).
Impacts of soil organic matter, iron-aluminum oxides and pH on adsorption-desorption behaviors of oxytetracycline.
Res. J. Biotechnol., 11, 121–131.
- [21] Gad S.C., (2014).
Quantitative Structure – Activity Relationship. Encyclopedia of Toxicology (3rd Edition), pp 1-9.

- [22] Gevao B., Semple K., Jones K., (2000).
Bound pesticide residues in soils: a review. Environmental Pollution 108(1), 3-14.
- [23] Geyikci, F. (2011).
Pesticides and Their Movement Surface Water and Ground Water.
Pesticides in the Modern World - Risks and Benefits. M. Stoytcheva Ed. InTech. pp. 411-422.
- [24] Ghorbani-Bidkorbeh F., Shahrokhian S., Mohammadi A., Dinarvand R., (2010).
Simultaneous voltammetric determination of tramadol and acetaminophen using carbon nanoparticles modified glassy carbon electrode.
Electrochimica Acta, 55:8, pp 2752-2759.
- [25] Guo, X., Ge, J., Yang, C., Wu, R., Dang, Z., Liu, S., (2015).
Sorption behavior of tylosin and sulfamethazine on humic acid: kinetic and thermodynamic studies.
RSC Adv. 5, 58865–58872.
- [26] Guo, X., Tu, B., Ge, J., Yang, C., Song, X., Dang, Z., (2016).
Sorption of tylosin and sulfamethazine on solid humic acid.
J. Environ. Sci. 43, 208–215.
- [27] Guo, X., Yang, C., Wu, Y., Dang, Z., (2014).
The influences of pH and ionic strength on the sorption of tylosin on goethite.
Environ. Sci. Pollut. Res. 21, 2572–2580.
- [28] Hansch C., Fujita T., (1964).
 ρ - σ - π Analysis, A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure.
J. Am. Chem. Soc., 86, 1616-1626.
- [29] Hansch C., Gao H., Hoekman D., (1998).
A generalized Approach to Comparative QSAR in: Comparative QSAR.
J. Devillers (ed), Taylor and Francis.
- [30] Hibbert D.B., (1993).
Introduction to Electrochemistry. Macmillan, London Eds.
- [31] Hornsby A. G., Don W. R., Herner A. E. (1996).
Pesticide properties in the environment. New York: Springer.
- [32] Hu S.Q., Zhang Y., Shen G.X., et al., (2019).
Adsorption/desorption behavior and mechanisms of sulfadiazine and sulfamethoxazole in agricultural soil systems.
Soil Tillage Res., 186, 233–241.
- [33] Huang K.J., Liu X., Xie W., Yuan H., (2008)
Electrochemical behavior and voltammetric determination of norfloxacin at glassy carbon electrode modified with multi walled carbon nanotubes/Nafion.

Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 64:2, pp 269-274.

- [34]Huang, W., Peng, P., Yu, Z. and Fu, J. (2002).
Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments.
Applied Geochemistry, 18:7, 955-972.
- [35]Kah M., Brown, C. D. (2006).
Adsorption of ionisable pesticides in soils.
Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 188, pp. 149–218.
- [36]Kah M., Brown, C. D. (2007).
Prediction of the adsorption of ionizable pesticides in soils.
Journal of Agricultural and Food Chemistry, 55, 2312–2322.
- [37]Kah, M., Sigmund, G., Xiao, F., et al., (2017).
Sorption of ionizable and ionic organic compounds to biochar, activated carbon and other carbonaceous materials.
Water Res., 124, 673–692.
- [38]Karimian N., Gholivand M.B., Taherkhani F., (2015).
Computational design and development of a novel voltammetric sensor for minoxidil detection based on electropolymerized molecularly imprinted polymer.
Journal of Electroanalytical Chemistry, 740, pp 45-52.
- [39]Kassa H., Geto A., Admassie S., (2013).
Voltammetric Determination of Nicotine in cigarette tobacco at electrochemically activated Glassy Carbon Electrode.
Bull. Chem. Soc. Ethiop., 27:3, pp 321-328.
- [40]Kazakevich Y. V., LoBrutto R., (2007).
HPLC for Pharmaceutical Scientists.
Wiley - Interscience, John Wiley & Sons, Inc., Publication.
- [41]Khaledi M. G., (1997).
Micelles as separation media in high-performance liquid chromatography and high-performance capillary electrophoresis: overview and perspective.
Journal of Chromatography A, North Carolina State University, USA.
- [42]Kissinger P.T., Heineman W.R., (1983).
Cyclic Voltammetry.
Journal of Chemical Education, 60:9, pp 702-706.
- [43]Kulshrestha, P., Giese, R.F., Aga, D.S., (2004).
Investigating the molecular interactions of oxytetracycline in clay and organic matter: insights on factors affecting its mobility in soil.

Abstracts of Papers of the American Chemical Society, 228, 629.

- [44]Lai K.M., Johnson K.L., Scrimshaw M.D., Lester J.N., (2000).
Binding of waterborne steroid estrogens to solid phases in river and estuarine systems.
Environmental Science and Technology, 34, 3890–3894.
- [45]Liu, X., Lu, S., Liu, Y., Meng, W., Zheng, B., (2017b).
Adsorption of sulfamethoxazole (SMZ) and ciprofloxacin (CIP) by humic acid (HA): characteristics and mechanism.
RSC Adv. 7, 50449–50458.
- [46]Luong J.H.T, Male K.B., Glennon J.B., (2009).
Boron-doped diamond electrode: synthesis, characterization, functionalization and analytical applications.
Royal Society of Chemistry, Analyst, 134, pp. 1965-1979.
- [47]Mekassa B., Tessema M, Chandravanshi B.S., Tefera M., (2018).
Square Wave Voltammetric Determination of Ibuprofen at Poly(L-Aspartic Acid) Modified Glassy Carbon Electrode.
IEEE Sensors Journal, 18:1, pp. 37-44.
- [48]Molaakbari E., Mostafavi A. et al., (2017).
Synthesis of conductive polymeric ionic liquid/Ni nanocomposite and its application to construct a nanostructure based electrochemical sensor for determination of warfarin in the presence of tramadol.
Talanta, 171, pp 25-31.
- [49]Molero-Monfort M., Martin-Biosca Y., Sagrado S., Villanueva-Camanas R.M., Medina – Hernandez M. J., (2000).
Micellar liquid chromatography for prediction of drug transport.
Journal of Chromatography A, 870:1-2, pp. 1-11.
- [50]Norouzi P., Ganjali M. R., Shirvani-Arani S., Mohammadi A., (2007).
Novel method for the fast determination of ultra trace amount of nortriptyline in its pharmaceutical formulations by fast fourier transform continuous cyclic voltammetric technique at Au microelectrode in flowing solutions.
Journal of Pharmaceutical Sciences, 96:4, pp 893-904.
- [51]Oliveira P.R., Schibelbain A. F., et al., (2018).
Nickel hexacyanoferrate supported at nickel nanoparticles for voltammetric determination of rifampicin.
Sensors and Actuators B: Chemical, 260, pp 816-823.
- [52]Ozkan S. A., (2015).
Electroanalytical Methods in Pharmaceutical Analysis and Their Validation.

Ankara University, Ankara Turkey.

- [53]Pan, M., Chu, L.M., (2016).
Adsorption and degradation of five selected antibiotics in agricultural soil.
Sci. Total Environ., 545, 48–56.
- [54]Pavlovic, D.M., Curkovic, L., Grcic, I., Simic, I., Zupan, J., (2017).
Isotherm, kinetic, and thermodynamic study of ciprofloxacin sorption on sediments.
Environ. Sci. Pollut. Res. 24, 10091–10106.
- [55]PubChem – National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information.
(Πρόσβαση 10-08-21). [Ηλεκτρονικά Διαθέσιμο]: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- [56]Qin, X., Liu, F., et al., (2016).
Adsorption of levofloxacin to goethite: batch and column studies.
Environ. Eng. Sci., 33, 235–241.
- [57]Riise, G., & Salbu, B. (1992).
Mobility of dichlorprop in the soil-water system as a function of different environmental factors.
I. A batch experiment., *Science of the Total Environment*, 123–124, pp. 399–409.
- [58]Rosen M. J., (2004).
Surfactants and interfacial phenomena.
New Jersey, Wiley.
- [59]Schwarzenbach R.P. et al., (1993)
Environmental organic chemistry. Wiley Interscience, New York.
- [60]Silva M., Morante-Zarcero S., Pérez-Quintanilla D., Sierra I., (2019).
Simultaneous determination of pindolol, acebutolol and metoprolol in waters by differential-pulse voltammetry using an efficient sensor based on carbon paste electrode modified with amino-functionalized mesostructured silica.
Sensors and Actuators B: Chemical, 283, pp 434-442.
- [61]Singh, N., Kloeppel, H. and Klein, W. (2001).
Sorption behavior of metolachlor, isoproturon, and terbuthylazine in soils.
Journal of Environmental Science and Health, Part B, 36:4, pp 397-407.
- [62]*Soil Adsorption Coefficient ($k_d, k_f, k_{oc}, k_{foc}$)".*
Chem Safety Pro (Πρόσβαση 01-10-21). [Ηλεκτρονικά Διαθέσιμο]:
<https://www.chemsafetypro.com/Topics/CRA/Soil Adsorption Coefficient Kd Koc.html>.
- [63]*Soil pH: What it means.*
SUNY, College of Environmental Science and Forestry. (Πρόσβαση 18-09-2021). [Ηλεκτρονικά

Διαθέσιμο: <https://www.esf.edu/pubprog/brochure/soilph/soilph.htm>

- [64]Srinivasan, P., Sarmah, A.K., Manley-Harris, M., (2013).
Co-contaminants and factors affecting the sorption behavior of two sulfonamides in pasture soils.
Environmental Pollution, 180, 165–172.
- [65]Tang, T., Yang, C., Wang, L., et al., (2018).
Complexation of sulfamethazine with Cd(II) and Pb(II): implication for co-adsorption of SMT and cd(II) on goethite.
Environ. Sci. Pollut. Res., 25, 11576–11583.
- [66]Thiele-Bruhn, S., Seibicke, T., Schulten, H.R., Leinweber, P., (2004).
Sorption of sulfonamide pharmaceutical antibiotics on whole soils and particle-size fractions.
J. Environ. Qual. 33, 1331–1342.
- [67]Tolls J., (2001).
Sorption of veterinary pharmaceuticals in soils: a review.
Environ Sci Technol, 17, 3397–3406.
- [68]Townshen, A. (1983).
Principles of Instrumental Analysis.
Analytica Chimica Acta, 152.
- [69]Tsopelas, F., Malaki, N., Vallianatou, T., Chrysanthakopoulos, M., Vrakas, D., Ochsenkühn-Petropoulou, M., & Tsantili - Kakoulidou, A. (2015).
Insight into the retention mechanism on immobilized artificial membrane chromatography using two stationary phases.
Journal of Chromatography A, 1396, pp. 25–33.
- [70]Tsopelas, F., Tsantili- Kakoulidou, A., & Ochsenkühn- Petropoulou, M. (2013).
Lipophilicity, biomimetic retention profile and antioxidant activity of selenium species.
Microchemical Journal, 110, pp. 711–718.
- [71]Tsopelas, F., Vallianatou, T., & Tsantili- Kakoulidou, A. (2016a).
The potential of immobilized artificial membrane chromatography to predict human oral absorption.
European Journal of Pharmaceutical Sciences, 81, pp. 82–93.
- [72]Tsopelas, F., Vallianatou, T., & Tsantili- Kakoulidou, A. (2016b).
Advances in immobilized artificial membrane (IAM) chromatography for novel drug discovery.
Expert Opinion on Drug Discovery, 11, pp. 473–488.
- [73]Van de Waterbeemd, H., & Testa, B. (1987).
The parametrization of lipophilicity and other structural properties in drug design.
In B. Testa (Ed.), *Advances in drug research*, 16, New York: Academic.
- [74]Van Emmerik T, Angove MJ, Johnson BB, Wells JD, Fernandes MB, (2003).
Sorption of 17β-estradiol onto selected soil minerals.

J Colloid Interface Sci, 266, 33–39.

- [75] Veiga A., Dordio A., et al., (2010).
Ultra-sensitive voltammetric sensor for trace analysis of carbamazepine.
Analytica Chimica Acta, 674:2, pp 182-189.
- [76] Venkatesan S., (2013).
Adsorption. In Separation and Purification Technologies in Biorefineries.
S. Ramaswamy, H.J. Huang & B.V. Ramarao Eds. John Wiley & Sons, Ltd. pp. 101-148.
- [77] Vitoratos A., Fois C., Danias P., Likudis Z., (2016).
Investigation of the Soil Sorption of Neutral and Basic Pesticides.
Water Air Soil Pollut 227, 397 (2016).
- [78] Wang C., Shao X., Liu Q., et al., (2006).
Differential pulse voltammetric determination of nimesulide in pharmaceutical formulation and human serum at glassy carbon electrode modified by cysteic acid/CNTs based on electrochemical oxidation of L-cysteine.
Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 42:2, pp 237-244.
- [79] Wang F., Chen L., Chen X., Hu S., (2006).
Studies on electrochemical behaviors of acyclovir and its voltammetric determination with nano-structured film electrode.
Analytica Chimica Acta, 576:1, pp 17-22.
- [80] Wang J., et al. (2001).
Glassy carbon paste electrodes.
Electrochemistry Communications, 3:4, pp. 203-208.
- [81] Wang N., Guo, X., Xu, J., Hao, L., Kong, D., Gao, S., (2015).
Sorption and transport of five sulfonamide antibiotics in agricultural soil and soil-manure systems.
J. Environ. Sci. Health B Pest. Food Contam. Agri. Waste, 50, 23–33.
- [82] Weber J., Wilkerson G., Reinhardt C., (2004).
Calculating pesticide sorption coefficients (Kd) using selected soil properties.
Chemosphere, 55:2, 157-166.
- [83] Wu, C., Zhang, S., Nie, G., Zhang, Z. and Wang, J. (2011).
Adsorption and desorption of herbicide monosulfuron-ester in Chinese soils.
Journal of Environmental Sciences, 23:9, pp. 1524-1532.
- [84] Wu, Q., Li, Z., Hong, H., Yin, K., Tie, L., (2010).
Adsorption and intercalation of ciprofloxacin on montmorillonite.
Applied Clay Sciences, 50, 204–211.
- [85] Xu Y., Yu X., Xu B., Peng D., Guo X., (2021).
Sorption of pharmaceuticals and personal care products on soil and soil components: Influencing factors and mechanisms.

Science of the Total Environment, 753, 141891.

- [86] Xu, J., Marsac, R., Costa, D., et al., (2017a).
Co-Binding of pharmaceutical compounds at mineral surfaces: molecular investigations of dimer formation at goethite/water interfaces.
Environ. Sci. Technol., 51, 8343–8349.
- [87] Xu, J., Marsac, R., Wei, et al., (2017b).
Cobinding of pharmaceutical compounds at mineral surfaces: mechanistic modeling of binding and cobinding of nalidixic acid and niflumic acid at goethite surfaces.
Environ. Sci. Technol., 51, 11617–11624.
- [88] Xu, J., Yu, H.-Q., Sheng, G.-P., (2016).
Kinetics and thermodynamics of interaction between sulfonamide antibiotics and humic acids: surface plasmon resonance and isothermal titration microcalorimetry analysis.
J. Hazard. Mater. 302, 262–266.
- [89] Yamamoto H., Hayashi A., Nakamura Y., Sekizawa J., (2005)
Fate and partitioning of selected pharmaceuticals in the aquatic environment.
Environ Sci, 12, 347–358.
- [90] Yamamoto H., Nakamura Y. et al., (2009).
Persistence and partitioning of eight selected pharmaceuticals in the aquatic environment: laboratory photolysis, biodegradation, and sorption experiments.
Water Res, 43, 351–362.
- [91] Yamamoto H., Takemoto K., et al., (2018).
Contribution of inorganic and organic components to sorption of neutral and ionizable pharmaceuticals by sediment/soil.
Environmental Science and Pollution Research, 25, pp 7250–7261.
- [92] Yan, W., Hu, S., Jing, C., (2012).
Enrofloxacin sorption on smectite clays: effects of pH, cations, and humic acid.
J. Colloid Interface Sci. 372, 141–147.
- [93] Yang C., Zhang S., Liu Y., Huang W., (2008).
Electrochemical behaviors of ofloxacin and its voltammetric determination at carbon nanotubes film modified electrode.
Front. Chem. China 2008, 3:3, pp 353-358.
- [94] Yari A., Shams A. (2018).
Silver-filled MWCNT nanocomposite as a sensing element for voltammetric determination of sulfamethoxazole.
Chimica Acta, 1039, pp 51-58.
- [95] Ying G.G., Kookana R.S., Dillon P., (2003).
Sorption and degradation of selected five endocrine disrupting chemicals in aquifer material.

Water Res, 37, 3785–3791.

- [96]Zhang X., Wei Y., Ding Y., (2014)
Electrocatalytic oxidation and voltammetric determination of ciprofloxacin employing poly(alizarin red)/graphene composite film in the presence of ascorbic acid, uric acid and dopamine
Analytica Chimica Acta, 835, pp 29-36.
- [97]Zhang, D., Yang, S.K., et al., (2019a).
Adsorption characteristics of oxytetracycline by different fractions of organic matter in sedimentary soil.
Environ. Sci. Pollut. Res., 26, 5668–5679.
- [98]Zhang, Q., Yang, C., Huang, W., Dang, Z., Shu, X., (2013b).
Sorption of tylosin on clay minerals.
Chemosphere 93, 2180–2186.
- [99]Γαληνός - Οδηγός Φαρμάκων. (Πρόσβαση 28-09-21). [Ηλεκτρονικά Διαθέσιμο]:
<https://www.galinos.gr/>
- [100] Δημόπουλος Β., Τσαντίλη – Κακουλίδου Α., (2015).
Βασικές Αρχές Σχεδιασμού και Ανάπτυξης Φαρμάκων, Αθήνα.
- [101] Ελευθεροχωρινός Η.Γ. (2008).
Ζιζανιολογία: Ζιζάνια, Ζιζανιοκτόνα, Περιβάλλον, Αρχές και Μέθοδοι Διαχείρισης.
Εκδόσεις ΑγροΤύπος ΑΕ., Έκδοση 3^η, Αθήνα.
- [102] Hammaker J.W., Thompson J.M., (1972).
Adsorption of organic chemicals in the soil environment. Vol.1
Goring C.A.I., Hammaker J.W. (Eds.), Marcel Dekker, New York, pp. 49–143.