

Wybrane techniki chromatograficzne w oznaczaniu farmaceutyków w środowisku (cz. II)

Aleksandra Kozarska, Iwona Krzyżewska*

Oznaczanie farmaceutyków w środowisku

Jak już wcześniej wspomniano końcowe oznaczenia związków farmaceutycznych koncentrują się głównie na wykorzystaniu dwóch technik chromatograficznych: chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas (LC-MS) lub tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS) oraz na chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrią mas (GC-MS) lub tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS). W związku z ogromną liczbą dostępnych farmaceutyków, w dalszej części skupiono się na tych najbardziej rozpowszechnionych i najczęściej występujących w środowisku – diklofenak, ibuprofen i naproxen jako przedstawiciele leków przeciwzapalnych i przeciwbólowych oraz trimetoprim i sulfametoksazol jako główne antybiotyki.

a) Techniki chromatograficzne oparte na wykorzystaniu GC-MS

Głównym celem badań przeprowadzonych przez Anne Togola i Hélène Budzinski była optymalizacja metody analitycznej oznaczania związków farmaceutycznych (m.in. diklofenak, ibuprofen,

naproxen, aspiryna, kofeina, ketoprofen) w próbkach wody powierzchniowej i ściekach z wykorzystaniem ekstrakcji SPE oraz analizy GC-MS. Związki o charakterze kwasowym (aspiryna, ibuprofen, diklofenak, naproxen, gemfibrozil i kwas klofibrowy) zostały poddane derywatywacji z użyciem odczynnika MSTFA przed dozowaniem do układu GC-MS. Do analizy związków farmaceutycznych wykorzystano jonizację elektronową (EI) i monitorowanie wybranych jonów (SIM), a rozdział chromatograficzny został zoptymalizowany przy zastosowaniu kolumny kapilarnej pokrytej 5% difenylo-95% dimetylopolisiloksanem. Zastosowano wzorce wewnętrzne pyren oraz 1-hydroksypyren, odpowiednio dla związków o charakterze obojętnym oraz kwaśnym. Dla większości badanych farmaceutyków, odzysk mieścił się w granicach 53 do 99%, zmienność dla całej procedury kształtowała się poniżej 15%, a granica detekcji wyniosła od 0,4 do 2,5 ng/L w zależności od analizowanego związku. W większości badanych wód powierzchniowych, poziomy stężenia kształtowały się w zakresie od 2 do 600 ng/L, w zależności

od pory roku, związku i miejsca pobierania próbek, natomiast stężenia w odpływach z oczyszczalni ścieków były na poziomie 4-3260 ng/L. Metoda zaproponowana i zoptymalizowana przez autorów umożliwia szybką, łatwą i skuteczną analizę próbek wody, zarówno wody powierzchniowej jak i ścieków pod kątem obecności większej ilości związków farmaceutycznych w szerokim zakresie stężeń [27].

Większość badań, mających na celu oznaczanie farmaceutyków w środowisku, skupia się głównie na ich analizie w próbkach wody, w związku z polarnym charakterem większości związków farmaceutycznych oraz głównym sposobem przedostawania się tych substancji do środowiska poprzez odpływy ścieków oczyszczonych do wód powierzchniowych. Pomimo faktu, iż większość farmaceutyków jest rozpuszczalna w wodzie i biodegradowalna, wiele z tych związków charakteryzuje się wysokim współczynnikiem log Kow, dzięki czemu wykazuje wysokie powinowactwo do gleb czy osadów. Piętnaście szeroko rozpowszechnionych związków farmaceutycznych (kwas klo-

fibrowy, ibuprofen, kwas salicylowy, allupurinol, paracetamol, gemfibrozil, fenoprofen, amitryptylina, metoprolol, naproxen, kwas mefenamowy, ketoprofen, karbamazepina, diklofenak, fenofibrat), należących do różnych klas terapeutycznych, zostało oznaczonych w glebach z obszarów rolniczych. Zoptymalizowano metodę opartą na ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami, a końcową analizę prowadzono z wykorzystaniem chromatografii gazowej ze spektrometrią mas (GC-MS). Wszystkie oznaczenia były wykonywane z użyciem jonizacji elektronowej oraz metody SIM, a rozdział związków odbywał się na kolumnie kapilarnej z fazą stacjonarną niepolarną 5% fenylopolisiloksanem. Przed oznaczaniem związków farmaceutycznych w układzie GC-MS zostały one poddane reakcji derywatywacji z wykorzystaniem odczynnika derywatyżującego MTBSTFA z dodatkiem TBDMCS jako katalizatora. Odzyski analitów z próbek gleb, do których przed analizą dodano znane ilości wzorców, kształtujące się na poziomie od 80 do 110% (z wyjątkiem allupurinolu, dla którego odzysk był bliższy 50%), wskazują na wysoką



skuteczność metody analitycznej. Granica wykrywalności dla oznaczanych związków wyniosła od 0,04 do 0,24 ng/g, a granica oznaczalności od 0,14 do 0,65 ng/g. Trzy z piętnastu badanych farmaceutyków nie zostało wykrytych w próbkach, natomiast metoprolol został wykryty lecz nie mógł zostać oznaczony. Stężenia pozostałych związków nie przekraczały wartości 47 ng/g. Kwas salicylowy obserwowany był we wszystkich próbkach, również częstotliwość wykrywania ibuprofenu i paracetamolu była wysoka, co wyjaśnić można najwyższą konsumpcją tego rodzaju farmaceutyków przez społeczeństwo. Ibuprofen charakteryzował się względnie małym stężeniem we wszystkich próbkach analizowanej gleby (<1,5 ng/g) w związku z niską adsorpcją tego związku przez glebę i wysoką biodegradowalnością. Pomimo stosunkowo niskich stężeń analizowanych związków farmaceutycznych w środowisku, systematyczne uwalnianie i ciągła ekspozycja na powyższe substancje, wymagają stałego prowadzenia monitoringu poziomu ich stężeń w celu niedopuszczenia do pojawienia się niekorzystnych efektów dla życia wodnego lub potencjalnego zagrożenia dla zdrowia ludzkiego [22].

b) Techniki chromatograficzne oparte na wykorzystaniu LC-MS lub LC-MS/MS

Metody o wysokiej czułości są wymagane do oznaczania związków farmaceutycznych, występujących standardowo w bardzo niskich stężeniach

w matrycach środowiskowych. Obecnie najczęściej stosowaną techniką oznaczania farmaceutyków w próbkach środowiskowych jest sprzężenie UHPLC z tandemową spektrometrią mas MS/MS. Większość metod rozwijanych obecnie dąży do symultanicznego oznaczania związków z wielu grup farmaceutycznych, w związku z faktem, iż duża liczba rozmaitych związków farmaceutycznych jest wykrywana podczas monitoringu środowiska. Oczywiście, tego rodzaju metody dostarczają zdecydowanie więcej informacji na temat występowania farmaceutyków w porównaniu z analizą jednej grupy farmaceutycznej, nie wspominając o zredukowaniu czasu analizy i jej kosztów. Jakkolwiek, rozwój tych metod wymaga podjęcia kompromisu w wyborze warunków eksperymentalnych (w separacji LC, detekcji MS czy na etapie przygotowania próbki). Wstępnie, w celu poprawienia rozdzielczości i zminimalizowania niepożądanego zjawiska koelucji pików, warunki chromatograficzne LC powinny być zoptymalizowane. Następnie w celu otrzymania satysfakcjonującego kształtu piku dla wszystkich analizowanych związków, należy wyregulować czułość względem wybranego minimalnego czasu pomiaru, tzw. „dwell time”. W tym celu, metoda MS/MS jest zazwyczaj dzielona na poszczególne okna do identyfikacji pików, które zawierają różne przejścia monitorowanych reakcji fragmentacji (SRM) z odpowiednimi minimalnymi cza-

sami pomiaru „dwell time”. Aktualnie, można zauważyć zmiany w technikach MS/MS, ponieważ obecnie produkowane urządzenia z potrójnym kwadrupolem pozwalają na ustawienie minimalnego czasu pomiaru na tak niskim poziomie jak 0,001 s bez wpływu metody na czułość. Ponadto, nowe oprogramowania ułatwiają znacznie to zadanie, automatycznie wybierając najbardziej odpowiedni „dwell time” dla każdego związku. Zastosowana procedura powinna zapewnić efektywną, satysfakcjonującą wartość odzysku wszystkich wybranych związków. Jednak ze względu na różne właściwości fizykochemiczne analitów z różnych grup farmaceutycznych ten aspekt może być również problematyczny [25].

47 farmaceutyków (m.in. środki przeciwbólowe i przeciwciepłotne, antybiotyki, antydepresanty itp.), które należą do najbardziej reprezentatywnych grup terapeutycznych, zostało oznaczonych symultanicznie z wykorzystaniem UHPLC-MS/MS w próbkach wody powierzchniowej i ścieków. Powyższa metoda pozwala na ekstrakcję wszystkich analitów w trakcie pojedynczego etapu SPE. Analizy wykonywano z wykorzystaniem spektrometru mas typu potrójny kwadrupol z ortogonalnym źródłem typu elektrosprej (ESI), a separacji dokonano na kolumnie 100 mm x 2,1; 1,8 μ m. Badane związki należą do różnych grup chemicznych i charakteryzują się odmienną jonizacją. Większość z nich (38 z 47) jest oznaczana metodą pozytywną jonizacji, pozostaje 9 metodą negatywnej

jonizacji. Do symultanicznego chromatograficznego rozdzielania analitów zjonizowanych pozytywnie i negatywnie, użyto fazy ruchomej zawierającej zarówno 0,1 mM NH_4Ac jak i 0,01% HCOOH . Szczególną uwagę poświęcono poprawnemu oznaczeniu ilościowemu analitów, które stwarza wiele problemów, szczególnie w ściekach, w związku z obecnością związków, które są ekstrahowane łącznie z analizowanymi i mogą powodować powstawanie dotkliwego efektu matrycy. 12 wzorców wewnętrznych znakowanych izotopowo zostało użytych w celu skorygowania niepożądanych efektów oznaczania 47 wybranych farmaceutyków w ściekach oczyszczonych. Stwierdzono, iż prawidłowa korekcja we wszystkich próbkach jest możliwa jedynie wtedy, gdy dany wzorzec wewnętrzny znacząco izotopowo jest używany tylko i wyłącznie dla odpowiadającego mu analitu. Wartości odzysków, otrzymane na podstawie przeprowadzenia analiz wód powierzchniowych i ścieków z dodanymi do nich znanymi ilościami wzorców badanych farmaceutyków, są uznawane za satysfakcjonujące i mieszczą się w zakresie od 70 do 120% [25].

Metoda analityczna symultanicznego oznaczania 25 wybranych farmaceutyków (m.in. antybiotyki-ampicylina, amoksylicyna, sulfametoksazol, trimetoprim, erytromycyna, azytromycyna; benzodiazepiny – diazepam, bromazepam, lorazepam; związki antyepileptyczne – karbamazepina;

analgo-antypiretyk – diklofenak), metabolitów, pestycydów, należących do rozmaitych klas chemicznych w próbkach osadów rzecznych i odpowiadających im wodach powierzchniowych i gruntowych, została opracowana w celu monitorowania poziomu zanieczyszczeń w środowisku. Ekstrakcja do fazy stałej (SPE) została zastosowana dla próbek wody, natomiast ekstrakcję wspomaganą ultradźwiękami użyto dla osadów rzecznych, przy czym końcową analizę przeprowadzono, wykorzystując technikę LC-MS/MS. Do rozdzielania chromatograficznego związków farmaceutycznych zastosowano kolumnę C18 o parametrach 75 mm x 4,6 mm (średnica wewnętrzna) i wielkościach cząstek 3,5 µm z przedkolumną. Podczas analiz LC-MS² (kwadrupolowa pułapka jonowa) farmaceutyków i pestycydów w trybie pozytywnej jonizacji elektrospej (+ESI), faza ruchoma składała się z mieszaniny metanolu, wody dejonizowanej i 10% kwasu octowego. W celu ilościowego oznaczenia, dla każdego analitu, w monitorowanych reakcjach fragmentacji (SRM) określono jon macierzysty, optymalną energię kolizji oraz jon fragmentacyjny o wysokiej intensywności sygnału. Dodatkowa reakcja fragmentacji została wybrana w celu potwierdzenia obecności związku. Fragmentacja cząsteczki sprotonowanej ($[M+H]^+$) w stosunku do jonu fragmentacyjnego o najwyższej intensywności została wykorzystana w większości przypadków do identyfikacji

i ilościowego oznaczenia farmaceutyków i pestycydów. Wyjątkiem są amoksycylina i ampicylina, gdzie jonem macierzystym był sprotonowany addukt z metanolem ($[M+CH_3OH+H]^+$) oraz tebufenozyd, w przypadku którym wybrano addukt z sodem ($[M+Na]^+$). Większość analitów została wyekstrahowana z próbek wody z wysokim odzyskiem. Wyjątkiem była erytromycyna z oznaczonymi odzyskami w zakresie od 48 do 62%. Ponadto amoksycylina i ampicylina wykazywała niską wydajność ekstrakcji (<60%) w niższych zakresach stężeń, natomiast na wyższych poziomach dodawanych wzorców odzyski kształtowały się powyżej 70%. Niskie wartości granicy wykrywalności (1-5 ng/L) i oznaczalności (3-17 ng/L) zostały osiągnięte przy zastosowaniu powyższej metody dla wszystkich badanych związków w próbkach wody. Ekstrakcja ampicyliny, amoksycyliny i azitromycyny nie mogła zostać przeprowadzona dla próbek osadów rzecznych, prawdopodobnie z powodu ich degradacji czy nieodwracalnego wiązania z osadem rzeczonym. Niskie odzyski zostały zaobserwowane w przypadku ekstrakcji lorazepamu (10-18%) i diazepamu (32-44%). Dla pozostałych analitów wartości odzysków generalnie były wyższe niż 70%. Oznaczona granica wykrywalności na poziomie 1-3 ng/g oraz oznaczalności (3-10 ng/g) wybranych analitów w próbkach osadów rzecznych była niska. Ta metoda została wykorzystana do monitorowania poziomów

zanieczyszczeń w wybranych rzekach na terenie Serbii, w trakcie których 60% badanych związków zostało wykrytych w próbkach środowiskowych [28].

Chociaż głównym źródłem przedostawania się farmaceutyków i związków narkotycznych do środowiska są odpływy z oczyszczalni ścieków, należy wziąć pod uwagę niewielką lecz niezwykle istotną frakcję tych substancji, która zostaje zatrzymana w osadach ściekowych i może zostać uwolniona do środowiska np. w przypadku zastosowania osadów do nawożenia w rolnictwie. Wybrane związki należące do różnych klas farmaceutycznych, tj. antybiotyki, środki przeciwpalne i przeciwbólowe, antyepileptyczne, benzodiazepiny, substancje przeciwpyszotyczne, antydepresanty, a także narkotyki, łącznie 148 związków, zostało oznaczonych w osadach ściekowych z wykorzystaniem ekstrakcji wspomaganą ultradźwiękami bez późniejszego etapu oczyszczania próbki i techniki LC-MS/MS. Powstający w procesach oczyszczania ścieków osad ściekowy poddawany był w badaniach procesom napowietrzania i odwadniania (bez procesu fermentacji tlenowej). Oznaczenia wyżej wymienionych związków wykonywano z użyciem techniki UHPLC z tandemową spektrometrią mas (potrójny kwadrupol), pracującą zarówno w trybie pozytywnej jak i negatywnej jonizacji ESI. Rozdział chromatograficzny został przeprowadzony na kolumnie C18 o parametrach 100 x

2,1 mm i wielkościach cząstek 3 µm, a faza ruchoma dla jonizacji pozytywnej zawierała mieszaninę wody (0,01% FA) i metanolu, natomiast dla negatywnej jonizacji mieszaninę wody (1 mmol/L mrówczanu amonu), metanolu i acetonitrylu (w stałych proporcjach 5%). Identyfikacja i analiza ilościowa była określana w trybie monitorowanych reakcji fragmentacji (SRM), rejestrującym przejścia pomiędzy jonem pierwotnym i dwoma jonami wtórnymi o najwyższej intensywności, dla każdego badanego analitu, dzięki temu uzyskując cztery punkty identyfikacyjne dla każdego związku. Granica wykrywalności została ustalona na poziomie poniżej 10 ng/g dla 91% analitów, a całkowity odzysk wyniósł 50-110% dla większości (77%) badanych związków, natomiast w zakresie 80-110% dla 41% analitów. Tylko dla 10 z 148 badanych związków obserwowano odzyski niższe niż 30%. Te substancje charakteryzowały się najsilniejszymi właściwościami lipoofilowymi, na co wskazywały ich wysokie wartości log Kow (Kow = współczynnik podziału oktanol-woda) na poziomie powyżej czterech (m.in. chlorpromazyne, kломipramin, gemfibrozil), w konsekwencji czego obserwuje się znacznie niższe wartości odzysków tego typu analitów z badanej próbki. Biorąc pod uwagę fakt, iż powyższa metoda miała na celu wykonanie analiz większej ilości związków o szerokich zakresach właściwości fizykochemicznych, powyższe rezultaty mogą być uznane za satysfakcjonujące. Podczas



analiz pięciu różnych próbek osadów ściekowych z różnych oczyszczalni ścieków na wyspie Santorini oznaczono 36 związków – niektóre na poziomie stężeń powyżej 100 ng/g suchej masy. Częstotliwość detekcji i średnie stężenia były szczególnie wysokie dla większości związków lipofilowych (np. dla amitryptyliny i sertraliny) [29].

Skutki obecności leków w środowisku

Obecność leków w środowisku jest wynikiem działalności antropologicznej, wzrostu tempa życia oraz rosnącej populacji. Nie każdy lek jest metabolizowany w 100%, najczęściej są to struktury trwale chemicznie, które ulegają biodegradacji bądź biotransformacji przez mikroorganizmy bakteryjne i grzyby. Jednak dla wielu organizmów wodnych, obecność leków lub ich metabolitów stanowi zagrożenie [1, 7]. Niezmetabolizowane farmaceutyki zostają akumulowane w osadach dennych lub osadach ściekowych i stamtąd przedostają się do wód gruntowych i powierzchniowych. Farmaceutyki wpływają również negatywnie na procesy nityfikacji i denityfikacji bakterii obecnych na oczyszczalni ścieków oraz prowadzą do zjawiska lekooporności [17]. Proces oczyszczania ścieków z farmaceutyków w oczyszczalni ścieków nie jest skuteczny w 100% dla każdego leku. Dla porównania, proces usuwania w przypadku ibuprofenu wynosi 99%, paracetamolu w 100%, ketoprofenu w 98% ale diklofenaku już

tylko 20÷30%, karbamazepiny w 7÷8%, a sulfonamidów w 70÷85% [3]. W 2003 roku w Polsce konsumpcja niesteroidowych leków przeciwnowotworowych wynosiła: ibuprofenu 79 325 kg, naproksenu 40 165 kg, diklofenaku 21 453 kg [3]. Jak wspomniano wcześniej farmaceutyki i ich metabolity powodują toksyczność organizmów wodnych.

Najniższe stężenie ibuprofenu dla organizmów *Daphnia magna*, przy którym obserwowano organiczenie przeżywalności wynosiło 8 mg/L, natomiast zahamowanie wzrostu populacji tych organizmów było obserwowane przy stężeniu ibuprofenu o wartości 2 mg/L. Toksyczne zmiany obserwowano przy stężeniu ibuprofenu o wartości 10,8 mg/L przy użyciu tych organizmów (EC₅₀ statystycznie obliczone stężenie, przy którym obserwowane są toksyczne zmiany dla 50% badanych organizmów) oraz 18,5 mg/L dla organizmów *Lemna minor*. Natomiast zahamowanie procesów rozrodczych obserwowano już przy stężeniu 0,4 mg/L u tych samych organizmów. Testy toksyczności wykonywane przy wykorzystaniu skorupiaków *Thamnocephalus platyurus* oraz ślimaków wodnych *Planorbis carinatus*, wykazały śmierć połowy populacji tych organizmów przy stężeniach tego leku wynoszących odpowiednio 1,96 mg/L i 1,71 mg/L. Ibuprofen w obecności innych leków niesteroidowych (naproksenu i diklofenaku) wykazuje silniejsze efekty toksyczne [7, 30].

Naproksen wykazywał również właściwości toksyczne podczas badań nad organizmami *Daphnia magna* i glonów. Wartości EC₅₀ wynosiły 166,3 oraz 625,5 mg/L odpowiednio dla *Daphnia magna* oraz glonów [5]. Cyjanobakterie natomiast wykazują większą wrażliwość na naproksen, w porównaniu do *Daphnia magna* czy glonów, w środowisku wodnym. Toksyczną dawką dla cyjanobakterii było stężenie 12,3 mg/L tego leku [7]. Najsilniejsze właściwości toksyczne spośród wszystkich niesteroidowych leków przeciwnowotworowych wykazuje diklofenak [19]. Dawka 100 mg/L diklofenaku dla pstrąga tęczy powoduje nieodwracalne, patologiczne zmiany w nerkach i skrzelach [17]. Ostra toksyczność diklofenaku dla fitoplanktonu i zooplanktonu wynosiła odpowiednio 1450 i 2243 mg/L [7]. Testy toksyczności względem organizmów *Lemna minor* diklofenaku wykazały toksyczność dla połowy populacji przy dawce 148 mg/L (EC₅₀ 168h). Natomiast dla organizmów *Daphnia magna*, toksyczne zmiany były widoczne przy stężeniu 100 mg/L diklofenaku [30].

Antybiotyki podobnie jak niesteroidowe leki przeciwnowotworowe, również charakteryzują się toksycznością względem organizmów wodnych. Akumulowane, trafiają finalnie do wód gruntowych i powierzchniowych a nawet do wód pitnych. Ponadto, coraz częściej obserwowane są zjawiska antybiotykooporności u mikroorganizmów bakteryjnych. Wśród najbardziej

popularnych antybiotyków obecnych w wodach znajduje się sulfametoksazol i trimetoprim. Testy toksyczności (EC₅₀) wykonane dla sulfametoksazolu przy wykorzystaniu organizmów bakteryjnych *Vibrio fischeri* obrazowały toksyczne zmiany przy stężeniach od 23,3 do 93 mg/L (przy różnych czasach ekspozycji na ten lek), oraz dla trimetoprimu dla tych samych organizmów (EC₅₀ 15 min) przy stężeniu 176,7 mg/L. Względem organizmów wodnych *Daphnia magna*, dawka śmiertelna dla połowy populacji (LC₅₀ 48h) wynosiła powyżej 100 mg/L sulfametoksazolu. Przy stężeniu trimetoprimu od 92 do 167,4 mg/L dla organizmów *Daphnia magna* obserwowano toksyczne zmiany EC₅₀ (48h). Stężenia sulfametoksazolu były natomiast wyższe i wynosiły od 123,1 do 205,2 mg/L (EC₅₀ 48h) dla tych samych organizmów [6].

Badania nad toksycznością leków w środowisku wodnym wobec organizmów bakteryjnych, glonów oraz bezkręgowców, wskazują na rosnące zagrożenie oraz poważne skutki dla ekosystemu. Podstawowe procesy oczyszczania ścieków, obecne na oczyszczalniach są niewystarczające, dlatego konieczne jest poszukiwanie nowych metod oczyszczania i usuwania farmaceutyków ze środowiska. Dużą skutecznością cieszą się metody ozonowania, chlorowania, naświetlania promieniami UV [24] oraz cieszące się coraz większą popularnością metody zaawansowanego utleniania, tzw. AOPs (Advanced Oxidation Processes) [6].

Wnioski

Obecność farmaceutyków w środowisku wiąże się z zagrożeniem dla organizmów żywych, bowiem metabolity leków oraz ich pierwotne formy powodują często nieodwracalne, toksyczne zmiany. Brak regulacji dotyczących monitoringu środowiska pod względem występujących leków oraz brak wystarczającej wiedzy na temat losu farmaceutyków w środowisku powoduje rosnące zagrożenie. Najczęściej występującymi farmaceutykami w środowisku są leki dostępne bez recepty (OTC – over the counter) i antybiotyki. Wzrost populacji, rozwój nowych chorób oraz poszukiwanie nowych struktur chemicznych generują coraz większe ilości tych związków w środowisku. Leki trafiające do kanalizacji, przedostają się do oczyszczalni ścieków, gdzie procesy oczyszczania zawiodą. Stamtąd farmaceutyki wędrują do wód powierzchniowych, gruntowych i pitnych. W celu oznaczenia ilości farmaceutyków w środowisku wodnym stosuje się zaawansowane techniki chromatograficzne, w szczególności wysokosprawną chromatografię cieczową ze spektrometrią mas (HPLC-MS lub HPLC-MS/MS), którą stosuje się w oznaczaniu polarnych i rozpuszczalnych w wodzie związków chemicznych oraz gazową chromatografię ze spektrometrią mas (GC-MS lub GC-MS/MS) wykorzystywaną w oznaczaniu bardziej lotnych związków. Obie metody chromatograficzne mają swoje plusy i minusy. Istotną zaletą LC-MS

jest duże uproszczenie etapu przygotowania próbek oraz możliwość automatyzacji. Natomiast wadami tej metody są duże koszty analizy i możliwość występowania interferencji analitów ze składem matrycy. Przemawiającym argumentem za użyciem metody GC-MS jest mniejszy koszt analizy oraz mniejsze ilości używanych rozpuszczalników. Natomiast najbardziej pracochłonną czynnością w tej metodzie jest konieczność przeprowadzania derywatywacji w oznaczaniu tego rodzaju związków. Niesteroidowe leki przeciwzapalne (ibuprofen, diklofenak i naproksen) oznaczane są w doniesieniach literaturowych za pomocą metod LC-MS oraz GC-MS, natomiast sulfametoksazol i trimetoprim tylko za pomocą metody LC-MS.

Literatura

[1] Marchlewicz A., Gusik U., Wojcieszńska D. Over-the-Counter Monocyclic Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs in Environment-Sources, Risks, Biodegradation. *Water Air and Soil Pollution* 2015, 226-355.
 [2] Koszowska A., Ebisz M., Krzyśko-Łupicka T. Obecność farmaceutyków i środków kosmetycznych w środowisku wodnym jako nowy problem zdrowia środowiskowego. *Medycyna Środowiskowa - Environmental Medicine* 2015, 18(1), 62-69.
 [3] Szymonik A., Lach J. Zagrożenie środowiska wodnego obecnością środków farmaceutycznych. *Inżynieria i Ochrona Środowiska* 2012, 15(3), 249-263.

[4] http://wyborcza.pl/1,75400,13249330,Lykamy_dwa_miliardy_tabletek_przeciwbolowych.html?disableRedirects=true
 [5] Cleuvers M. Mixture toxicity of the anti-inflammatory drugs diclofenac, ibuprofen, naproxen, and acetylsalicylic acid. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2004, 59, 309-315.
 [6] Marciocha D., Raszka A., Kalka J., Surmacz-Górka J. Leki w środowisku. Sulfametoksazol i trimetoprim jako jedne z najczęściej wykrywanych chemioterapeutyków w środowisku wodnym. *Polska Inżynieria Środowiska pięć lat po wstąpieniu do Unii Europejskiej*. T. 3. Pod red. M. Dudzińskiej, L. Pawłowskiego. Lublin: Polska Akademia Nauk. Komitet Inżynierii Środowiska, 2009, s. 145-156, bibliogr. (Monografie; Polska Akademia Nauk. Komitet Inżynierii Środowiska nr 60).
 [7] Marchlewicz A., Gusik U., Wojcieszńska D. Właściwości, występowanie i biodegradacja ibuprofenu w środowisku wodnym. *Ochrona środowiska* 2015, 37(1), 65-70.
 [8] Zajac M., Pawełczyk E. *Chemia Leków*. Wydawnictwo UM Poznań. Poznań 2000. Wydanie 1.
 [9] Wojcieszńska D., Domaradzka D., Hupert-Kocurek K., Guzik U. Bacterial degradation of naproxene Undisclosed pollutant in the environment. *Journal of Environmental Management* 2014, 145, 157-161.
 [10] Domaradzka D., Guzik U., Wojcieszńska D. Biodegradation and biotransformation of polycyclic non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Rev*

Environ Sci Biotechnol DOI 10.1007/s11157-015-9364-8.
 [11] link [www](http://www.springer.com/978-3-642-18401-7) (dostęp na dzień 10.01.2016r.) <http://www.springer.com/978-3-642-18401-7> The Daschner Guide to In-Hospital Antibiotic Therapy. European Standards. Frank U., Tacconelli E. 2012, 300, 20. ISBN 978-3-642-18401-7.
 [12] Niu J., Zhang L., Li Y., Zhao J., Lv S., Xiao K. Effects of environmental factors on sulfamethoxazole photodegradation under simulated sunlight irradiation: Kinetics and mechanism. *Journal of Environmental Sciences* 2013, 25(6), 1098-1106.
 [13] Johnson A.C., Keller V., Dumont E., Sumpter J.P. Assessing the concentrations and risks of toxicity from the antibiotics ciprofloxacin, sulfamethoxazole, trimethoprim and erythromycin in European rivers. *Science of the Total Environment* 2015, 511, 747-755.
 [14] Li Z.H., Randak T. Residual pharmaceutically active compounds (PhAc) in aquatic environment – status, toxicity and kinetics: a review. *Veterinarni Medicina* 2009 52(7), 295-314
 [15] Jones O.A.H., Voulvoulis N., Lester J.N. Potential impact of pharmaceuticals on environmental health. *Bulletin of the World Health Organization* 2003, 81(10), 768-769.
 [16] Christen V., Hickmann S., Rechenberg B., Fent K. Highly active human pharmaceuticals in aquatic systems: A concept for their identification based on their mode of action. *Aquatic Toxicology* 2010, 96, 167-181.
 [17] Boroń M., Pawlas K. Farmaceutyki w środowisku



wodnym – przegląd literatury. *Probl Hig Epidemiol* 2015, 96(2), 357-363.

[18] Sui Q., Cao X., Lu S., Zhao W., Qiu Z., Yu G. Occurrence, sources and fate of pharmaceuticals and personal care products in the groundwater: A review. *Emerging Contaminants*. 2015, 1(1), 14-24.

[19] Fent K., Weston A.A., Caminada D. Ecotoxicology of human pharmaceuticals. *Aquatic Toxicology* 2006, 76, 123-159.

[20] Petrie B., Barden R., Kasprzyk-Hordern B. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Research* 2015, 72, 3-27.

[21] Dębska J., Kot-Wasik A., Namieśnik J. Pozostałości środków farmaceutycznych w środowisku – przemiany, stężenia, oznaczanie. *Chem. Inż. Ekol.* 2003, 10, 724-750.

[22] Aznar R., Sánchez-Brunete C., Albero B., Rodríguez A.J., Tadeo L.J. Occurrence and analysis of selected pharmaceutical compounds in soil from Spanish agricultural fields. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2014, 21:4772-4782.

[23] *Pharmaceuticals in Drinking-Water*, WHO/HSE/WSH/11.05, 2011, Genewa.

[24] Kumirska J. AUTOREFERAT Omówienie cyklu publikacji pt. Rozwój metod analitycznych i badanie sposobów rozprzestrzeniania się wybranych farmaceutyków w środowisku. Wydział Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2014.

[25] Gracia-Lor E., Sancho V.J., Hernández F. Multi-class determination of around 50 pharmaceuticals, including 26 antibiotics, in environmental and wastewater samples by ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 2011, 1218, 2264-2275.

[26] Namieśnik J., Jamrógiwicz Z., Pilarczyk M., Torres L. Przygotowanie próbek środowiskowych do analizy. WNT. Warszawa 2000.

[27] Togola A., Budzinski H. Analytical development for analysis of pharmaceuticals in water samples by SPE an GC-MS. *Analytical and bio-analytical chemistry* 2007, 388:627-635.

[28] Radović T., Grujić S., Petković A., Dimkić M., Laušević M. Determination of pharmaceuticals and pesticides in river sediments and corresponding surface and ground water in the Danube River and tributaries in Serbia. *Environ. Monit. Assess.* 2015, 187:4092.

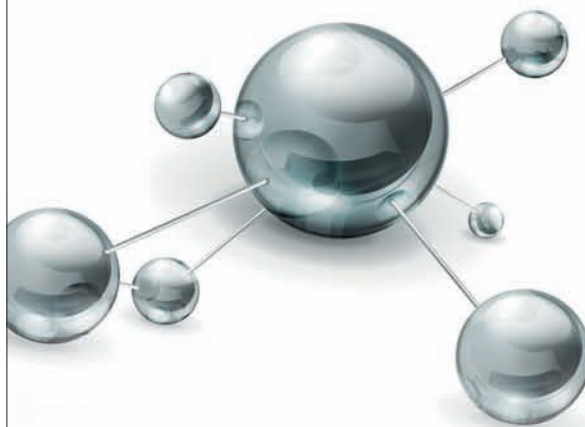
[29] Gago-Ferrero P., Borova V., Dasenaki E.M., Thomaidis S.N. Simultaneous determination of 148 pharmaceuticals and illicit drugs in sewage sludge based on ultrasound-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Bional. Chem.* 2015, 407:4287-4297.

[30] Kaza M., Nałęcz-Jawecki G., Sawicki J. The toxicity of selected pharmaceuticals to the aquatic plant *Lemna minor*. *Fresenius Environmental Bulletin* 2007, 16(5), 524-531.

* aleksandrakozarska@o2.pl; iwonakrzyzewska@o2.pl

WZORCE ANALITYCZNE

ISO 17025 i ISO GUIDE 34



PESTYCYDY, HERBICYDY
NEONIKOTENOIDY
WWA, LZO
PCB, PBDE, CFR, PFR, BFR
CHZT, BZT, TOC, TIC
PRZEWODNOŚĆ, BARWA, MĘTNOŚĆ

BOGATA OFERTA
SUBSTANCJE CZYSTE
ROZTWORY, MIESZANINY
CERTYFIKOWANE MATERIAŁY
REFERENCYJNE

**RÓŻNORODNE METODY
ANALITYCZNE**
IC, UV-VIS, GC, HPLC,
KOLORYMETRIA
ICP, ICP-MS, ASA

BADANIA BIEGŁOŚCI
RUNDY MIESIĘCZNE I KWARTALNE
QUICK RESPONSE – raport w 2 dni!

TH TUSNOVICS
INSTRUMENTS

www.tusnovics.pl
tel. 12 633 13 54
office@tusnovics.pl

WZORCE – CRM – PT ANALIZA ŚRODOWISKA