

# Izolacija psihostimulansa ekstrakcijskim metodama

---

**Vuran, Alma**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:927698>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2025-02-14**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)





Sveučilište u Zagrebu  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
Kemijски odsjek

Alma Vuran

Studentica 3. godine Preddiplomskog sveučilišnog studija KEMIJA

# **IZOLACIJA PSIHOSTIMULANSA EKSTRAKCIJSKIM METODAMA**

## **Završni rad**

Rad je izrađen u Zavodu za analitičku kemiju

Mentor rada: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Zagreb, 2022.



Datum predaje prve verzije Završnog rada:

12. srpnja 2022.

Datum ocjenjivanja Završnog rada i polaganja Završnog ispita:

23. rujna 2022.

Mentor rada: prof. dr. sc. Iva Juranović Cindrić

Potpis:



## Sadržaj

§ SAŽETAK.....	VI
§ 1. UVOD.....	1
§ 2. PRIKAZ ODABRANE TEME .....	II
2.1. Psihostimulansi.....	ii
2.2. Ekstrakcijske metode.....	v
§ 3. LITERATURNI IZVORI.....	XVII

## § Sažetak

Psihostimulansi su tvari koje većinom djeluju stimulirajuće na središnji živčani sustav, a dijele se u tri velike skupine: konvulzivni i respiratorni stimulansi, psihomotorni stimulansi i psihomimetici. Imaju učinak na metalne funkcije i ponašanje, izazivaju uzbuđenje i euforiju, smanjuju umor i povećavaju motoričku aktivnost. Određuju se analitičkim metodama u uzorcima krvnog seruma, mokraće te raznih biljnih uzoraka nakon prethodne pripreme i odvajanja, najčešće ekstrakcijskim metodama.

U okviru ovog završnog rada dan je pregled najvažnijih ekstrakcijskih metoda za izolaciju najčešće korištenih psihostimulansa. Osim najvažnijih ekstrakcijskih metoda za izolaciju psihostimulansa i načina pripreme uzoraka za analizu, dana je i njihova klasifikacija, učinak na zdravlje i nuspojave.

## § 1. UVOD

Psihostimulansi su tvari s djelovanjem na središnji živčani sustav, a najčešće ih konzumiraju sportaši, piloti te vojnici koji učincima psihostimulansa povećavaju svoju budnost, koncentraciju i motoričku aktivnost. Česta je konzumacija psihostimulansa među mladima i adolescentima koji posežu za psihostimulansima kako bi doživjeli kratak učinak euforije iako ih to vodi u ovisnost o takvim tvarima. Izolacija psihostimulansa iz uzoraka mokraće, krvi ili biljaka zahtjeva različite analitičke metode odvajanja, a najčešća metoda je ekstrakcija. Iako se koriste različite ekstrakcijske metode, najčešće se koriste ekstrakcija tekuće-tekuće, ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom i mikroekstrakcija.



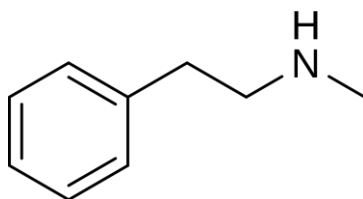
## § 2. PRIKAZ ODABRANE TEME

### 2.1. Psihostimulansi

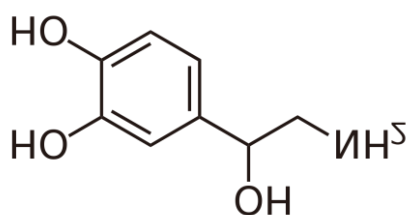
Većina psihostimulansa okarakterizirana je kao opojna droga, odnosno tvar koja je prirodno ili umjetno dobivena te je uvrštena u popis opojnih droga i psihotropnih tvari.<sup>1</sup>

#### 2.1.1. Amfetamin

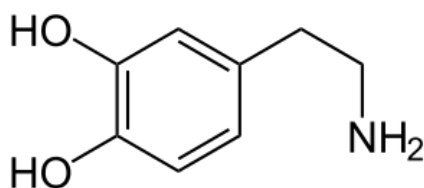
Amfetamin je sintetička, lužnata tvar, metilfenetilamin. Amfetamin, metamfetamin i metilfenidat čine skupinu lijekova koji imaju slična farmakološka svojstva u koja se svrstavaju i takozvane „ulične droge“. Djelovanje im je opisano otpuštanjem monoamina iz živčanih završetaka u mozgu i to osobito noradrenalina i dopamina. Na Slici 1. prikazane su kemijske strukture amfetamina, noradrenalina i dopamina.



a) Amfetamin



b) Noradrenalin



c) Dopamin

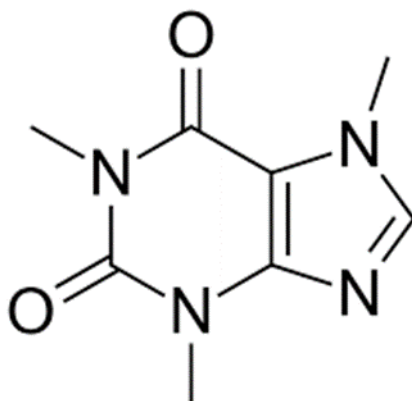
Slika 1. Strukture a) amfetamina b) noradrenalina c) dopamina

Baza amfetamina čini bezbojno i hlapljivo ulje netopljivo u vodi. Na tržištu se najčešće nalazi u obliku sulfata, bijelog lako hlapljivog praha topljivog u vodi.

Uzimanje amfetamina povećava samopouzdanje, hiperaktivnost, izdržljivost, smanjuje umor. Učinak obično počinje u roku od pola sata, a može trajati satima. Nakon „popuštanja“ početnih euforija osoba nakon konzumacije tvari osjeća anksioznost, nemir te depresiju. Amfetamin se brzo apsorbira iz gastrointestinalnog trakta, a nepromijenjen se izlučuje mokraćom. Osim u mokraći, amfetamin je moguće odrediti i u uzorcima krvi, kose te sline. Uz amfetamin često u obliku primjesa dolaze kreatin, laktoza, kofein i škrob.<sup>2,3</sup>

### 2.1.2. Kofein

Trimetilksantin, kofein je alkaloid ksantina koji ima svoje blago stimulirajuće djelovanje na središnji živčani susstav. Njegova struktura prikazana je na Slici 2.



Slika 2. Struktura kafeina

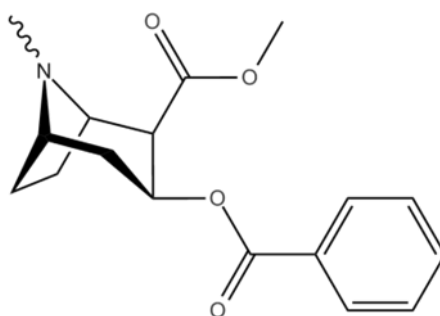
Nalazi se u listovima i sjemenkama biljaka kao što su guarana, ujedno i najbogatija biljka kofeinom te u sjemenkama kave. Karakteriziraju ga bijeli, sitni igličasti kristali koji se lako otapaju u kipućoj vodi i kloroformu. Najlakše ga je ekstrahirati iz biljke vrućom vodom.<sup>4</sup>

Na organizam čovjeka djeluje nakon apsorpcije u probavnom traktu što je omogućeno topljivošću u lipidima, venom prolazi kroz jetru i krvotokom se rasprostranjuje po čitavom tijelu. Rezultat je dobro raspoloženje i euforija, poboljšanje intelektualnog rada, olakšanje primanja vanjskih podražaja te proizvodna mokraćé. Kofein u visokim količinama može uzrokovati nesanicu, nervozu i anksioznost.<sup>3</sup>

Kafein se u liječenju ne koristi samostalno, uglavnom se dodaje analgeticima zbog pojačavanja učinaka pojedinih analgetika te pri liječenju migrene. Količine u takvim pripravcima uglavnom su manje od 100 mg po preporučenoj dozi.<sup>5</sup>

### 2.1.3. Kokain

Metil (1R,2R,3S,5S)-3- (benzoioksi)-8-metil-8-azabicyklo[3.2.1] oktan-2-karboksilat, poznatiji pod nazivom kokain je alkaloid iz lišća južnoameričkog grma koke. Njegova kemijska struktura prikazana je na Slici 3.



Slika 3. Struktura kokaina

Opsežna testiranja provodio je i Freud koji je testirao učinke kokaina na pacijentima i svojoj obitelji, a zahvaljujući njegovim eksperimentima njegov kolega oftalmolog Koller primjenjivao ga je i kao anestetik. Djelovanjem kokaina dolazi do sužavanja žila i smanjenja krvarenja te je iz tog razloga bio prvi odabir pri izvođenju operacija. Danas se kao anestetici umjesto kokaina koriste sigurniji lijekovi.<sup>3</sup>

Kokain jako stimulira središnji živčani sustav. Inhibira unos katekolamina pomoću noradrenalinskih i dopaminskih prijenosnika povećavajući periferne učinke simpatičke živčane aktivnosti. Izaziva i euforiju, pričljivost, zadovoljstvo i povećanu motoričku aktivnost. Povećanjem doze nastaju tremor i konvulzije praćene respiracijskom depresijom. Svi ti učinci su privremeni, a konzumiranje kokaina kroz duži vremenski period može dovesti do gubitka koncentracije, pamćenja i energije uz promijene raspoloženja koje uključuju češću razdražljivost i paranoju.<sup>2,5</sup>

Metaboliti kokaina nakupljaju se u kosi te je moguće iz analize vlasišta pratiti konzumaciju. Kokain spada u jedno od najstarijih poznatih sredstava koje se koristilo u svrhu

dopinga sportaša. U tu svrhu smješta ga se u nespecificirane stimulanse, a prema Popisu zabranjenih sredstava svjetskog antidopinškog kodeksa iz 2022. kokain se smješta pod Tvari zlouporabe pri čemu se podrazumijeva kako se kokain zloupotrijebljava u društvu i izvan sporta.<sup>5,6</sup>

## 2.2. Ekstrakcijske metode

Ekstrakcijska metoda jednu od najčešćih metoda za odvajanje u kemijskoj analizi. To podrazumijeva fizikalno odvajanje faza odnosno razdiobu analita između dviju faza u kontaktu. Svrha svih ekstrakcijskih metoda je izolacija analita nakon koje ga se može identificirati ili odvajanje analita od interferencija.

Ekstrakcija je prijenos tvari iz krute ili tekuće faze u drugu fazu, a pritom analit mora ispunjavati određena svojstva kako bi uspješnost ekstrakcije bila što bolja. Prije svega, analit mora biti bolje topljiv u fazi u koju se odvaja.

Prije odabrane metode za ekstrakciju potrebno je uzorak obraditi i pripremiti za analizu. Ovisno o uzorku, potrebna je dodatna obrada kao što je usitnjavanje, sušenje, prosijavanje i slični postupci koji utječu na učinkovitost ekstrakcije. Loše obrađen uzorak može biti razlog neučinkovite ekstrakcije. Ukoliko uzorci sadrže vodu važan postupak obrade je sušenje raznim sredstvima za sušenje, a odabir ispravnog uključuje poznavanje svojstava i sredstva za sušenje i analita (vlažnost uzorka, hlapljivost...).

### 2.2.1. Ekstrakcije tekuće-tekuće

Ekstrakcija tekuće-tekuće je metoda za odvajanje analita koja se koristi za veliki broj različitih realnih uzoraka. Glavno načelo ove metode temelji se na različitoj topljivosti analita iz uzorka u različitim otapalima koja se međusobno ne miješaju. Ova ekstrakcija metoda primjenjuje se u mnogim industrijama kao što su metalurška, farmaceutska ili petrokemijska. Razlika u topljivosti može se postići promjenom pH vrijednosti ili kemijskim reakcijama.

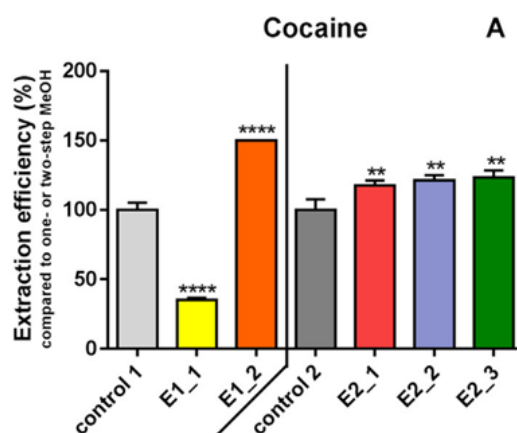
U postupku ekstrakcije tekuće-tekuće jedno otapalo je najčešće voda, a drugo je organsko. Rezultat je dvofazni sustav između dvije otopine koje se ne miješaju. Organska otapala koja se najčešće koriste su benzen, eter, kloroform i acetonitril.<sup>7</sup>

Izbor najboljeg otapala je važan za učinkovitost ekstrakcije, a potrebno je paziti na svojstva kao što su:

- a) polarnost otapala
- b) inertnost otapala – važno je da otapalo ne reagira s drugim otapalom niti željenom supstancijom
- c) vrelište otapala – niže vrelište pridonosi bržem uparavanju zaostalog volumena nakon ekstrakcije
- d) čistoća otapala – pogodno je da otapalo koje koristimo bude upotrebljivo za više ekstrakcija
- e) stabilnost otapala – važno je da je otapalo stabilno i nezapaljivo pri visokim temperaturama te da je stabilno pri izlaganju svjetlosti

Nakon ekstrakcije neke tvari u organsko otapalo, potrebno je organski sloj osušiti zbog mogućnosti da je u postupku ekstrakcije određena količina vode prešla u organski ekstrakt. Za sušenje se koriste sredstva za sušenje, koja ne smiju biti topljiva u organskom otapalu te ne smiju reagirati s otapalom ili analitom. Takve tvari su najčešće bezvodne anorganske soli koje kristaliziraju s molekulama vode te higroskopske tvari koje vežu vodu.

Važnost odabira ispravnog otapala prikazano je u istraživanju Madry i suradnika pri izolaciji različitih psihoaktivnih tvari iz vlasišta. Rezultati učinkovitosti ekstrakcije dobiveni za izolaciju kokaina prikazani su na Slici 4, a korištena otapala prikazana su u Tablici 1.<sup>7</sup>



Slika 4. Ovisnost ekstrakcije kokaina iz vlasišta različitim otapalima. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 7

TABLICA 1. Korištena otapala u ekstrakciji kokaina iz vlasišta različitim otapalima

OZNAKA	KORIŠTENO OTAPALO
E1_1	Acetonitril
E1_2	Acetonitril:voda (1:1 v:v)
E2_1	Metanol-acetonitril-formijatni pufer
E2_2	Metanol-formijatni pufer (1:1 v:v)
E2_3	Metanol-klorovodična kiselina ( $w=1,4\%$ )

Najmanju učinkovitost ekstrakcije je acetonitriplom te se ne preporuča kao otapalo za ekstrakciju kokaina iz vlasišta. U volumnom omjeru 1:1 smjese acetonitrila s vodom učinkovitost ekstrakcije je najveća.<sup>7</sup>

Kokain se ekstrakcijom tekuće-tekuće može ekstrahirati i iz uzoraka urina. Prema istraživanju Yonamine i suradnika, kokain je iz uzoraka mokraće ekstrahirano smjesom etil etera:izopropanola (9:1 v:v). Uzorci su nakon ekstrakcije analizirani metodom plinske kromatografije.<sup>8</sup>

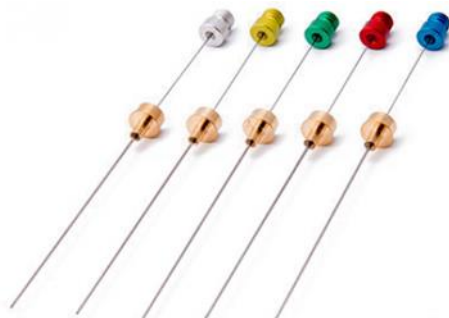
U istraživanjima provedenim na biljci *Rauwolfia serpentina* znanstvenici Deshmukh i suradnici ekstrakcijom tekuće-tekuće ekstrahirali su alkaloidne sa indolnom skupinom te su na njima mogli provoditi daljnja farmakološka ispitivanja uključujući i antimikrobna svojstva te antiproliferativne aktivnosti kao rezultat ekspresije gena.<sup>9</sup>

### 2.2.2. Ekstrakcija na čvrstoj fazi

Ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. *Solid-phase extraction*, SPE) metoda je koja se primjenjuje u izolaciji tvari iz krutina, kao što su to neki prirodni materijali. Temelji se na adsorpciji/absorpciji analita na sorbens koji je smješten u koloni, membrani ili disku, nakon čega slijedi desorpcija ispiranjem odgovarajućim otapalom. Važno je da je sorbens takvog kemijskog sastava da može tvoriti jake interakcije s analitom. Najčešće kao sorbens se koristi silikagel, sorbensi normalne faze (vežu polarne spojeve), sorbensi reverznih faza (sadrže nepolarne funkcionalne skupine na nepolarnom sorbensu te stoga vežu nepolarne spojeve) te sorbensi koji odvajaju analite na temelju ionske izmjene (odvajaju se na temelju različitih kationskih i anionskih iona u sorbensu i analitu).

Ukoliko je sorbens mikrokolona, takva ekstrakcija se naziva mikroekstrakcija na čvrstoj fazi. Temelji se na izolaciji analita iz različitih uzoraka na sorbensu koji je nanešen na vlakno od taljenog silicijevog dioksida bez uporabe organskog otapala. U ovom postupku koristi se šprica za mikroekstrakciju na čvrstoj fazi, a upravo iz tog razloga vrlo je lako pripremiti uzorak za ekstrakciju. Pravilnim skladištenjem i čuvanjem uzorka moguće je provoditi analizu i do

nekoliko dana kasnije. Ova se vrsta ekstrakcije koristi uglavnom u analizi hlapljivih i nestabilnijih spojeva. Šprice korištene u ovoj ekstrakciji prikazane su na Slici 5.



Slika 5. Šprice korištene u postupku mikroekstrakcije

Glavne prednosti ovakve ekstrakcije su da je brza, jednostavna i uglavnom se radi bez otapala, a uspješno može analizirati i do jako niskih detekcijskih granica (ppt)<sup>10</sup>

Efikasnost ekstrakcije na čvrstim nosačima ovisi o fizikalno-kemijskim svojstvima koja ima sorbens, o izboru otapala kojim se eluira analit u što se ubraja polarnost otapala, pH vrijednost, ionska jakost, brzina protoka te topljivost spoja u odabranom otapalu. Kao i u ekstrakciji tekuće-tekuće važno je poznavati svojstva otapala. Osim već spomenutih svojstava da otapalo mora imati niže vrelište te odgovarajuću polarnost, bitno je obratiti pozornost i na viskoznost otapala (učinkovitost ekstrakcije bit će bolja što je viskoznost slabija zbog nižeg tlaka para otopine) i tlak para (što niži da se spriječi gubitak otapala pri određenoj temperaturi). Ukoliko se postupak želi ubrzati, moguće je ekstrakciju provesti uz povišenu temperaturu, tlak, centrifugu ili vakuum. Na taj se način može utjecati na brzinu protoka koja povećava učinkovitost ekstrakcije.

Uz pomoć mikroekstrakcije na čvrstoj fazi Centini je uspješno odvojio amfetamine i njegove metabolite iz uzoraka urina, a sadržaj tvari je određen uz pomoć plinske kromatografije.<sup>11</sup>

Tvar se iz čvrstog materijala mogu izolirati i kuhanjem s otapalom, nakon čega slijedi filtracija, što je dugotrajniji postupak osobito ukoliko se radi o velikom broju uzorka. Iz tog razloga osmišljena je aparatura za kontinuiranu ekstrakciju čvrsto-tekuće, uz Soxhletov ekstraktor prikazan na Slici 6.



Slika 6. Aparatura za ekstrakciju čvrsto-tekuće uz Soxhletov ekstraktor. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 12

Ekstrakcija u Soxhletovom ekstraktoru započinje umetanjem posude sa uzorkom iz kojeg želimo ekstrahirati. Okrugla se tikvica ispuni željenim otapalom i zagrijava pri čemu otapalo isparava, u hladilu se kondenzira i kaplje na posudu u ekstraktoru. U trenutku kada se ekstraktor napuni otapalom do vrha, zakonom spojenih posuda otapalo se prelije ponovno u donju tikvicu te se postupak ponavlja. Prednost ovakvog postupka je da se u ekstrakciji uvijek koristi isto, destilirano i čisto otapalo te da se uvijek koristi onaj volumen otapala koja je dodan na početku.

Korištenjem ovakve aparature uspješno se izolira kofeina čiju su izolaciju opisali Quigley i suradnici.<sup>13</sup> Nakon dva sata zagrijavanja uz povratno hladilo i etanol kao otapalo potrebno je dodatno provesti i nekoliko kemijskih reakcija kako bi izolacija bila dovršena.

Osim izolacije kofeina, Madru i suradnici su metodom ekstrakcije na čvrstoj fazi uspješno izolirali kokain iz krvne plazme. Za potrebe tog istraživanja moralo se sintetizirati sorbens koji je bio na bazi oligonukleotida a koji specifično veže analit. Prednost ovakve izolacije je što se interferirajuće tvari pri izolaciji nisu vezale na spomenuti oligonukleotidni slijed čime su dobiveni točni i pouzdani rezultati.<sup>14</sup>

### 2.2.3. Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom

Ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom (engl. *Ultrasound extraction*, UAE) metoda je u kojoj se koriste zvučni valovi. Ultrazvučni valovi su oni čija je frekvencija iznad 20000 Hz.

Ovaj tip ekstrakcije je brz, jednostavan i ne zahtjeva skupe uređaje. Može se izvoditi i na sobnoj temperaturi što sprječava oksidaciju odnosno razgradnju tvari koje se žele izolirati.



Prednost ove metode također je i što se vrlo lako može spojiti s drugim ekstrakcijskim tehnikama.

Pri ekstrakciji nekog analita u tekućem mediju može doći do fragmentacije uzorka. Do fragmentacije dolazi zbog velikog broja sudara čestica uzorka i udarnih valova što rezultira većom ukupnom površinom uzorka, a posljedično do povećane brzine i učinkovitosti ekstrakcije. Osim fragmentacije, javlja se i erozija uzorka. Objašnjenje erozije leži u imploziji kavitacijskih mjehura na površini uzorka, a koristi se za tzv. čišćenje ili sonokemijske reakcije.

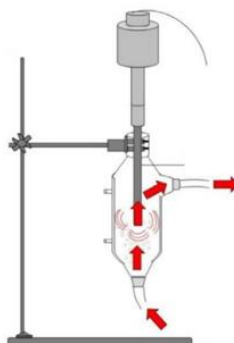
Sonoporacijski efekt primjenjuje se u opisivanju propusnosti staničnih membrana kada se na njoj stvaraju reverzibilne i ireverzibilne pore kavitacijom. Pomoću pora stanični materijal dospijeva u otapalo. Svi navedeni efekti na uzorak djeluju zajedno odnosno ekstrakcija potpomognuta ultrazvukom podrazumijeva sve navedene efekte koji se prilikom takve ekstrakcije javljaju na uzorku. Ultrazvučni kapilarni efekt odnosi se na povećanje brzine i dubine prodiranja tekućine u kanale i pore u zadanim uvjetima ultrazvukom. Iako mehanizam nije u potpunosti objašnjen, smatra se da je upravo ovaj efekt zaslužan za poboljšanu ekstrakciju potpomognutu ultrazvukom u usporedbi s klasičnim metodama.

Na postupak ultrazvučne ekstrakcije mogu utjecati i parametri ultrazvučnog vala kao što su frekvencija, valna duljina i amplituda, a koji primarno utječu na kavitaciju. Najčešće se rabe valovi frekvencije između 20 i 100 kHz. Primjenom viših frekvencija mogu se javiti fizikalne promjene uzorka koje utječu na krajnju izolaciju analita. Također, pri visokim frekvencijama kavitacija mjehurića bila bi usporena, a ona je jedan od važnih čimbenika ekstrakcije potpomognute ultrazvukom. Preniska frekvencija ultrazvuka dovodi do premalog broja kavitacijskih mjehurića, što ponovno dovodi do fizikalnih promjena uzorka.

Ultrazvuk za ovu ekstrakciju primjenjuje se pomoću vrste uređaja (kupke) ili sonde. Oba uređaja kao izvor ultrazvučne snage koriste transdudktor. Ultrazvučna kupka sastoji se od spremnika nehrđajućeg čelika i jednog ili više transdudktora. Primjenom ultrazvuka u tekućinama se povećava temperatura medija te je nužno medij hladiti tijekom postupka ekstrakcije. Bez obzira na to, glavna prednost ove metode je da je brza te omogućuje visoku reproducibilnost rezultata u kraćem vremenu s obzirom na pretpostavku da se većina tvari ekstrahira u prvih 10 minuta.

Ultrazvučne sonde urone su u uzorak čime se smanjuje gubitak energije za razliku od ultrazvučnih kupki koje svoj gubitak imaju na prolasku ultrazvuka kroz stakleno posuđe i vodu. Sonde daju ultrazvuk približne frekvencije 20 kHz. Na slici 7 prikazana je aparatura sa sondom

u kontinuiranom protoku. Aparatura ima stakleni ili čelični spremnik kroz koji se pumpa otopina uzorka pri atmosferskom ili povišenom tlaku.



Slika 7. Aparatura za ekstrakciju potpomognutu ultrazvukom sa sondom u kontinuiranom protoku. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 15

Metoda ekstrakcije potpomognute ultrazvukom primjenjiva je na raznim realnim uzorcima (poput proizvodnje biogoriva, prehrambena industrija), ali i u raznim znanstvenim istraživanjima u kojima se ultrazvukom može djelovati na enzime, osobito peroksidaze i masne kiseline.<sup>15</sup>

Upravo je metodom ekstrakcije potpomognutom ultrazvukom uspješno izoliran nikotin iz gume za žvakanje te transdermalnog flastera u istraživanju Zoua i suradnika. Uzorci su otopljeni u heptanu, ostavljeni u ultrazvučnoj kupci pri 37 °C te su ekstrahirani unutar dvadeset, četrdeset i šezdeset minuta. Dobiveni rezultati prikazani su u Tablici 2.

Tablica 2. Relativna efikasnost ekstrakcije nikotina sa deset mililitara heksana. Preuzeto i prilagođeno iz ref. 16

UZORAK	DULJINA SONIFIKACIJE /min	POSTOTAK UČINKOVITOSTI EKSTRAKCIJE / %
Guma za žvakanje	20	95,9±1,4
	40	98,0±1,2
	60	100,0±0,8
Transdermalni flaster	20	99,9±0,8
	40	100,0±0,6
	60	100,0±0,6

Što su uzorci dulje bili podvrgnuti ultrazvučnim valovima, učinkovitost ekstrakcije (%E) bila je veća. Čak i najdulje vrijeme ekstrakcije skratilo je uobičajen postupak koji inače traje 24 sata na vrijeme ekstrahiranja u trajanju od dvadesetak minuta. Odabrano je optimalno vrijeme ekstrakcije od trideset minuta za transdermalni nikotinski flaster i šezdeset minuta za gumu za žvakanje u svrhu kvantifikacije nikotina u njima metodom plinske kromatografije<sup>16</sup>

Metodom ekstrakcije potpomognute ultrazvukom uspješno je u istraživanju Zhu i suradnika iskorišteno u izolaciji flavonoida iz sjemenki gloga. Eksperiment je proveden u ultrazvučnoj kupci pri 40 W. Temperatura pri kojoj je provedena ekstrakcija je 91 °C, a vrijeme trajanja bilo je 1,5 sati. Ova se ekstrakcija, u usporedbi sa ekstrakcijom tekuće-tekuće, pokazala puno učinkovitija ekstrakcija za izolaciju flavonoida iz sjemenki gloga.<sup>17</sup>

#### 2.2.4. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima

Mikrovalovi su elektromagnetski valovi valne duljine 1-300 nm emitirani od svih toplih objekata, a njihova frekvencija ovisi o temperaturi izvora. Proizvode se pomoću oscilatora ili magnetrona. Magnetron se sastoji od katode oko koje je koncentrično postavljena cilindrična anoda. S unutrašnje strane anode postavljene su rezonantne šupljine.<sup>18</sup>

Mikrovalna energija u kemijskim istraživanjima koristi se i u sintezi i u analizi. Često je primjenjivana metoda s obzirom na neke od svojih prednosti. Jedna od njih je što zagrijavanje mikrovalovima ima selektivan način zagrijavanja, što bi u ekstrakcijskim metodama značilo da gubitka toplinske energije nema. Zagrijavanje mikrovalovima čini se u svrhu da se željena tvar zagrijavanjem ispusti iz uzorka u otapalo. Zagrijavanje mikrovalovima temelji se na dva načela: ionskoj provodljivosti i dipolnoj rotaciji. Ionska provodljivost se odnosi na induciranu elektronsku migraciju „nosača“ naboja pod utjecajem električnog polja koji se javlja zbog djelovanja mikrovalova. Te migracije uzrokuju trenje između iona i medija te to rezultira zagrijavanjem. Rotacija dipola podrazumijeva usklađivanje s izmjeničnim električnim poljem u mediju. Oscilacija dipola dovodi do sudara između njih i molekula koje se nalaze oko dipola te to također dovodi do zagrijavanja. Polarne otopine vrlo dobro apsorbiraju mikrovalno zračenje s obzirom da imaju stalni dipolni moment. Osim ova dva mehanizma zagrijavanja, treba se obratiti pažnja i na koncentraciju uzorka i vrijeme otpuštanje uzorka.

Prilikom odabira otapala važno je obratiti se pozornost:

- a) topljivost željene tvari
- b) interakciji tvari i otapala
- c) dielektričnoj konstanti otapala – veća konstanta znači i veću apsorpciju energije mikrovalova
- d) polarnost otapala – polarna otapala bolje apsorbiraju mikrovalove i povećavaju efikasnost ekstrakcije
- e) temperatura – viša temperatura pridonosi boljoj efikasnosti ekstrakcije zato što povišena temperatura pospješuje difuziju otapala u unutrašnjost uzorka i odvajanje željenih analita
- f) snaga mikrovalova – bitno je da je pravilno određena kako bi se izbjegla previsoka temperatura koja može dovesti do termičkoj raspada uzorka

Prednosti ekstrakcije potpomognute mikrovalovima može se opisati kao olakšano odvajanje analita iz uzorka, skraćeno vrijeme ekstrakcije u odnosu na klasične metode što pridonosi ekonomičnosti postupka. Nedostatak je povišenje temperature sustava što može utjecati na fizikalno-kemijska svojstva uzorka i posljedično, na svojstva željene tvari. Komora u kojoj se izvodi ekstrakcija može se hladiti, no za to je potrebno određeno vrijeme. Nakon ekstrakcije nije moguće odmah ekstrahiranu tvar analizirati, potrebno je primijeniti neku od metoda za razdvajanje: filtriranje, centrifugiranje ili dekantiranje.

Dva su osnovna načela ekstrakcije potpomognute mikrovalovima. Razlikuju se u načinu na koji se energija mikrovalova dovodi na uzorak. U jednofunkcijskom sustavu mikrovalna energija se usmjerava na točno određeni dio. Obično se provodi ekstrakcija u otvorenim sustavima pri atmosferskom tlaku. Ovakva se ekstrakcijska metoda koristi za rutinske analize iz razloga što je lako kontrolirati parametre poput tlaka, temperature ili vremena. Višefunkcijski sustav podrazumijeva energiju mikrovalova raspršenu u komoru s uzorkom, a ekstrakcija se provodi u zatvorenim posudama pri konstantnoj temperaturi i tlaku.<sup>19,20</sup>

Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima je iskorištena za izolaciju kafeina iz praha guarane u istraživanjima Adnadjevica i suradnika. 1 gram praha sjemenki guarane preleven je destiliranom vodom, stavljena u posudu s borosilikatom i tretirana podesivom mikrovalnom snagom (0-300 W) u rasponu temperatura između 40 i 60 °C. U točno određenim vremenskim intervalima uzimani su alikvoti reakcijske smjese, hlađeni su na ledenoj kupki i profiltrirani. Tvari su određene nakon ekstrakcije UV/Vis spektroskopijom.<sup>20</sup>

Iz listova koke, ekstrakcijom potpomognutom mikrovalovima ekstrahiran je kokain i njegov glavni metabolit. Kokain iz lista koke obično ekstrahira ekstrakcijom na čvrstoj fazi, međutim u takvom procesu potrebne su velike količine otapala i vrijeme ekstrakcije nije definirano. Ekstrakcija potpomognuta mikrovalovima je za ovaj proces odabrana kao puno brža metoda. Ekstrakcija je provedena pri atmosferskom tlaku uz mikrovalnu snagu između 25 i 250 W. Uzorak je usitnjen u prah, stavljen u posudu načinjenu od kvarca i preleven metanolom koji se pokazao kao najbolje otapalo za navedenu ekstrakciju.<sup>21</sup>

#### 2.2.5. Elektromembranska ekstrakcija

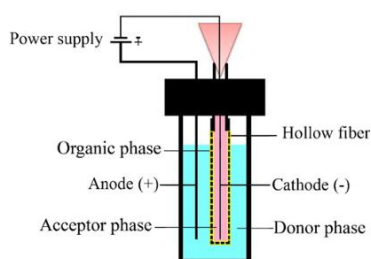
Elektromembranska ekstrakcija je podvrsta mikroekstrakcije na čvrstoj fazi, a razvijena je iz mikroekstrakcije tekuće faze na vlakano primjenom električnog polja preko membrane. Prednosti ovakve ekstrakcije su učinkovita ekstrakcija analita visoke čistoće, te izolacija ionskih komponenata iz složenog uzorka. Ovakva ekstrakcija u svom mehanizmu podrazumijeva uporabu tekuće membrane. Radi se o organskoj tvari kroz čije membranske pore voda ne može prodrijeti. Primjenom električnog polja, nabijeni ioni iz uzorka kreću se prema nabijenim elektrodama koje su smještene u akceptorskoj otopini preko tekuće membrane. U takvim akceptorskim otopinama, ioni ostaju zarobljeni. Ova tehnika je selektivna i jednostavna za provedbu.

Na postupak elektromembranske ekstrakcije utječe nekoliko parametara:

- prijenos mase
- promijena vrijednosti pH – do promijene dolazi pod utjecajem reakcije elektrolize
- stabilnost sustava – do stabilnosti sustava dolazi ukoliko se u akceptorskoj otopini događa zanemariva promjena pH vrijednosti te niske i stabilne struje ekstrakcije (ovisi o svojstvima tekuće membrane)
- tekuća membrana – selektivnost membrane utječe na efikasnost ekstrakcije<sup>20</sup>

Elektromembranska ekstrakcija relativno je novi postupak ekstrakcije, a vrlo se često kombinira s drugim postupcima odvajanja. Postupak je moguće kombinirati sa ekstrakcijom na čvrstoj fazi pri čemu je moguće da se kao katoda koristi jednak materijal koji će služiti kao „čvrsti nosač”. Nakon tog postupka moguće je koristiti druge metode poput plinske kromatografije za određivanje koncentracije analita. Poboljšanje je postignuto i kombinacijom elektromembranske ekstrakcije sa ekstrakcijom tekuće-tekuće. Pri optimalnim uvjetima uspješno su na taj način izdvojene pojedine skupine komponenti lijekova.

Elektromembranskom ekstrakcijom Yamini i suradnici uspješno su izolirali amfetamin iz mokraće. Na Slici 7. prikazana je shema aparature korištena u ovom postupku. Korištene su elektrode od platine, a sustav je bio pod naponom 0-600 V. Tijekom ekstrakcije sustav je miješan brzinom u rasponu 0-1250 min<sup>-1</sup>. Analizi je podvrgnuto šest uzoraka mokraće različitih osoba za koje se sumnjalo da konzumiraju amfetamin te jedan uzorak mokraće osobe koja nije konzumirala amfetamin.



Slika 7. Aparatura korištena za izolaciju amfetamina iz uzoraka urina. Preuzeto iz ref. 23

Uzorci su čuvani na -4 °C, za izolaciju i analizu korišten je 1 ml otopine uzorka, otopljenog u metanolu te čuvanog od utjecaja svjetlosti. Akceptorska otopina u ovom sustavu bila je otopina klorovodične kiseline. Katoda je uvučena u lumen vlakana tekuće membrane, te je ona

naknadno dodana u otopinu uzorka, za razliku od anode koja je izravno uronjena u otopinu uzorka. Ekstrakcijski postupak trajao je sedam minuta, nakon čega je prikupljena otopina akceptorske otopine te se daljnja analiza provela metodom tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti.<sup>23</sup>

#### 2.2.6. Zaključak

Izolacija psihostimulansa moguća je različitim ekstrakcijskim metodama, a odabir željene metode ovisi o fizikalnim i kemijskim svojstvima uzorka i samog analita te o samom postupku ekstrakcije, duljini trajanja procesa i svrsi ekstrakta. Razvojem ekstrakcijskih metoda doprinosi se boljim i kvalitetnijim izolacijskim postupcima kojima se dobivaju ekstrakti s visokom čistoćom koji pridonose u kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi psihostimulansa u različitim područjima istraživanja.

## § 3. LITERATURNI IZVORI

1. ([https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2001\\_12\\_107\\_1756.html](https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2001_12_107_1756.html), n.d.) (datum pristupa 15. lipnja 2022.)
2. (<https://drogeiovisnosti.gov.hr>, n.d.) (datum pristupa: 15. lipnja 2022.)
3. H. P. Rang, M. M. Dale, J. M. Ritter, P. K. Moore, *Farmakologija*, Golden Marketing-tehnička knjiga, Zagreb, 2006.
4. R. Živković, *Kava: droga ili lijek*, Medicinska naklada-Zagreb, 1998.
5. L. Avois, N. Robinson, C. Saudan, N. Baume, P. Mangin, M. Saugy, *Br. J. Sports Med.* **40** (2006) 16-20.
6. *The Prohibited List, World Anti-Doping Agency* ([wada-ama.org](http://wada-ama.org)) (datum pristupa: 16. lipnja 2022.)
7. M. M. Madry, T. Kraemer, M. R. Baumgartner, *Forensic Sci.* **282** (2018) 137-143.
8. M. Yonamine, M. Farina, O. A. Silva, *Forensic Sci* **127** (2002) 204-207.
9. S. R. Deshmukh, D. S. Ashrit, B. A. Patil, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* **4** (2012) 329-334.
10. ([https://en.wikipedia.org/wiki/Solid-phase\\_microextraction#Fiber\\_Coatings](https://en.wikipedia.org/wiki/Solid-phase_microextraction#Fiber_Coatings)) datum pristupa (15. lipnja 2022.)
11. F. Centini, *Forensic Sci.* **83** (1996) 161-166.
12. <https://glossary.periodni.com/glosar.php?hr=Soxhletov+ekstraktor> (datum pristupa: 20. lipnja 2022.)
13. M. N. Quigley, D. J. Adam, J. Mainwaring, *J. Chem. Educ.* (1996) 73, 12
14. B. Madru, *Anal. Chem.* **81** (2009) 7081-7086.
15. F. Chemat, N. Rombaut, A. Sicaire, A. Meullemiestre, A. Fabiano-Tixier, M. Albert-Vian, *Ultrason. Sonochem.* **34** (2017) 540-560.
16. Y. Zugo, *Anal. Chim. Acta* **526** (2004) 35-39.
17. C. Zhu, G. Pan, G. Yu, J. Qiao, *Ultrason. Sonochem.* **19** (2012) 486-490.
18. <https://www.enciklopedija.hr/natuknica.aspx?ID=69508> (datum pristupa: 20. lipnja 2022.)
19. M. Vinatoru, T. J. Mason, I. Calinescu., *Trends Anal. Chem.* (2017)
20. B. Adnadjevic, *Green Process. Synth.* **6** (2017) 555-563.
21. P. Christen, *Phytochem. Anal.* **13** (2002) 162-169.



- 
22. C. Huang, Z. Chen, A. Gjelstad, S. Pedersen-Bjergaard, X. Shen, *Trends Anal. Chem.* (2017) 47-56.
  23. Y. Yamini, S. Seidi, T. Beheri, R. Feizbakhsh, *J. Chromatogr. A* **1218** (2011) 3958–3965.