



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**



**ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΔΙΑΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΑΚΟ ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

«ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ – ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ»

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Συγκριτική Κινητική Μελέτη Ιονανταλλαγής νατρίου-καλίου
με ρητίνη νατρίουχο σουλφονικό πολυστυρένιο σε
φαρμακευτικά σκευάσματα με ιοντική χρωματογραφία**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ - ΑΡΓΥΡΙΟΣ ΣΚΑΝΔΑΛΗΣ
ΧΗΜΙΚΟΣ**

ΑΘΗΝΑ

ΦΕΒΡΟΥΑΡΙΟΣ 2020

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Συγκριτική Κινητική Μελέτη Ιονανταλλαγής νατρίου-καλίου με ρητίνη νατριούχο σουλφονικό πολυστυρένιο σε φαρμακευτικά σκευάσματα με ιοντική χρωματογραφία

ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ - ΑΡΓΥΡΙΟΣ ΣΚΑΝΔΑΛΗΣ

A.M.: 131304

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:

Μιχαήλ Κουππάρης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Νικόλαος Θωμαΐδης, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Αναστάσιος Οικονόμου, Καθηγητής ΕΚΠΑ

Χρήστος Κόκκινος, Επίκουρος Καθηγητής ΕΚΠΑ

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ ΕΞΕΤΑΣΗΣ 04/02/2020

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σε αυτή τη εργασία ειδίκευσης μελετήθηκε η κινητική ιονανταλλαγής νατρίου-καρηνίνης ενός αντίγραφου φαρμακευτικού σκευάσματος και ενός πρωτότυπου Kayexalate, με σκοπό την απόδειξη κινητικής ισοδυναμίας σε μια μελέτη “in vitro bio waiver”. Η δραστική φαρμακευτική ουσία νατριούχο σουλφονικό πολυστυρένιο (SPS) έχει σκοπό τη δέσμευση καλίου από τον οργανισμό ασθενούς σε περιπτώσεις υπερκαλιαιμίας. Η υπερκαλιαιμία είναι μία πάθηση κατά την οποία η ποσότητα καλίου στον οργανισμό είναι άνω του φυσιολογικού. Έγιναν μελέτες ιονανταλλαγής με συγκεκριμένη ποσότητα κάθε σκευάσματος και μετρήθηκε η ικανότητα δέσμευσης καλίου σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων, σε τρία pH και οχτώ χρονικά σημεία, με την τεχνική της ιοντικής χρωματογραφίας. Επίσης μελετήθηκε η ανασταλτική επίδραση της παρουσίας ασβεστίου σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων. Ακολούθησε επεξεργασία των παραμέτρων και αποδείχθηκε κινητική ισοδυναμία.

ΘΕΜΑΤΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ: Αναλυτική Χημεία, Φαρμακευτική Ανάλυση

ΛΕΞΕΙΣ ΚΛΕΙΔΙΑ: νατριούχο σουλφονικό πολυστυρένιο, ιονανταλλαγή νατρίου-καλίου, κινητική μελέτη, βιοϊσοδυναμία, ιοντική χρωματογραφία, υπερκαλιαιμία,

ABSTRACT

In this MSc Thesis, the kinetic part of an in vitro biowaiver study was performed. Biowaiver study was justified since the API is not absorbed in the systemic circulation. The study was between a medicinal product under Market Authorization Application and an already marketed product, used as reference. Both medicines have same indication which is hyperkalemaea, where potassium level in the human body is above normal. The mechanism for both products is to attach the extra potassium in the body, particularly in the large intestine, so it can be removed from the body in the stool. The study was performed under a protocol which dictated that solutions, from both investigational and reference product, were to be prepared and the efficacy of potassium bonding was investigated in 2 concentration levels, of potassium solution, in 3 different pH and in 8 time points. The analytical technique used was Ion Chromatography.

SUBJECT AREA: Analytical Chemistry, Pharmaceutical Analysis

KEYWORDS: Sodium polystyrene sulfonate, sodium-potassium exchange, kinetic study, bioequivalence, ion chromatography, hyperkalemaea

Στη Φλωρεντία και στον Γιώργη

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ΥΠΕΡΚΑΛΙΑΙΜΙΑ	15
1.1 Ορισμός	15
1.2 Αίτια.....	16
1.2.1 Υπερβολική πρόσληψη και χορήγηση καλίου.....	16
1.2.2 Ανακατανομή καλίου, αυξημένη έξοδος από τα κύτταρα	17
1.2.3 Μειωμένη νεφρική απέκκριση καλίου.....	19
1.2.4 Φαρμακευτική αγωγή.....	21
1.3 Συμπτώματα.....	21
1.4 Ψευδοϋπερκαλιαιμία	22
1.5 Διάγνωση	23
1.6 Θεραπεία.....	23
2. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ΝΑΤΡΙΟΥΧΟ ΣΟΥΛΦΟΝΙΚΟ ΠΟΛΥΣΤΥΡΕΝΙΟ	25
2.1 Περιγραφή	25
2.2 Δράση	25
2.3 Χρήσεις και ενδείξεις	26
2.4 Αντενδείξεις.....	26
2.5 Ειδικές προφυλάξεις και προειδοποιήσεις.....	26
2.6 Παρενέργειες.....	28
2.7 Αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα και ουσίες	29
2.8 Υπερδοσολογία	30
2.9 Ανεπιθύμητες ενέργειες.....	30
2.10 Δοσολογία και τρόπος χορήγησης.....	31
2.11 Μονογραφία Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας	32
3. ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ΙΟΝΤΙΚΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ	34

3.1	Γενικά	34
3.2	Ιστορική Αναδρομή.....	34
3.3	Αρχή Τεχνικής.....	35
3.4	Οργανολογία	36
3.5	Μηχανισμός ιοντανταλλαγής	37
3.6	Στήλες	40
3.7	Κινητή Φάση.....	41
3.8	Ανιχνευτές	44
3.8.1	Αγωγιμομετρικός ανιχνευτής.....	45
3.8.2	Παλμικός αμπερομετρικός ανιχνευτής	46
3.9	Καταστολή.....	46
3.9.1	Μηχανισμός καταστολής.....	51
3.10	Εφαρμογές.....	53
4.	ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	56
4.1	Οργανολογία	56
4.1.1	Ιοντικός Χρωματογράφος	56
4.1.2	Στατική Φάση.....	58
4.1.3	Καταστολέας.....	59
4.1.4	Αυτόματος Δειγματολήπτης	61
4.1.5	Ανιχνευτής	62
4.2	Βοηθητικά Όργανα και Αντιδραστήρια.....	63
4.2.1	Βοηθητικά Όργανα:.....	63
4.2.2	Αντιδραστήρια	64
4.3	Στόχος.....	65
4.4	Μέθοδος Προσδιορισμού	65
4.5	Πορεία μελέτης.....	68

4.5.1	Στάδια	68
4.5.2	Επεξεργασία αποτελεσμάτων.....	69
4.5.3	Αξιολόγηση αποτελεσμάτων.....	70
4.5.4	Αποτελέσματα και επεξεργασία	71
4.5.5	Τελικά συμπεράσματα	102
5.	ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ.....	104
6.	ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ.....	105
7.	ΑΝΑΦΟΡΕΣ.....	106

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΣΧΗΜΑΤΩΝ

Σχήμα 1.1: Ποσοστιαία κατανομή καλίου στον ανθρώπινο οργανισμό.....	18
Σχήμα 1.2: Ποσοστιαία ενδοκυττάρια κατανομή καλίου.....	18
Σχήμα 1.3: Μεταφορά ιόντων από και προς το κύτταρο σε περίπτωση οξέωσης και αλκάλωσης.....	19
Σχήμα 1.4: Μεταφορά καλίου στον εξωκυττάριο χώρο σε κατάσταση έλλειψης ινσουλίνης.....	20
Σχήμα 1.5: Αντλία καλίου νατρίου.....	20
Σχήμα 1.6: Μηχανισμός επαναρρόφησης νατρίου και απέκκρισης καλίου.....	21
Σχήμα 1.7: Σύστημα ρεννίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης.....	22
Σχήμα 1.8: Φυσιολογικό ΗΚΓ και οι περιοχές του.....	23
Σχήμα 1.9: Φυσιολογικό ΗΚΓ και διάφορες μεταβολές του από αρρυθμίες καθώς και κοιλιακός πτερυγισμός.....	24
Σχήμα 2.1: Δομή μονομερούς της ρητίνης SPS.....	27
Σχήμα 3.1: Σχηματικό διάγραμμα ενός τυπικού συστήματος ιοντικής χρωματογραφίας.....	38
Σχήμα 3.2: Διάγραμμα επίπεδου καταστολέα μεμβράνης.....	54
Σχήμα 3.3: Μηχανισμός καταστολής αυτόματης αναγέννησης.....	55
Σχήμα 4.1: Σχηματική παρουσίαση ολοκληρωμένου συστήματος ιοντικής χρωματογραφίας, Thermo Scientific Dionex ICS-1100.....	59
Σχήμα 4.2: Ηλεκτροχημικός καταστολέας Dionex ERS500 (με σύστημα αναγέννησης) και παρελκόμενα.....	61
Σχήμα 4.3: Λειτουργία αυτοκαταστολής του καταστολέα CERS500.....	63
Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα, πειραματικού μέρους, μίγματος κατιόντων καλίου, νατρίου και ασβεστίου.....	69

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

Εικόνα 1.1: Φαρμακευτικό σκεύασμα Kayexalate.....	26
Εικόνα 4.1: Ιοντικός χρωματογράφος ICS-1100.....	65
Εικόνα 4.2: Τυπικό χρωματογράφημα μίγματος κατιόντων.....	68

ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 1.1: Κατανομή καλίου στον οργανισμό υγιούς ατόμου.....	17
Πίνακας 2.1: Φυσιολογικές τιμές ηλεκτρολυτών στο αίμα.....	30
Πίνακας 2.2: Αλληλεπιδράσεις SPS με διάφορες αγωγές και σχολιασμός.....	31
Πίνακας 3.1: Ισοδύναμες αγωγιμότητες ιόντων.....	51
Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά στήλης CS 12A (4 x 250) mm.....	60
Πίνακας 4.2: Δεδομένα κατασκευής και υπολογισμού καμπύλης αναφοράς προσδιορισμού K^+ με ιοντική χρωματογραφία.....	70
Πίνακας 4.3: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 6 mM καλίου.....	74
Πίνακας 4.4: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 6 mM καλίου.....	75
Πίνακας 4.5: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 120 mM καλίου.....	79
Πίνακας 4.6: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 120 mM καλίου.....	80
Πίνακας 4.7: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου.....	84
Πίνακας 4.8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου.....	85
Πίνακας 4.9: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου.....	89
Πίνακας 4.10: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου.....	90
Πίνακας 4.11: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου.....	94
Πίνακας 4.12: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου.....	95
Πίνακας 4.13: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου.....	99
Πίνακας 4.14: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου.....	100
Πίνακας 4.15: Συνοπτικά ποσοστά δέσμευσης K^+ σκευάσματος ελέγχου.....	104

Πίνακας 5.1: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίες των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων.....	106
---	-----

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του τμήματος Χημείας του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος ειδίκευσης “Χημική Ανάλυση – Έλεγχος Ποιότητας” υπό την επίβλεψη του καθηγητή Μ. Κουππάρη.

Θερμές ευχαριστίες στον καθηγητή Μ. Κουππάρη για την ανάθεση, καθοδήγηση, επίβλεψη, ενδιαφέρον και υποστήριξη στη διάρκεια της εργασίας και στον Κ. Τσιάγκα για τη συμβολή του και την υποστήριξη κατά την διάρκεια του πειραματικού μέρους και στον Α. Βασιλάκη για τη συνεργασία.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον πατέρα μου για τη συμπαράσταση και την υποστήριξή του.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΥΠΕΡΚΑΛΙΑΙΜΙΑ

1.1 Ορισμός

Ο όρος υπερκαλιαιμία αναφέρεται στην κατάσταση κατά την οποία η συγκέντρωση του καλίου στο αίμα, που δρα ως ηλεκτρολύτης, είναι αυξημένη. Το κάλιο στον οργανισμό βρίσκεται σε ποσοστό 95% στα κύτταρα μαζί με το υπόλοιπο αίμα και το ποσοστό αυτό διατηρείται σταθερό με την αντλία καλίου-νατρίου. Η συγκέντρωση καλίου παρακολουθείται στον ορό του αίματος όπου τα φυσιολογικά επίπεδα κυμαίνονται από 3,5 έως 5,0 mEq/L¹. Πάνω από το 90% της έκκρισης καλίου από τον οργανισμό γίνεται μέσω των νεφρών². Η αυξημένη υπερκαλιαιμία μπορεί να οδηγήσει σε επείγουσα ιατρική κατάσταση, αφού συνδέεται με δυνητικά θανατηφόρες, μη φυσιολογικές καρδιακές αρρυθμίες³. Η υπερκαλιαιμία μπορεί να χαρακτηριστεί αναλόγως με τα επίπεδα καλίου στο αίμα σε ήπια (5,0-5,9 mmol/L), σε μέτρια (6,0-6,4 mmol/L) και σε σοβαρή (>6,5 mmol/L). Εάν η συγκέντρωση καλίου είναι μεγαλύτερη από 10,0 mmol/L, είναι μοιραία εκτός εάν παρασχεθεί άμεσα ιατρική βοήθεια. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις που επιβίωσαν και από ακραία υπερκαλιαιμία (>14,0 mmol/L). Στον πίνακα 1.1. φαίνεται η κατανομή καλίου στον οργανισμό υγιούς ατόμου, ενώ στο σχήμα 1.1 και 1.2 η ποσοστιαία κατανομή καλίου στον ανθρώπινο οργανισμό και ενδοκυττάρια αντίστοιχα.

Πίνακας 1.1: Κατανομή καλίου στον οργανισμό υγιούς ατόμου³

ΟΛΙΚΟ ΚΑΛΙΟ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ	Ενδοκυττάριο	47 mEq/Kg Σ.Β.
	Εξωκυττάριο	3 mEq/Kg Σ.Β.
50 mEq/Kg Σ.Β. (3500 mEq, 70 Kg)	Ερυθρά	3,5 mEq/Kg Σ.Β.
	Μύες	38,5 mEq/Kg Σ.Β.
	Ήπαρ	4 mEq/Kg Σ.Β.
	Οστά	4 mEq/Kg Σ.Β.



Σχήμα 1.1: Ποσοστιαία κατανομή Καλίου στον ανθρώπινο οργανισμό



Σχήμα 1.2: Ποσοστιαία Ενδοκυττάρια κατανομή Καλίου

1.2 Αίτια

Ως κύρια αίτια για την υπερκαλιαιμία μπορούν να θεωρηθούν τα εξής:

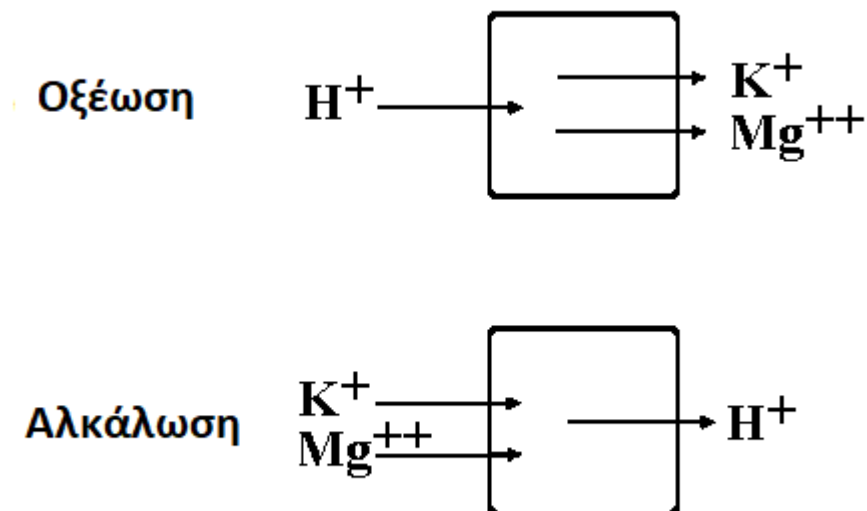
1.2.1 Υπερβολική πρόσληψη και χορήγηση καλίου

Η πρόσληψη και η χορήγηση καλίου ως αιτία υπερκαλιαιμίας, είναι σπάνια εκτός αν είναι οξεία ή αν συνοδεύεται από μειωμένη νεφρική απέκκριση. Τρόφιμα που μπορούν να προκαλέσουν αύξηση καλίου είναι αυτά με υψηλά επίπεδα καλίου, με αντικατάστατα άλατος ή και νησίσιμα φαγητά που καταναλώνονται από άτομα με σχετική έλλειψη ινσουλίνης. Η χορήγηση καλίου συμβαίνει κατά την μετάγγιση συντηρημένου αίματος και από υποκατάστατα άλατος⁴.

1.2.2 Ανακατανομή καλίου, αυξημένη έξοδος από τα κύτταρα

Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω, η μεγαλύτερη ποσότητα του καλίου βρίσκεται στα κύτταρα. Ανακατανομή αυτής της ποσότητας γίνεται με έξοδο από τον ενδοκυττάριο χώρο προς τον εξωκυττάριο, με αποτέλεσμα την αύξηση της συγκέντρωσης καλίου στον ορό του αίματος. Οι κύριες αιτίες είναι οι εξής⁵:

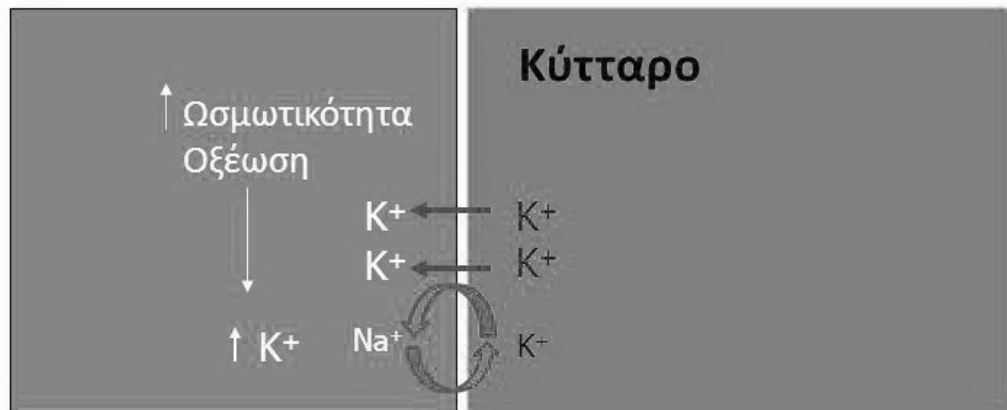
- Η νέκρωση μυών και η κυτταρική καταστροφή μπορεί να επέλθει από κάποιο τραύμα ή έγκαυμα, ή από σύνδρομο λύσης όγκου που μπορεί να προκληθεί από κυτταροτοξικά φάρμακα. Κυτταρική καταστροφή και αιμόλυση μπορεί να προκληθεί κατά τη μαζική μετάγγιση αίματος⁹.
- Η μεταβολική οξέωση και οξέωση από μη οργανικά οξέα, κατά την οποία γίνεται ανταλλαγή ιόντων καλίου και πρωτονίου εκτός ή και εντός κυττάρου, με αποτέλεσμα την αύξηση του καλίου εκτός κυττάρου και την ανακατανομή του στον οργανισμό (σχήμα 1.3). Ενδεικτικά μία όχι σημαντική μείωση του pH οδηγεί στην αύξηση ιόντων καλίου κατά 0,2-1,7 mEq/L στο αίμα^{6,9}.



Σχήμα 1.3: Μεταφορά ιόντων από και προς το κύτταρο σε περίπτωση οξέωσης και αλκάλωσης⁷

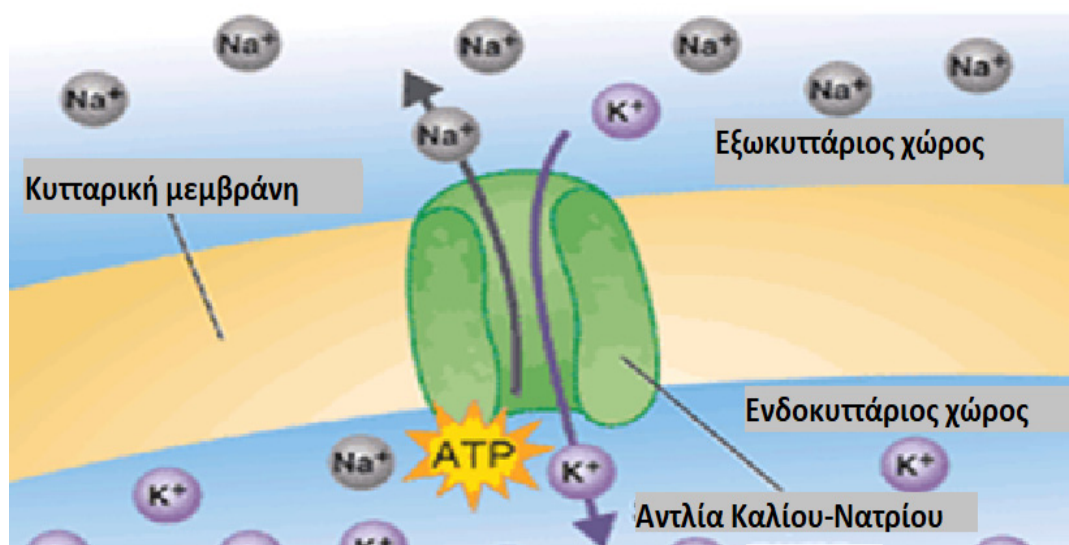
- Η άσκηση, όπου γίνεται κατανάλωση ATP στο κύτταρο και μείωση της συγκέντρωσής του. Η μεταβολή σε κάλιο είναι περίπου 0,3-0,4 mEq/L σε ήπια άσκηση και 0,7-1,2 mEq/L σε έντονη μικρής διάρκειας⁴.

- Διαβητική κετοξέωση, κατά την οποία η έλλειψη ινσουλίνης και η υπεργλυκαιμία οδηγεί σε υπερωσμωτική υπεργλυκαιμική κατάσταση. Δηλαδή σε μεγάλη ωσμωτικότητα στο κύτταρο που έχει ως αποτέλεσμα την υπερκαλιαιμία, μεταφορά ιόντων καλίου εκτός κυττάρου, παρά την σημαντική έλλειψη καλίου⁴ (σχήμα 1.4).



Σχήμα 1.4: Μεταφορά καλίου στον εξωκυττάριο χώρο σε κατάσταση έλλειψης ινσουλίνης.

- Οι β-αναστολείς (κυρίως μη εκλεκτικοί) και η διγοξίνη που χορηγούνται για καρδιακές παθήσεις, μπορούν να διαταράξουν την κατανομή καλίου στον οργανισμό επειδή μπορούν να αναστείλουν τη δράση αντλίας Νατρίου-Καλίου (Na-K-ATPάση) (σχήμα 1.5). Η αντλία αυτή είναι μία διαμεμβρανική αντλία, πρωτεϊνικής φύσης, που συνδυάζει την είσοδο ιόντων καλίου με την έξοδο ιόντων νατρίου από το κύτταρο με παράλληλη υδρόλυση ATP προς ADP^{3,4,9}.

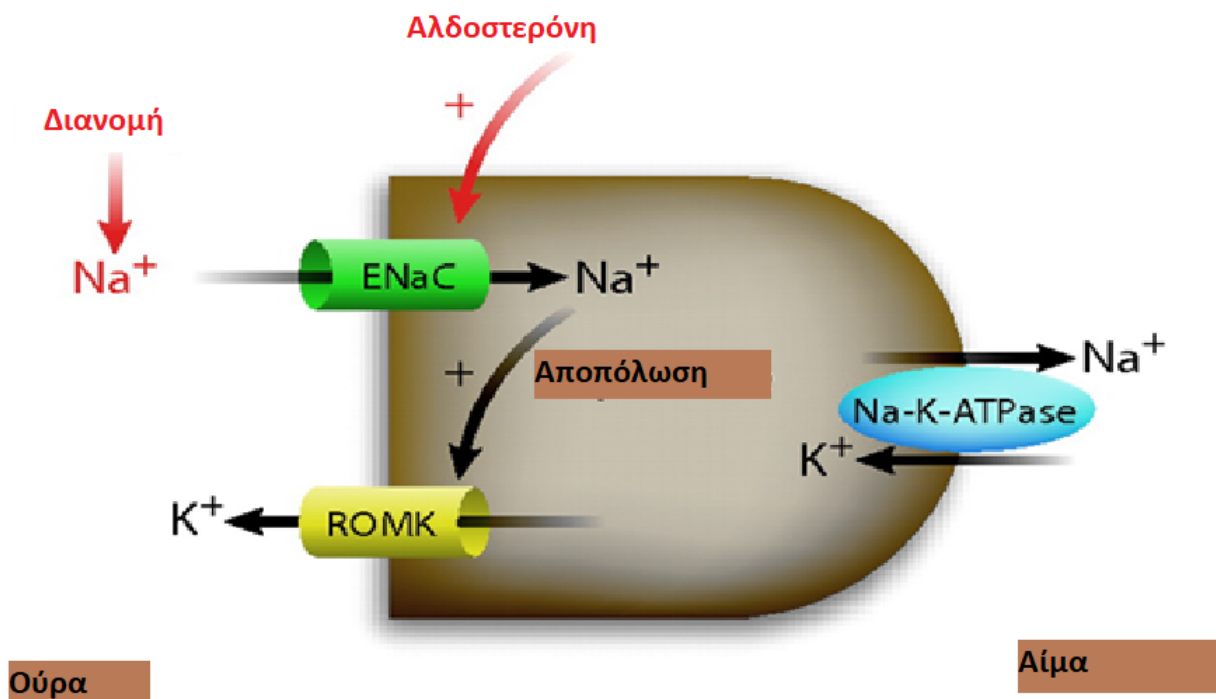


Σχήμα 1.5: Αντλία καλίου νατρίου⁸

1.2.3 Μειωμένη νεφρική απέκκριση καλίου

Η ομοίωση του καλίου στον οργανισμό ρυθμίζεται από τη λειτουργία των νεφρών. Τα νεφρά είναι υπεύθυνα για την απέκκριση του καλίου από τον οργανισμό, σε ποσοστό περίπου 90% καθημερινά. Συνεπώς η υπερκαλιαιμία αναμένεται σε άτομα με κάποιου είδους νεφρική ανεπάρκεια αλλά και σε άτομα που μπορεί να μην έχουν ιστορικό ή κάποια νεφρική πάθηση. Η μειωμένη νεφρική απέκκριση καλίου είναι κύρια αιτία υπερκαλιαιμίας, καθώς είναι αναγκαία για την εμφάνιση επίμονης υπερκαλιαιμίας. Η μειωμένη νεφρική απέκκριση του καλίου μπορεί να οφείλεται σε⁹:

- Νεφρική ανεπάρκεια που μπορεί να παρουσιαστεί με ολιγουρία και συνήθως οφείλεται σε καταστάσεις υποαλδοστερονισμού (έλλειψη αλδοστερόνης), καθώς και σε καταστάσεις μεγάλων ιστικών καταβολισμών. Στην περίπτωση της ολιγουρονεφρικής ανεπάρκειας και ψευδοϋποαλδοστερισμού γίνεται χαμηλή προσφορά ροής διηθήματος νατρίου στον άνω νεφρώνα^{3,4,9}. Στο σχήμα 1.6 φαίνεται ο μηχανισμός επαναρρόφησης νατρίου και απέκκρισης καλίου.



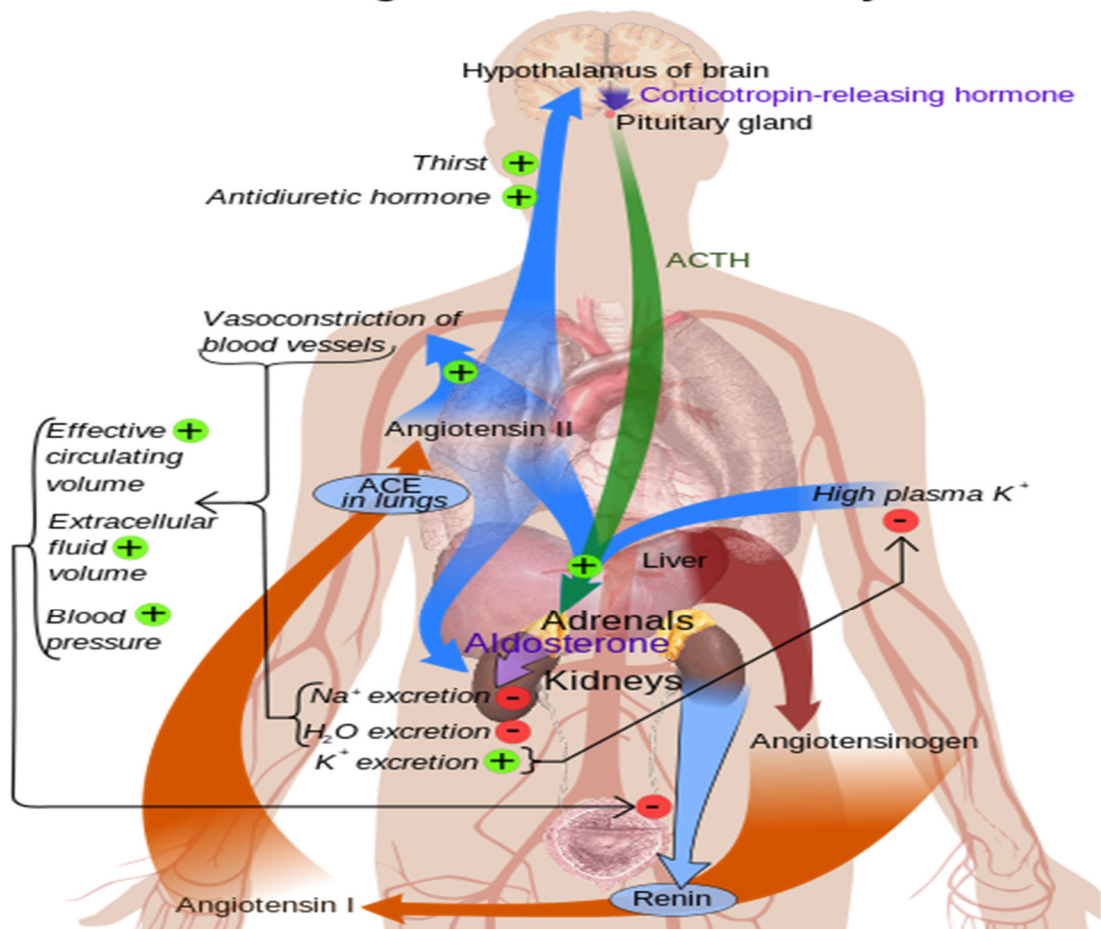
Σχήμα 1.6: Μηχανισμός επαναρρόφησης νατρίου και απέκκρισης καλίου¹⁰

- Ανεπάρκεια-αντίσταση σε αλατοκορτιστεροειδή. Εδώ περιλαμβάνονται άτομα με μειωμένη παραγωγή αλδοστερόνης (νόσος Addison) και ανήκουν στην

περίπτωση πρωτοπαθούς αλδοστερονισμού. Επίσης άτομα με υπορρενιναιμικό αλδοστερονισμό, μειωμένη δραστικότητα συστήματος ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης (σχήμα 1.7)ⁱ (σακχαρώδης διαβήτης, διάμεση νεφρίτιδα και έκπτωση νεφρικής λειτουργίας), με μειωμένη σύνθεση αλδοστερόνης (επινεφριδική ανεπάρκεια) και αντίσταση στην αλδοστερόνη⁴.

- Νεφρική σωληναριακή διαταραχή-οξέωση, κατά την οποία υπάρχει αντίσταση στην αλδοστερόνη. Ασθένειες που σχετίζονται με αυτήν την διαταραχή είναι η αποφρακτική νεφροπάθεια, η δρεπανοκυτταρική αναιμία και η διάμεση νεφρίτιδα⁴.

Renin-angiotensin-aldosterone system



Σχήμα 1.7: Σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης¹¹

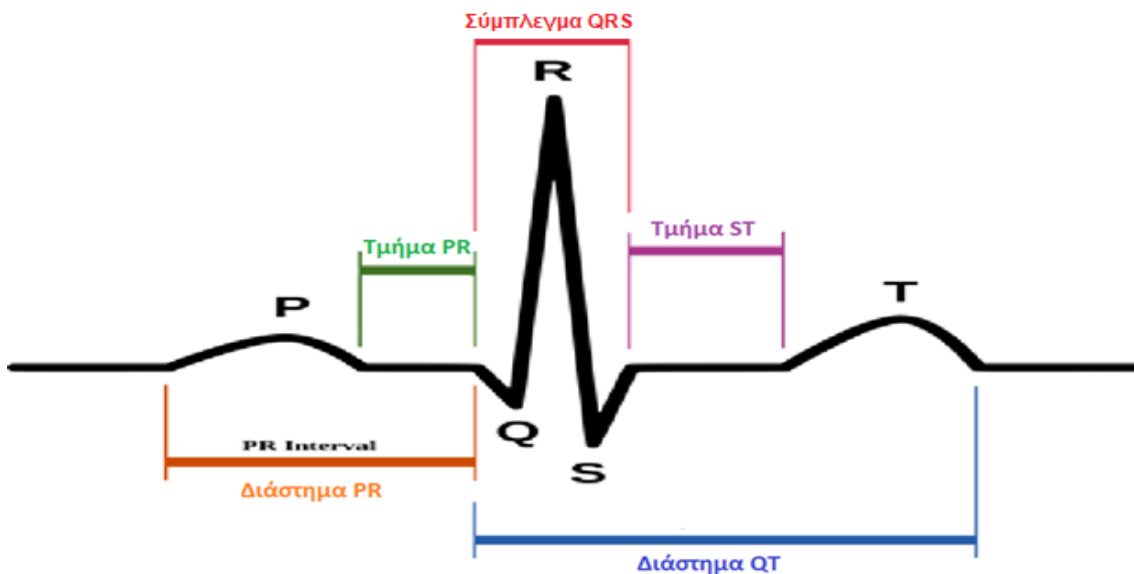
ⁱ Το σύστημα ρενίνης-αγγειοτενσίνης-αλδοστερόνης-RAAS (Renin-Angiotensin-Aldosterone System) είναι ένα ορμονικό σύστημα που ρυθμίζει την αρτηριακή πίεση και την ισορροπία υγρών στον οργανισμό.

1.2.4 Φαρμακευτική αγωγή

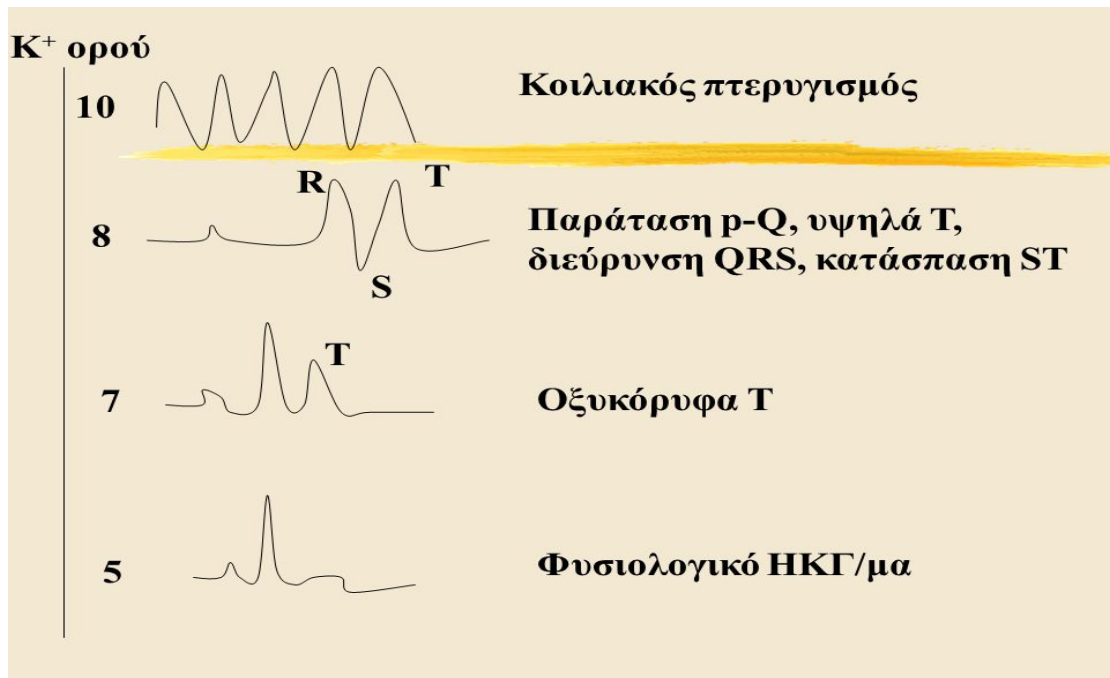
Η φαρμακευτική αγωγή που παρεμβαίνει στην ουρική έκκριση μπορεί να λειτουργήσει ως αιτία υπερκαλιαιμίας. Καλιοσυντηρητικά διουρητικά¹², όπως η αμιλορίδη και η σπειρονολακτόνη μπορούν να προκαλέσουν την αναστολή της δράσης αλδοστερονών. Τα αντιπαρασιτικά φάρμακα πενταμιδίνη και τριμεθοπρίμη δύνανται να προκαλέσουν αποκλεισμό των διαύλων νατρίου. Ενδεικτικά αναφέρονται ακόμα αναστολείς ΜΕΑ και αποκλειστές των υποδοχέων αγγειοτενσίνης, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα και ανοσοκατασταλικά του αναστολέα καλσινευρίνης, όπως η κυκλοσπορίνη¹⁻⁵.

1.3 Συμπτώματα

Η υπερκαλιαιμία είναι ασυμπτωματική έως ότου εμφανιστούν υψηλά επίπεδα καλίου στο αίμα. Τα επίπεδα καλίου όπου παρατηρείται τοξική δράση, στον καρδιακό ή στους σκελετικούς μύες, ποικίλουν από ασθενή σε ασθενή. Η υπερκαλιαιμία εκδηλώνεται είτε νευρομυϊκά είτε καρδιακά. Νευρομυϊκές εκδηλώσεις είναι οι αιμωδίες και παραισθήσεις των άνω και κάτω άκρων, η αδυναμία και η χαλαρή παράλυση. Εκδηλώσεις από καρδιά είναι τυχόν αρρυθμίες, όπως φλεβοκομβική βραδυκαρδία, κοιλιακή ταχυκαρδία, κοιλιακή μαρμαρυγή και ασυστολία και διαταραχές στο ΗΚΓ όπως οξυκόρυφα κύματα Τ με στενή βάση, επιμήκυνση P-R διαστήματος με επιπέδωση ή απουσία Ρ κατά την οποία γίνεται και περαιτέρω διερεύνηση QRS. Η μορφή του ΗΚΓ (σχήμα 1.8) εξαρτάται και από το είδος της υπερκαλιαιμίας¹³. Στο σχήμα 1.9. παρουσιάζονται φυσιολογικό ΗΚΓ καθώς και διάφορες μεταβολές του από αρρυθμίες και κοιλιακός πτεριγυσμός.



Σχήμα 1.8: Φυσιολογικό ΗΚΓ και οι περιοχές του.



Σχήμα 1.9: Φυσιολογικό ΗΚΓ και διάφορες μεταβολές του από αρρυθμίες καθώς και κοιλιακός πτερυγισμός.

Στην ήπια υπερκαλιαιμία (5,0-5,9 mmol/L), εμφανίζονται κύματα T υψηλά και σε σχέση με τα R. Στην μέτρια υπερκαλιαιμία (6,0-6,4 mmol/L) και στη σοβαρή (>6,5 mmol/L), δηλαδή σε συγκέντρωση καλίου από 6,5 mmol/L έως 8,0 mmol/L, υπάρχει μεγιστοποίηση του διαστήματος QP και απουσία ή επιπέδωση των P κυμάτων. Εάν η συγκέντρωση καλίου είναι μεγαλύτερη από 8,5 mmol/L τότε εμφανίζεται μια πλάτυνση του QRS (μεγαλύτερη των δώδεκα δευτερολέπτων), αλληλοεπικάλυψη κυμάτων S και T υπάρχει βραδυκαρδία, κοιλιακή ταχυκαρδία και η πιθανότητα καρδιακής ανακοπής είναι πολύ υψηλή^{9,14,15}.

1.4 Ψευδοϋπερκαλιαιμία

Είναι η αύξηση της ποσότητας του καλίου λόγω υπερβολικής διαρροής του από τα κύτταρα. Συμβαίνει κατά τη διάρκεια της λήψης του αίματος ή μετά τη λήψη, λόγω αιμόλυσης ή κακού χειρισμού, αντίστοιχα. Οδηγεί στην ψευδή ένδειξη υπερκαλιαιμίας η οποία μπορεί να είναι παραπλανητική για τον θεράποντα ιατρό. Μπορεί επίσης να εμφανιστεί σε δείγματα ασθενών με αφύσικα υψηλό αριθμό αιμοπεταλίων, λευκοκυττάρων, ή ερυθροκυττάρων¹⁶⁻¹⁸.

1.5 Διάγνωση

Λόγω πιθανής αιμόλυσης στο πρώτο δείγμα και προς αποφυγή ψευδοϋπερκαλιαιμίας, είναι αναγκαίο να επαναληφθεί η μέτρηση του καλίου στον ορό του αίματος^{15,16}. Εκτός από τη μέτρηση καλίου θα πρέπει να γίνουν και εξετάσεις για τη νεφρική λειτουργία, κρεατινίνη και άζωτο ουρίας αίματος, τη γλυκόζη και περιστασιακά για την κινάση της κρεατίνης και της κορτιζόλης. Γίνεται μερικές φορές και υπολογισμός της σωληνοειδούς κλίσης του καλίου που δύναται να βοηθήσει στη διάκριση αιτίας της υπερκαλιαιμίας, καθώς είναι δείκτης υποαλδοστερονισμού. Επειδή η υπερκαλιαιμία είναι άκρως ενδεικτική για νεφρική ανεπάρκεια, πραγματοποιείται συχνά νεφρικό υπερηχογράφημα. Ηλεκτροκαρδιογράφημα γίνεται αμέσως μετά τη μέτρηση καλίου, για να διαπιστωθεί αν υπάρχει κίνδυνος σοβαρών καρδιακών αρρυθμιών από την υπερκαλιαιμία. Σε περίπτωση ενδείξεων αρρυθμιών (υψηλά T, απουσία P κυμάτων, εύρυνση QRS, βραδυκαρδία) ή και επειγουσών ενδείξεων καρδιακής ανακοπής, τότε χορηγείται στον ασθενή χλωριούχο ασβέστιο (για την καρδιά), ένα μίγμα ινσουλίνης-δεξτρόζης ή και διπτανθρακικού νατρίου (με σκοπό την μετατόπιση καλίου εντός κυττάρων) και τέλος και στις δύο περιπτώσεις εξετάζεται η αιμοκάθαρση. Προφανώς στο τέλος επανελέγχεται η ποσότητα καλίου στο αίμα. Επιπλέον μπορεί να μετρηθεί και η απέκκριση καλίου στα ούρα του ασθενούς^{3,4}.

1.6 Θεραπεία

Η θεραπεία καθορίζεται από τα επίπεδα καλίου στο αίμα, από την παρουσία συμπτωμάτων και από την αιτία. Η θεραπεία στην περίπτωση της ελαφράς υπερκαλιαιμίας μπορεί να περιοριστεί στην εξάλειψη της αιτίας, η οποία μπορεί να είναι κάποιο φάρμακο, κάποια πηγή καλίου στη διατροφή ή κάποιο διαιτητικό συμπλήρωμα. Στην περίπτωση της βαριάς ή της προοδευτικής υπερκαλιαιμίας η θεραπεία διακρίνεται με σκοπό τον ανταγωνισμό δράσεων καλίου στην κυτταρική μεμβράνη, την μετακίνηση καλίου ενδοκυτταρικά και στην απομάκρυνσή του. Η απομάκρυνση καλίου μπορεί να επιτευχθεί με^{3,4,9}:

- Χορήγηση διουρητικών, όπως η φουροσεμίδη. Η θεωρητική βάση χρήσης διουρητικών για τη θεραπεία της υπερκαλιαιμίας είναι να βοηθήσουν στην ουρική απέκκριση καλίου. Ωστόσο δεν υπάρχουν κλινικές δοκιμές να υποστηρίξουν τη χρήση τους στη θεραπεία της υπερκαλιαιμίας. Τα διουρητικά θεωρούνται γενικώς ως μη αποτελεσματικά, στη θεραπεία, επειδή η υπερκαλιαιμία σχετίζεται με έκπτωση νεφρικής λειτουργίας. Σε μερικές περιπτώσεις, αν και πάλι δεν

υπάρχουν υποστηρίζουσες κλινικές δοκιμές, χορηγείται ενδοφλέβια ένεση με αλατούχο υγρό, σε ένδειξη μείωσης όγκου, με στόχο τη βελτίωση της νεφρικής αιμάτωσης και την ενίσχυση του ουροποιητικού για την απέκκριση του καλίου¹².

- Αιμοκάθαρση, την πιο άμεση και αποτελεσματική αφαίρεση καλίου. Μπορούν να απομακρυνθούν από 1 mmol/h έως 25-40 mmol/h με αύξηση του ρυθμού αίματος¹⁶, αύξηση του υγρού διάλυσης και μείωση ποσότητας καλίου σε αυτό¹⁷. Στην περίπτωση της μετάγγισης θα πρέπει να χρησιμοποιείται φρέσκο αίμα διότι οι παλαιότερες συσκευασίες περιέχουν αυξημένο κάλιο ως αποτέλεσμα αιμόλυσης¹⁸.
- Ρητίνες ανταλλαγής ιόντων, οι οποίες είναι πολυμερή με διασταυρούμενη δομή και αρνητικά φορτισμένες δομικές μονάδες με ικανότητα ανταλλαγής νατρίου (sodium polystyrene sulfonate, kayexalate) ή ασβεστίου (calcium resonium) προς κάλιο. Χορηγούνται είτε από το στόμα, είτε σε κλύσμα και δρουν κατά μήκος του εντερικού τοιχώματος. Οι ρητίνες δεν έχουν μεγαλύτερη αποδοτικότητα στην απέκκριση καλίου από τα κόπρανα, σε σχέση με τη διάρροια ή με τη χρήση καθαρτικών¹⁹. Επίσης έχουν αργή δράση, πράγμα που τις καθιστά ακατάλληλες για χρήση για τη διαχείριση επείγουσας υπερκαλιαιμίας. Σε αυτήν την ακραία περίπτωση συνιστάται ταυτόχρονη χρήση ρητινών και καθαρτικού²⁰.

Το kayexalate (εικόνα 1.1) είναι η εμπορική ονομασία φαρμακευτικού σκευάσματος ρητίνης ανταλλαγής ιόντων που δεσμεύει το κάλιο. Ενδεικτικά 1 g kayexalate δεσμεύει 1 meq καλίου στο έντερο μία με δύο ώρες μετά και συνιστάται επαναχορήγηση κάθε τέσσερις με έξι ώρες.



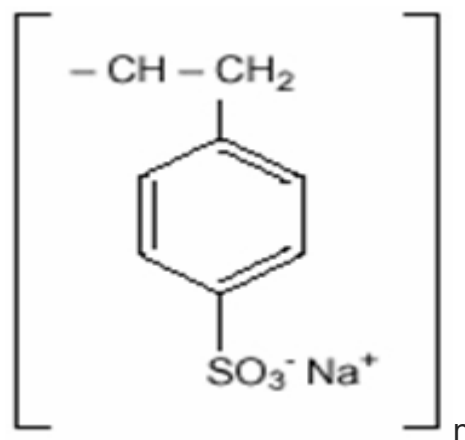
Εικόνα 1.1: Φαρμακευτικό σκεύασμα Kayexalate

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΝΑΤΡΙΟΥΧΟ ΣΟΥΛΦΟΝΙΚΟ ΠΟΛΥΣΤΥΡΕΝΙΟ

2.1 Περιγραφή

Kayexalate είναι η εμπορική ονομασία για το νατριούχο σουλφονικό πολυστυρένιο (sodium polystyrene sulfonate - SPS). Το SPS (σχήμα 2.1) είναι μία κατιοανταλλακτική ρητίνη που χρησιμοποιείται για τη δέσμευση περίσσειας καλίου και ανταλλαγής αυτού με νάτριο. Το SPS είναι ένα πολυμερισμένο αιθυλενοβενζόλιο, σουλφονικό νάτριο σε πάρα θέση^{9,21}.



Σχήμα 2.1: Δομή μονομερούς της ρητίνης SPS

Είναι λεπτόκοκκη σκόνη χρώματος λευκού κρεμ έως ανοιχτού καστανέρυθρου. Παρασκευάζεται ως μετά νατρίου άλας και έχει δεδομένη in vitro ικανότητα ανταλλαγής καλίου. Η περιεκτικότητα σε νάτριο είναι περίπου 100 mg ανά γραμμάριο φαρμάκου²².

2.2 Δράση

Το kayexalate (SPS) χορηγείται για να απομακρύνει υψηλή ποσότητα καλίου από το αίμα. Δεσμεύει την ποσότητα καλίου στον οργανισμό, συγκεκριμένα στο παχύ έντερο, ώστε αυτό να μπορεί να απομακρυνθεί με τα κόπρανα. Το SPS δεν απορροφάται από τον γαστρεντερικό σωλήνα. Περνά μέσω της γαστρεντερικής οδού, όπου η ρητίνη δεσμεύει τα ιόντα καλίου προς απελευθέρωση ιόντων νατρίου. Αυτή η δράση συμβαίνει σε μεγαλύτερο βαθμό στο παχύ έντερο παρά στο λεπτό, καθώς εκεί συμβαίνει μεγαλύτερη απέκκριση ιόντων καλίου. Ανταλλαγή καλίου συμβαίνει στο κόλον όταν το SPS χορηγείται ως κλύσμα. Βέβαια αυτή η διαδικασία είναι περιορισμένη και απρόβλεπτη. Μπορεί να είναι αποτελεσματικό κατά 33%, που είναι και η αναλογία

δέσμευσης καλίου, όπως αναφέρεται παρακάτω, όμως έχει τέτοιο εύρος που μπορεί να διαταράξει την ισορροπία των ηλεκτρολυτών, καθιστώντας επιτακτική την παρακολούθησή²².

2.3 Χρήσεις και ενδείξεις

Η κύρια χρήση του SPS είναι για την θεραπεία της υπερκαλιαιμίας. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως συμπλήρωμα σε άλλες καταστάσεις, όπως στον περιορισμό πρόσληψης ηλεκτρολυτών, τον έλεγχο οξέωσης, σε δίαιτα υψηλής θερμιδικής αξίας κ.α. Στην περίπτωση της υπερκαλιαιμίας, πριν από την έναρξη της θεραπείας, ενδείκνυται ο προσδιορισμός της αιτίας της υπερκαλιαιμίας και η δυνατόν εξάλειψή της. Δεν συνιστάται για τη θεραπεία υπερκαλιαιμίας σε κατάσταση καρδιακών διαταραχών και αρρυθμιών διότι η δράση της ρητίνης είναι αργή. Η θεραπεία με SPS ενδείκνυται όταν η υπερκαλιαιμία δεν είναι επικίνδυνη για τη ζωή και όταν τα υπόλοιπα μέτρα έχουν μειώσει αρκετά τον κίνδυνο της υπερκαλιαιμίας^{20,9}.

2.4 Αντενδείξεις

Το SPS δεν πρέπει να χορηγείται σε άτομα με:

- Χαμηλά επίπεδα καλίου στο αίμα, υποκαλιαιμία, δηλαδή συγκέντρωση καλίου του ορού <5 mmol/L
- Αλλεργία στο SPS ή σε οποιοδήποτε άλλο συστατικό του φαρμάκου.
- Αποφρακτική νόσο του εντέρου, δυσκοιλιότητα, ή όταν κινδυνεύουν από δυσκοιλιότητα, ή ενσφήνωση, γενικά σε μη φυσιολογική λειτουργία εντέρου.
- Πρήξιμο, κατακράτηση υγρών, οίδημα, καρδιακή ανεπάρκεια, υψηλή αρτηριακή πίεση, νεφρικά προβλήματα, αφυδάτωση, χαμηλό όγκο αίματος, μη φυσιολογικά επίπεδα ηλεκτρολυτών στο αίμα (π.χ. νάτριο, μαγνήσιο, ασβέστιο)²³

2.5 Ειδικές προφυλάξεις και προειδοποιήσεις

Εντερικοί τραυματισμοί

Το SPS ενδείκνυται να χρησιμοποιείται σε ασθενείς με φυσιολογική λειτουργία εντέρου. Αποφεύγεται σε ασθενείς με μη φυσιολογική λειτουργία, όπως και δυσκοιλιότητα²⁴. Περιπτώσεις εντερικής στένωσης, η οποία μπορεί να αποβεί μοιραία, και άλλων γαστρεντερικών ανεπιθύμητων ενεργειών, όπως ισχαιμική κολίτιδα, εντερική διάτρηση, εντερική νέκρωση, έχουν αναφερθεί σε άτομα που κάνουν χρήση SPS. Η πλειοψηφία των ατόμων αυτών ανέφερε την ταυτόχρονη χρήση σορβιτόλης²⁵.

Εναλλακτική θεραπεία σε σοβαρή υπερκαλιαιμία

Η αποτελεσματική μείωση του επιπέδου καλίου στο αίμα με τη χρήση του SPS, μπορεί να χρειαστεί από ώρες ή μέρες από τη στιγμή της χορήγησής του. Συνεπώς η θεραπεία με το φάρμακο αυτό και μόνο αυτό, μπορεί να είναι ανεπαρκής για την αποκατάσταση και ταχεία διόρθωση σε περιπτώσεις σοβαρής υπερκαλιαιμίας, που σχετίζονται με καταστάσεις ταχείας διάσπασης ιστών, εγκαύματα και νεφρική ανεπάρκεια. Σε τέτοιες περιπτώσεις λαμβάνονται υπόψη άλλα μέτρα και μπορούν να κριθούν επιτακτικά, όπως η αιμοκάθαρση⁹.

Υποκαλιαιμία

Σοβαρή έλλειψη καλίου, ακόμα και εξάντληση, μπορεί να προκύψει από τη θεραπεία με SPS. Το αποτέλεσμα της θεραπείας πρέπει να ελέγχεται με προσδιορισμό καλίου του ορού σε περίοδο 24 ωρών. Όταν το επίπεδο καλίου στο αίμα πέσει κάτω από τα 5 mmol/L, ενδείκνυται η διακοπή της αγωγής με SPS. Το ακριβές επίπεδο καλίου στο οποίο θα πρέπει να διακόπτεται η θεραπεία καθορίζεται εξατομικευμένα σε κάθε ασθενή. Ενίσχυση στην εύρεση αυτού του επιπέδου μπορούν να δώσουν η κλινική κατάσταση και το ηλεκτροκαρδιογράφημα του ασθενούς. Οι πρώτες κλινικές ενδείξεις σοβαρής υποκαλιαιμίας περιλαμβάνουν μια εικόνα ευερεθιστότητας, σύγχυση και καθυστέρηση της διαδικασίας της σκέψης. Επίσης η υποκαλιαιμία μπορεί να εκδηλωθεί με σοβαρή μυϊκή αδυναμία και κατά καιρούς μπορεί να επεκταθεί σε παράλυση^{9,26}.

Ασθενής με μικρή ανοχή σε αύξηση νατρίου

Κατά τη διάρκεια της δράσης στο έντερο γίνεται απελευθέρωση νατρίου για την δέσμευση του καλίου με στοιχειομετρία 1:1. Μια δόση SPS, περίπου 15 g, περιέχει περίπου 60 mmol νατρίου. Δεδομένου ότι η ρητίνη είναι μια πηγή νατρίου, συνιστάται προσοχή όταν το SPS χορηγείται σε ασθενείς οι οποίοι δεν μπορούν να ανεχθούν ακόμη και μια μικρή αύξηση σε νάτριο και για τους οποίους η αύξηση του νατρίου μπορεί να είναι επιβλαβής. Σε αυτή την περίπτωση μπορεί η χορήγηση να προκαλέσει σοβαρή συμφορητική καρδιακή ανεπάρκεια, σοβαρή υπέρταση, οίδημα ή νεφρική βλάβη. Σε τέτοιες περιπτώσεις αντισταθμιστικός περιορισμός της πρόσληψης νατρίου από άλλες πηγές μπορεί να ενδείκνυται, αλλά και κατάλληλος κλινικός και βιοχημικός έλεγχος είναι απαραίτητος. Η μορφή της ρητίνης με ασβέστιο μπορεί να είναι πιο αποδοτική σε αυτήν την περίπτωση.

Ηλεκτρολυτικές διαταραχές

Οι ρητίνες ανταλλαγής κατιόντων, δεν είναι τελείως εκλεκτικές. Το SPS εκτός από κάλιο δύναται να δεσμεύσει και άλλα κατιόντα, όπως μαγνήσιο και ασβέστιο, που μπορεί να χαθούν κατά τη θεραπεία. Κατά συνέπεια οι ασθενείς θα πρέπει να παρακολουθούνται για όλους τους ηλεκτρολύτες που θα μπορούσε να δεσμεύσει το φάρμακο. Στον πίνακα 2.1 παρουσιάζονται οι φυσιολογικές τιμές ηλεκτρολυτών στο ανθρώπινο αίμα.

Πίνακας 2.1: Φυσιολογικές τιμές ηλεκτρολυτών στο αίμα

Φυσιολογικές τιμές Ηλεκτρολυτών στον ορό του αίματος	
Συστατικό	Φυσιολογικό εύρος τιμών
Διπτανθρακικό (Σύνολο)	18-30 mEq/L
Ασβέστιο (Σύνολο)	9-11 mg/dL (4,5-5,5 mEq/L)
Χλώριο	98-106 mEq/L
Μαγνήσιο	1,8-3,6 mg/dL (1,5-3,0 mEq/L)
Φώσφορος	3-4,5 mg/dL (1,8-2,3 mEq/L) Ενήλικες 4-6,5 mg/dL (2,3-3,8 mEq/L) Παιδιά
Κάλιο	3,5-5,5 mEq/L
Νάτριο	135-147 mEq/L

Άλλοι κίνδυνοι

Σε περίπτωση δυσκοιλιότητας, η θεραπεία πρέπει να διακοπεί έως την κανονική λειτουργία του εντέρου. Ο ασθενής θα πρέπει να είναι προσεκτικός κατά την κατάποση της ρητίνης, προκειμένου να αποφευχθεί η αναρρόφηση η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε βρογχοπνευμονικές επιπλοκές²². Στα νεογνά, το SPS δεν πρέπει να δίνεται από το στόμα. Στα παιδιά και στα νεογνά, ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να τηρείται με χορήγηση από το ορθό. Υπερβολική δόση ή ανεπαρκής αραίωση μπορεί να οδηγήσει σε ενσφήνωση της ρητίνης. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται σε πρόωρα βρέφη ή νεογνά χαμηλού βάρους γέννησης²⁷. Προσοχή συνιστάται σε άτομα με προβλήματα καρδιάς, υψηλή αρτηριακή πίεση, σοβαρά εγκαύματα, νεφρική ανεπάρκεια και σε αυτά που απαιτείται δίαιτα χαμηλή σε αλάτι^{9,22}.

2.6 Παρενέργειες

Οι παρενέργειες μπορεί να περιλαμβάνουν ναυτία και εμέτους, διάρροια και έλλειψη όρεξης. Απαραίτητη είναι η επικοινωνία με τον γιατρό σε εμφάνιση υψηλών επιπέδων νατρίου (πρήξιμο), χαμηλά επίπεδα καλίου (μυϊκές κράμπες, κόπωση, μυϊκή αδυναμία, αρρυθμία) και ασβεστίου (αίσθηση ανησυχίας, μυϊκές κράμπες, μη δυνατότητα

χαλάρωσης). Η παύση χρήσης του SPS είναι απαραίτητη σε περίπτωση δυσκοιλιότητας ή φουσκώματος στην κοιλιά, κοιλιακού άλγους, ερεθισμού στομάχου και αιμορραγίας, αιμορραγίας από τον ορθό, αλλεργικής αντίδρασης (πρήξιμο προσώπου, γλώσσας και λαιμού, ζαλάδα, μη φυσιολογική αναπνοή), ενσφήνωσης κοπράνων, απόφραξης ή διάτρησης εντέρου (σοβαρός κοιλιακός πόνος έμετος, πυρετός)²².

2.7 Αλληλεπιδράσεις με άλλα φάρμακα και ουσίες

Η ταυτόχρονη χορήγηση σορβιτόλης και SPS δεν συνιστάται, λόγω εντερικής νέκρωσης και άλλων σοβαρών εντερικών ανεπιθύμητων αντιδράσεων²⁸, οι οποίες μπορούν να αποβούν μοιραίες για τον ασθενή. Μειωμένη αποτελεσματικότητα φαρμάκου παρατηρείται με την συγχορήγηση δότη κατιοντικού παράγοντα. Επίσης δεν συνιστάται σε πιθανώς μειωμένη απορρόφηση λιθίου και θυροξίνης. Αν χορηγείται και υδροξείδιο αλουμινίου, μπορεί να επέλθει εντερική απόφραξη. Επίσης δεν συνιστάται σε ταυτόχρονη χορήγηση με φάρμακα δακτυλίτιδας, καθώς οι επιδράσεις της, όπως οι καρδιακές ή και κοιλιακές αρρυθμίες μπορούν να επιδεινωθούν σε περιπτώσεις υποκαλιαιμίας. Μη απορροφήσιμα φάρμακα, όπως δότες κατιόντων, καθαρτικά και αντιόξινα (υδροξείδιο του μαγνησίου και ανθρακικό αλουμίνιο) σε συνδυασμό με SPS μπορούν να οδηγήσουν σε συστηματική αλκάλωση²⁹. Στον πίνακα 2.2 παρουσιάζονται αλληλεπιδράσεις SPS με διάφορες αγωγές και παρατίθεται σχολιασμός.

Πίνακας 2.2: Αλληλεπιδράσεις SPS με διάφορες αγωγές και σχολιασμός

Φάρμακο	Αλληλεπίδραση	Σχόλια
Αντιόξινα, δότες κατιόντων (π.χ., ανθρακικό αργίλιο, υδροξείδιο αργιλίου, υδροξείδιο μαγνησίου, ανθρακικό ασβέστιο)	Πιθανώς μειωμένη ικανότητα ανταλλαγής καλίου ³⁴⁻³⁶ Ταυτόχρονη στοματική χορήγηση SPS μπορεί να οδηγήσει σε συστηματική αλκάλωση ³⁴⁻³⁶ Πιθανή εντερική απόφραξη με μεγάλες δόσεις υδροξειδίου του αργιλίου ³⁴⁻³⁶	Δεν συνιστάται ταυτόχρονη χρήση διά της στοματικής οδού για SPS και υδροξείδιο μαγνησίου ^{34,35} Η συστηματική αλκάλωση μπορεί να αποφευχθεί με χορήγηση SPS από το ορθόν ^{35,36}
Καρδιακοί γλυκοζίτες	Το SPS με την πιθανή υποκαλιαιμία μπορεί να αυξήσουν τις τοξικές επιδράσεις στην καρδιά.	

Καθαρτικά (δότες κατιόντος)	Πιθανή μείωση ικανότητας ανταλλαγής καλίου ^{34,36} Ταυτόχρονη στοματική χορήγηση SPS μπορεί να οδηγήσει σε συστηματική αλκάλωση ³⁴⁻³⁵	Δεν συνιστάται ταυτόχρονη χρήση διά της στοματικής οδού για SPS και υδροξείδιο μαγνησίου ³⁵ Η συστηματική αλκάλωση μπορεί να αποφευχθεί με χορήγηση SPS από το ορθόν ³⁴⁻³⁶
Λίθιο	Πιθανή μείωση απορρόφησης λιθίου ³⁵	
Σορβιτόλη	Πιθανή εντερική νέκρωση	Δεν συνιστάται ταυτόχρονη χορήγηση
Θυροξίνη	Πιθανή μείωση απορρόφησης της θυροξίνης ³⁵	

2.8 Υπερδοσολογία

Η υπερδοσολογία μπορεί να οδηγήσει σε ηλεκτρολυτικές διαταραχές, όπως έλλειψη καλίου, ασβεστίου και μαγνησίου. Βιοχημικές διαταραχές που δύνανται να προκύψουν από υπερδοσολογία, μπορούν να δώσουν κλινικά σημάδια και συμπτώματα υποκαλιαιμίας. Σε περίπτωση υπερδοσολογίας θα πρέπει να ληφθούν κατάλληλα μέτρα για τη διόρθωση επιπέδων των ηλεκτρολυτών του ορού και να γίνει αφαίρεση της ρητίνης από το πεπτικό σύστημα με κατάλληλη χρήση καθαρτικών ή κλυσμάτων²⁹⁻³¹.

2.9 Ανεπιθύμητες ενέργειες

Εντερική διαταραχή

Το SPS μπορεί να προκαλέσει έως κάποιο βαθμό, γαστρικό ερεθισμό. Εάν χορηγούνται υψηλές δόσεις μπορεί να προκύψει ανορεξία, ναυτία, έμετος, δυσκοιλιότητα ή και κατά περιπτώσεις διάρροια. Έχουν αναφερθεί ενσφήνωση κοπράνων μετά από χορήγηση από το όρθον κυρίως σε παιδιά και γαστρεντερικές διαταραχές μετά από στόματος χορήγηση. Γαστρεντερική στένωση και απόφραξη εντέρου έχουν επίσης αναφερθεί, πιθανόν λόγω της συνιστάμενης παθολογίας ή ανεπαρκούς αραίωσης της ρητίνης. Γαστρεντερική ισχαιμία, ισχαιμική κολίτιδα, αιμορραγία ορθού, εξέλκωση του γαστρεντερικού σωλήνα ή νέκρωση, η οποία θα μπορούσε να οδηγήσει σε διάτρηση του εντέρου έχει αναφερθεί, η οποία είναι μερικές φορές θανατηφόρα. Η πλειονότητα των περιπτώσεων έχουν αναφερθεί με ταυτόχρονη χρήση της σορβιτόλης.

Διαταραχές του μεταβολισμού

Σύμφωνα με τις φαρμακολογικές δράσεις της και σχετικών κλινικών εκδηλώσεων, η ρητίνη μπορεί να προκαλέσει κατακράτηση νατρίου, υποκαλιαιμία και υποασβεστιαίμια. Έχουν αναφερθεί περιπτώσεις υπομαγνησισαιμίας^{22, 29-31}.

Διαταραχές του αναπνευστικού συστήματος, του θώρακα και του μεσοθωράκιου

Έχουν περιγραφεί περιπτώσεις οξείας βρογχίτιδας ή και βρογχοπνευμονίας που οφείλονται σε εισπνοή σωματιδίων SPS^{22, 29-31}.

2.10 Δοσολογία και τρόπος χορήγησης

Το SPS χορηγείται, είτε μέσω της στοματικής οδού, είτε μέσω του ορθού. Οι ακριβείς απαιτήσεις για κάθε ασθενή θα πρέπει να καθορίζονται με βάση την τακτική κλινική και βιοχημική αξιολόγηση ξεχωριστά. Κάθε δόση χορηγείται ως εναιώρημα σε μικρή ποσότητα νερού ή σιροπιού για καλύτερη γεύση. Η συνήθης σύσταση για ενήλικες είναι 15-60 g από μία έως τέσσερις φορές ημερησίως. Ένα γραμμάριο SPS περιέχει 4,1 mol νατρίου. Η in vivo αποτελεσματικότητα ανταλλαγής νατρίου-καλίου είναι περίπου 33 % και περίπου το 1/3 της πραγματικής περιεκτικότητας σε νάτριο της ρητίνης παραδίδεται στο σώμα. Η ποσότητα του υγρού κυμαίνεται από 20 mL έως 100 mL αναλόγως με την δόση ή υπολογίζεται ότι προστίθενται 3-4 mL υγρού ανά γραμμάριο ρητίνης. Πρέπει να παρθούν όλες οι προφυλάξεις για αναρρόφηση κατά την χορήγηση όπως η τοποθέτηση και διατήρηση του ασθενούς σε όρθια θέση³⁰. Στην περίπτωση χορήγησης από ορθό, αν και με λιγότερο ικανοποιητικά αποτελέσματα, η ρητίνη χορηγείται με μορφή κλύσματος που αποτελείται (για ενήλικες) από 30 έως 50 mg σε μία το πολύ δύο δόσεις με μεσοδιάστημα 6 ωρών. Κάθε δόση χορηγείται ως ένα γαλάκτωμα, σε θερμοκρασία σώματος, σε 100 mL υδατικού φορέα. Το κλύσμα ανακινείται και ακολουθείται από ένα κλύσμα καθαρισμού³¹. Τα διαλύματα του SPS θα πρέπει να παρασκευάζονται και να μην αποθηκεύονται πέραν των 24 ωρών. Το SPS σε σκόνη δεν πρέπει να θερμαίνεται, επειδή η θέρμανση μπορεί να μεταβάλλει τις ιδιότητες ανταλλαγής της ρητίνης. Η διάρκεια και η ένταση της θεραπείας εξαρτάται από την σοβαρότητα και την αντοχή της υπερκαλιαιμίας²².

Παιδιά και νάνοι

Σε μικρά παιδιά και νάνους συνιστάται μικρότερη δόση από αυτήν για ενήλικες. Μία κατάλληλη αρχική δόση είναι 1 g ανά κιλό βάρους σώματος ημερησίως σε οξεία υπερκαλιαιμία. Για θεραπεία συντήρησης, η δόση μπορεί να μειωθεί στο μισό.

Νεογνά:

Γίνεται χορήγηση μόνο μέσω ορθού. Η ελάχιστη αποτελεσματική δόση είναι εντός της περιοχής από 0,5 έως 1 g ανά κιλό βάρους σώματος. Το προκύπτον εναιώρημα θα πρέπει να αραιωθεί όπως και για τους ενήλικες.²⁷

2.11 Μονογραφία Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας

Η ρητίνη νατριούχο σουλφονικό πολυστυρένιο (sodium polystyrene sulfonate - SPS) είναι επίσημο φάρμακο της Ευρωπαϊκής, καθώς και της Αμερικάνικης, Φαρμακοποιίας.

Οι προδιαγραφές του SPS είναι:

- Χωριτικότητα ιονανταλλαγής (exchange capacity): 2,8 mmol – 3,4 mmol, ανά g ξηρής ουσίας
- Περιεκτικότητα (σε ρητίνη): 9,4 – 11,0%

Χαρακτηριστικά: εμφάνιση σχεδόν λευκής ή λαμπερής καφέ σκόνης.

Διαλυτότητα: πρακτικά αδιάλυτη στο νερό, στη αιθανόλη 96% και στο διχλωρομεθάνιο.

Ταυτοποίηση: Λήψη φάσματος IR με μορφή δισκίου και σύγκριση με το φάσμα αναφοράς SPS της Ευρωπαϊκής Φαρμακοποιίας. Επίσης έλεγχος του πρώτου παρουσία ιόντος νατρίου με αντίδραση με πυροαντιμονικό κάλιο (σχηματισμός λευκού ιζήματος).

Έλεγχοι:

α) Έλεγχος στυρενίου με μέθοδο HPLC, στατική φάση C18, κινητή φάση ακενιτρίλιο-νερό (1:1) και ανίχνευση στα 254 nm. Επιτρεπτό όριο 1 ppm.

β) Έλεγχος ασβεστίου με φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής σε $\lambda=422,7$ nm. Επιτρεπτό όριο 0,10%.

γ) Έλεγχος καλίου με φασματοσκοπία ατομική εκπομπής σε $\lambda= 766,5$ nm. Επιτρεπτό όριο 0,10%.

Έλεγχος βαρέων μετάλλων με την υδροχημική αντίδραση με θειακεταμίδιο σε όξινο περιβάλλον. Επιτρεπτό όριο 10 ppm.

Απώλεια κατά την ξήρανση: όριο 7,0% με θέρμανση σε φούρνο στους 105 °C.

Μικροβιακή επιμόλυνση: μέχρι 100 CFU ανά g αρνητικού κατά gram βακτηρίων.

Ποσοτικός προσδιορισμός:

Προσδιορισμός νατρίου με φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής στα 589 nm μετά από καύσης ρητίνης με θειικό οξύ στους 800 °C.

Προσδιορισμός ιονανταλλακτικής χωρητικότητας με παρασκευή εναιωρήματος ρητίνης σε πρότυπο διάλυμα K^+ και μετά την απομάκρυνση της ρητίνης με διήθηση και μέτρηση της εναπομένουσας ποσότητας ιόντων καλίου με φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΙΟΝΤΙΚΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

3.1 Γενικά

Οι χρωματογραφικές τεχνικές, και η ιοντική χρωματογραφία, ανήκουν στις μεθόδους διαχωρισμού και χρησιμοποιούνται για τον διαχωρισμό συστατικών αναλυτικών μιγμάτων, συνήθως πριν από τον προσδιορισμό τους με ενόργανες τεχνικές. Οι χρωματογραφικές τεχνικές είναι μία πληθώρα τεχνικών που μπορούν να διαχωρίσουν ουσίες με παραπλήσιες φυσικοχημικές ιδιότητες από σύνθετα μίγματα. Η αρχή των μεθόδων αυτών είναι η ίδια. Το δείγμα κινείται σε μία κινητή φάση (mobile phase) και διέρχεται μέσω μιας στατικής φάσης (stationary phase). Η κατακράτηση, από τη στατική φάση της στήλης, των συστατικών, είναι αναλογική της σειράς έκλουσής τους από αυτήν. Συνεπώς εξέρχονται σε διαφορετικούς χρόνους και στη συνέχεια μπορεί να γίνει ποσοτικός ή ποιοτικός προσδιορισμός τους³².

3.2 Ιστορική Αναδρομή

Όσον αφορά τις ιοντικές μεθόδους διαχωρισμού, χρησιμοποιούνται από τη βιομηχανική επανάσταση στην Ευρώπη, με σκοπό τη μείωση σκληρότητας του νερού. Στον δέκατο ένατο αιώνα, βρετανοί ερευνητές επεξεργάζονταν ορυκτά αργιλίου με θειικό ή ανθρακικό αμμώνιο προς ελευθέρωση ασβεστίου. Στις αρχές του εικοστού αιώνα, στήλες από ζεόλιθο χρησιμοποιήθηκαν για την αφαίρεση παρεμποδιστικών ιόντων ασβεστίου και μαγνησίου από διαλύματα για περαιτέρω προσδιορισμό θειικών ιόντων.³³ Η πρώτη συνθετική ιονανταλλακτική ρητίνη, με μεγαλύτερη χημική σταθερότητα από φυσικά ιονανταλλακτικά υλικά, όπως οι ζεόλιθοι, παρασκευάστηκε το 1935 από τους B. Adams και E. L. Holmes. Η ιοντική χρωματογραφία αναπτύχθηκε και κατά τη διάρκεια του "Manhattan project" για τον διαχωρισμό και καθαρισμό ραδιενεργών υλικών για την κατασκευή ατομικών βομβών. Το 1948 οι S. Moore και S. Stein δημοσίευσαν διαχωρισμό και ποσοτικό προσδιορισμό αμινοξέων με την τεχνική υγρής χρωματογραφίας με μηχανισμό ιονανταλλαγής και φωτομετρική ανίχνευση. Ο Peterson και ο Sober το 1956 ανέφεραν μία χρωματογραφική μέθοδο διαχωρισμού πρωτεϊνών βασισμένη σε ανταλλαγή ιόντων³⁴. Η σύγχρονη μορφή της ιοντικής χρωματογραφίας παρουσιάστηκε το 1975, μαζί με τον πρώτο ιοντικό χρωματογράφο, από τους Small και συν., ερευνητές της Dionex Corporation, με την ανάπτυξη μίας τεχνικής καταστολής της

αγωγιμότητας του υγρού έκλουσης, η οποία κατέστησε δυνατή την αγωγιμομετρική ανίχνευση³⁵. Το 1979 οι Gjerde και συν. δημοσιεύουν τον πρώτο προσδιορισμό ιόντων και το 1984 για πρώτη φορά γίνεται αποδεκτή μέθοδος προσδιορισμού ιοντικής χρωματογραφίας. Πρόκειται για μέθοδο ASTM για τον προσδιορισμό ανιόντων στο νερό. Σήμερα η τεχνική της ιοντικής χρωματογραφίας έχει ευρεία εφαρμογή σε αναλύτες στη φαρμακευτική ανάλυση, βιοτεχνολογία, περιβάλλον, γεωργία και άλλους τομείς.

Έως το 2000 η Αμερικάνικη Φαρμακοποιία-Εθνικό Συνταγολόγιο (USP-NF, United States Pharmacopeia - National Formulary) περιείχε μόνο λίγες μονογραφίες με μεθόδους ελέγχου με την τεχνική της ιοντικής χρωματογραφίας και δεν είχε γενικό κεφάλαιο για αυτήν την τεχνική³⁶. Τα τελευταία δέκα χρόνια ο αριθμός των μονογραφιών που περιγράφουν μεθόδους δοκιμής με την τεχνική της ιοντικής χρωματογραφίας έχουν αυξηθεί δραματικά π.χ. έλεγχος NaN_3 σε πρώτες ύλες. Επιπλέον η τρέχουσα USP-NF περιέχει δύο γενικά κεφάλαια για την ιοντική χρωματογραφία και τουλάχιστον τέσσερις μονογραφίες που περιέχουν μεθόδους ελέγχου με την τεχνική, υποδεικνύοντας την σημασία της ως μία χρωματογραφική τεχνική για τον έλεγχο φαρμακευτικών ουσιών, προϊόντων και εκδόχων.

3.3 Αρχή Τεχνικής

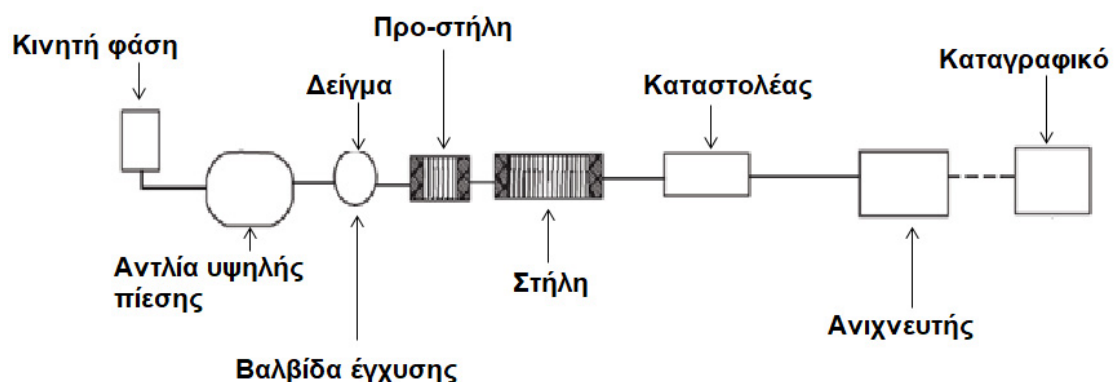
Ο διαχωρισμός στην ιοντική χρωματογραφία γίνεται βάσει αλληλεπιδράσεων μεταξύ ιοντικών πολικών αναλυτών, ιόντων στο υγρό έκλουσης και ιοντικών λειτουργικών ομάδων που έχουν ακινητοποιηθεί σε σταθερό φορέα. Ο μηχανισμός διαχωρισμού μπορεί να είναι κλασικός ιονανταλλαγής, αποκλεισμού μεγεθών, ιοντικών αλληλεπιδράσεων, ή και συνδυασμός αυτών για ταυτόχρονο προσδιορισμό ανιόντων και κατιόντων. Ο μηχανισμός ιονανταλλαγής βασίζεται στην ανταγωνιστική δέσμευση - έλξη μεταξύ των ιόντων και ο μηχανισμός αποκλεισμού μεγέθους στην απώθηση ομοίως φορτισμένων ιόντων αναλύτη και ιοντικών παραγώγων από τη χρωματογραφική στατική φάση. Ο διαχωρισμός που βασίζεται στην ανταλλαγή ιόντων είναι κυρίαρχος στην τρέχουσα ιοντική χρωματογραφία. Επιπρόσθετα έχει αυξηθεί το ενδιαφέρον σε χρωματογραφικές μεθόδους στις οποίες κατά τον διαχωρισμό, είτε με μηχανισμό ανταλλαγής ιόντων, είτε με αποκλεισμό μεγέθους, έχει γίνει τροποποίηση με υδροφοβικές ομάδες του αναλύτη της στατικής φάσης με την παρουσία οργανικών τροποποιητών (modifiers) στο έκλουσμα ή λόγω δημιουργίας ζεύγους ιόντος (ion-pair)

με αποτέλεσμα την καλύτερη διαχωριστική ικανότητα (resolution), που δεν θα μπορούσε να επιτευχθεί αλλιώς.

3.4 Οργανολογία

Ένα κλασικό σύστημα ιοντικής χρωματογραφίας αποτελείται κυρίως από έναν αυτόματο δειγματολήπτη, μία αντλία υψηλής πίεσης, μία βαλβίδα έγχυσης με βρόχο αντίστοιχου μεγέθους (συνήθως 10-250 μL), μία προστήλη, τη στήλη, έναν καταστολέα ή μία μεταστήλη αντίθετου φορτίου (ιονανταλλακτική ρητίνη), έναν ανιχνευτή και ένα σύστημα ελέγχου με λογισμικό επεξεργασίας και χώρο αποθήκευσης δεδομένων. Δεδομένου ότι η κινητή φάση περιέχει γενικώς αραιά οξέα, αλκάλια ή διαλύματα αλάτων, το υλικό κατασκευής των τμημάτων σε επαφή με την κινητή φάση, δεν περιέχει μέταλλο, αλλά το οργανικό πολυμερές PEEK (polyetheretherketone) που είναι ανθεκτικό σε όλη την περιοχή του pH.

Μετά την προκατεργασία το δείγμα εισάγεται μέσω της βαλβίδας έγχυσης. Μετά την προαιρετική χημική καταστολή ή τη μετα-στήλη παραγωγοποίησης, ο αναλύτης ανιχνεύεται με τη χρήση κατάλληλου συστήματος. Επειδή χρησιμοποιείται συνήθως ιοντική κινητή φάση, η καταστολή της αγωγιμότητας υποβάθρου είναι συνήθως απαραίτητη για αγωγιμομετρική ανίχνευση. Όταν χρησιμοποιείται ένας τέτοιος ανιχνευτής, τοποθετείται και καταστολέας, υπάρχουν όμως και συστήματα χωρίς καταστολέα σε αναλύσεις, όπου το νερό, ασθενή οξέα και βάσεις είναι τα μέσα έκλουσης. Στο σχήμα 3.1 παρουσιάζεται σχηματικό διάγραμμα ιοντικού χρωματογράφου.



Σχήμα 3.1: Σχηματικό διάγραμμα ενός τυπικού συστήματος ιοντικής χρωματογραφίας³⁷

3.5 Μηχανισμός ιοντανταλλαγής

Η ιοντική χρωματογραφία περιλαμβάνει διαχωρισμό ιοντικών ή και πολικών αναλυτών με στατική φάση ιοντανταλλακτικές ρητίνες, που διαθέτουν αντίθετου φορτίου ομάδες από αυτό του αναλύτη. Οι δραστικές αυτές ομάδες είναι χημικώς προσδεμένες στο πολυμερές υπόστρωμα του ιοντανταλλάκτη που είναι μη διαλυτός. Στις δραστικές ομάδες του ιοντανταλλάκτη υπάρχουν αντισταθμιστικά ιόντα ίσου και αντίθετου φορτίου, τα οποία συγκρατούνται με ηλεκτροστατικές δυνάμεις και καθιστούν τη ρητίνη ηλεκτροστατικά ουδέτερη. Η κατακράτηση των ιόντων αναλύτη είναι και αυτή ηλεκτροστατικής φύσης. Προφανώς μία στήλη για διαχωρισμό κατιόντων, (κατιοανταλλακτική στήλη), περιέχει αρνητικά φορτισμένες δραστικές ομάδες και μία στήλη για διαχωρισμό ανιόντων (ανιοανταλλακτική), περιέχει θετικά φορτισμένες. Η δέσμευση ιόντων από τη στατική φάση οδηγεί στην απελευθέρωση αντισταθμιστικών ιόντων της στήλης, στην κινητή φάση με αποκατάσταση της εξής ισορροπίας:



Όπου x και y οι αριθμοί οξειδωσης ομάδας της ρητίνης και ιόντος αναλύτη, αντίστοιχα, S ο αναλύτης, E το αντισταθμιστικό ιόν και R η λειτουργική- δραστική ομάδα της ρητίνης.

Η σταθερά ισορροπίας της αντίδρασης περιγράφεται από την εξίσωση 3.2.

$$K_E^S = \frac{([S^Y]_R)^X * ([E^X]_S)^Y}{([S^Y]_S)^X * ([E^X]_R)^Y} \quad (3.2)$$

Η παραπάνω σταθερά εκφράζει τη χημική συγγένεια της ρητίνης με το ιόν του αναλύτη. Αν η σταθερά αυτή έχει μεγάλη τιμή, τότε υπάρχει μεγάλη τάση κατακράτησης από τη στατική φάση και αν όχι, τότε συμβαίνει το αντίθετο. Χρησιμοποιώντας ένα ιόν αναφοράς μπορούν να συγκριθούν πειραματικά οι λόγοι κατανομής για διάφορα ιόντα σε έναν συγκεκριμένο τύπο ρητίνης. Κατά την έκλουση, η συγκέντρωση του υδατικού διαλύματος των αντισταθμιστικών ιόντων είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή των ιόντων του αναλύτη στην κινητή φάση. Επιπλέον η ιοντανταλλακτική ρητίνη περιέχει αρκετά μεγάλο αριθμό θέσεων ανταλλαγής σε σχέση με τον αριθμό των ιόντων του αναλύτη.

Θα μπορούσαμε να πούμε πως οι συγκεντρώσεις των αντισταθμιστικών ιόντων στην κινητή φάση και στην στατική παραμένουν σταθερές και η εξίσωση 3.2 μπορεί να γραφεί:

$$K_D = \frac{[S^Y]_R}{[S^Y]_S} = \frac{C_S}{C_M} \quad (3.3)$$

Όπου K_D ο συντελεστής κατανομής.

Η δέσμευση του αναλύτη από τη στατική φάση και η εκρόφηση από τα ιόντα του υγρού εκλούσεως συνεχίζεται καθώς αυτά μετακινούνται κατά μήκος της στήλης, με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό λόγω ανταλλαγής ιόντων³⁸. Ο μηχανισμός στην περίπτωση ανιονανταλλαγής και κατιονανταλλαγής είναι όμοιος. Τα ιόντα του αναλύτη διαχέονται κοντά στα ιόντα αντίθετου φορτίου της στατικής φάσης και δεσμεύονται από αυτά με ηλεκτροστατικές δυνάμεις Coulomb. Η δέσμευσή τους ευνοείται θερμοδυναμικά λόγω της μεγάλης διαφοράς στην ποσότητα των ιόντων του αναλύτη και των άλλων ανταγωνιστικών ιόντων που υπάρχουν στο υγρό έκλουσης. Η κατακράτηση διαφορετικών ιόντων από τη στατική φάση δεν είναι η ίδια, με αποτέλεσμα να εξέρχονται από αυτήν σε διαφορετικούς χρόνους ή ακόμα και να χρειάζονται διαφορετικό εκλουστικό μέσο για την έκλουσή τους. Όσο μεγαλύτερο είναι το φορτίο του ιόντος, τόσο μεγαλύτερη θα είναι η έλξη με τη στατική φάση και τόσο μεγαλύτερος θα είναι ο χρόνος ανάρτησης. Έτσι ένας μονοσθενής αναλύτης, όπως για παράδειγμα ένα ιόν χλωρίου, θα συγκρατείται ασθενέστερα από έναν δισθενή, π.χ. ένα θειικό ιόν. Στην δεύτερη περίπτωση θα χρειαστεί πιθανώς μία μεγαλύτερη συγκέντρωση ιόντων στο υγρό έκλουσης για να μετατοπίσει το ιόν από τη στατική φάση. Στην περίπτωση ιόντων ίδιου φορτίου τα πράγματα περιπλέκονται. Θα περιμέναμε να παίζει ρόλο η πυκνότητα φορτίου, καθώς αυτή είναι ανάλογη του μεγέθους. Ένα μεγαλύτερο, σε μέγεθος ιόν (π.χ. ιόν χλωρίου) θα έχει μικρότερη πυκνότητα φορτίου από ένα μικρότερο (π.χ. ιόν φθορίου). Γι' αυτόν το λόγο το μικρότερο σε μέγεθος ιόν αναμένεται να συγκρατηθεί από τη στατική φάση δυνατότερα από το μεγαλύτερο, απαιτώντας μεγαλύτερη συγκέντρωση υγρού έκλουσης για να μετατοπιστεί κατά μήκος της στήλης, με αποτέλεσμα να εξέλθει σε διαφορετικό χρόνο. Όμως υπόθεση της εξίσωσης του Coulomb (εξίσωση 3.4) είναι ότι τα ιόντα είναι σημειακά φορτία, πράγμα που δεν συμβαίνει στην πραγματικότητα, οπότε θα πρέπει να λάβουμε υπόψη την πυκνότητα φορτίου στην επιφάνειά τους. Αν

διαχωρίζουμε ιόντα χλωρίου, φθορίου και βρωμίου, εφόσον όλα έχουν το ίδιο φορτίο, θα αναμέναμε να εξέλθουν πρώτα τα ιόντα βρωμίου, εφόσον είναι τα μεγαλύτερα σε μέγεθος και έχουν τη μικρότερη πυκνότητα φορτίου. Ύστερα τα ιόντα χλωρίου και τέλος τα ιόντα φθορίου τα οποία θα κατακρατούνταν δυνατότερα από τη στήλη. Βέβαια στην πραγματικότητα ισχύει η αντίστροφη σειρά έκλουσης σε στήλη IonPac AS11 με υδροξείδιο του νατρίου ως εκλουστικό μέσο³⁹. Τα μικρότερα ιόντα αναμένονται να εξέλθουν πρώτα. Ομοίως και για δισθενή και τρισθενή⁴⁰. Κρίσιμο ρόλο παίζουν τα μόρια του διαλύτη και συγκεκριμένα του νερού καθώς είναι ο πιο κοινός διαλύτης της κινητής φάσης. Ένα ιόν στην κινητή φάση δεν βρίσκεται μόνο του αλλά είναι επιδιαλυτωμένο, ή πιο συγκεκριμένα στην περίπτωση της υδατικής κινητής φάσης, εφυδατωμένο. Κάθε ιόν τυχαίνει διαφορετικής επιδιαλύτωσης, μέσω δημιουργίας δεσμών φύσης Van der Waals, δεσμών υδρογόνου, ιόντων-διπόλου ή και διπόλου-διπόλου, οι οποίοι εξαρτώνται από τη φύση και το φορτίο του ιόντος με συνέπεια τη δημιουργία σφαιρών ενυδάτωσης. Το μέγεθος της σφαίρας ενυδάτωσης είναι αναλογικό της πυκνότητας φορτίου του ιόντος. Όταν ένα ιόν αναλύτη δεσμεύεται από τη στατική φάση, η ελεύθερη ενέργεια Gibbs μειώνεται λόγω ελκτικής δύναμης, όμως απαιτείται ενέργεια για τη διάλυση της ενυδάτωσής του. Κατά την απελευθέρωση του αντισταθμιστικού ιόντος ίδιου φορτίου συμβαίνει το ίδιο, δηλαδή κατά την απελευθέρωση από τη στατική φάση και κατά την ενυδάτωσή του. Η συνολική μεταβολή της ενέργειας Gibbs είναι συνδυασμός αυτών των επιμέρους βημάτων. Ένα μικρό σχετικά ιόν θα έχει μεγαλύτερη πυκνότητα φορτίου με αποτέλεσμα να δημιουργείται μεγαλύτερη σφαίρα ενυδάτωσης γύρω του, οδηγώντας σε μεγαλύτερη μείωση της ΔG . Έτσι ένα ιόν (π.χ. ιόν φθορίου) εξέρχεται πρώτο από τη στήλη από ένα μεγαλύτερο (ιόν βρωμίου) λόγω μεγαλύτερης μείωσης της ΔG ως αποτέλεσμα της εκτεταμένης ενυδάτωσης που υφίσταται. Ιόντα που περιέχουν οξυγόνο μπορούν να σχηματίσουν σημαντικά μεγάλη σφαίρα ενυδάτωσης από ό,τι μπορεί να αναμένεται από την πυκνότητα φορτίου τους. Η δημιουργία δεσμών υδρογόνου με τα μόρια του νερού καθώς και ισχυροί σχετικά δεσμοί ιόντος δίπολου και δίπολου-δίπολου οδηγούν σε μεγαλύτερη ενυδάτωση τέτοιων ιόντων, με αποτέλεσμα τη μεγάλη μείωση ΔG κατά την μετατόπισή τους στη στήλη. Το οξικό ιόν εξέρχεται πρώτο από το ιόν χλωρίου και βρωμίου, παρόλο που αυτά είναι μικρότερα σε μέγεθος. Η πραγματική σειρά έκλουσης δεν μπορεί να προβλεφθεί με ακρίβεια παρά μόνο μπορεί να γίνει μία αρχική υπόθεση.

$$f = \frac{q_1 q_2}{\epsilon r^2} \quad (3.4)$$

3.6 Στήλες

Το υλικό πλήρωσης στηλών στην ιοντική χρωματογραφία είναι εν γένει ρητίνες ιονανταλλαγής. Οι ρητίνες αποτελούνται από ένα μη διαλυτό υπόστρωμα, οργανικής ή ανόργανης φύσης, από τις δραστικές ιονανταλλακτικές ομάδες και τα αντισταθμιστικά τους φορτία που όπως προαναφέρθηκε διατηρούν την ουδετερότητα της στήλης. Επιθυμητό είναι μία στήλη να έχει χημική σταθερότητα σε ευρεία περιοχή του pH, μεγάλη μηχανική αντοχή, αντίσταση στην αποσύνθεση κατά την πλήρωση και την ροή της κινητής φάσης και επιπλέον ικανοποιητική ταχύτητα ανταλλαγής ιόντων στην ιοντική χρωματογραφία. Αρχικά η στήλη πληρώνεται με μικρά πορώδη σφαιρίδια. Αυτά τα σφαιρίδια σχηματίζονται με τον συμπολυμερισμό στυρενίου και διβινυλοβενζολίου. Το διβινυλοβενζόλιο βοηθά στη διασταυρούμενη σύνδεση η οποία προσδίδει μηχανική σταθερότητα και καθορίζει το μέγεθος διόγκωσης της ρητίνης και τη διαπερατότητά της από τα ιόντα. Μεγάλο ποσοστό μπορεί να οδηγήσει σε φαινόμενα αποκλεισμού και μικρό σε ασταθείς ρητίνες. Το ποσοστό διβινυλοβενζολίου καθορίζεται στο αρχικό μίγμα και κυμαίνεται από 4 έως 12% και είναι συνήθως γύρω στο 8%. Αν προστεθεί στο αρχικό μίγμα ένας μη αναμίξιμος διαλύτης με νερό, τότε δημιουργείται μία στήλη με μακροπορώδη πολυμερή. Μακροπορώδεις ρητίνες χρησιμοποιούνται για κατασκευή στηλών μεγάλης χωρητικότητας και για ιοντική χρωματογραφία ζεύγους ιόντων (ion-pair). Στη συνέχεια για να γίνει το πολυμερές δραστικό ως προς τα ιόντα του αναλύτη γίνεται χημική σύνδεση με όξινης ή βασικές δραστικές ομάδες στο πλέγμα του. Για κατιοανταλλακτικές ρητίνες η συνηθέστερη ομάδα είναι η σουλφονική ή όξινη σουλφονική, με αντισταθμιστικό πρωτόνιο. Η χωρητικότητα της ρητίνης εξαρτάται και από την ποσότητα της δραστικής ομάδας που έχει προστεθεί. Μεγάλης χωρητικότητας ρητίνες έχουν μεγαλύτερα όρια ανίχνευσης και μικρότερη αντοχή σε πίεση εν αντιθέσει με της μικρότερης χωρητικότητας ρητίνες που έχουν εφαρμογή σε αναλυτικές μετρήσεις. Επίσης, εκτός από τη σουλφονική ομάδα, εφαρμογή έχει και η καρβοξυλική ομάδα με την οποία μπορεί να γίνει ρύθμιση της χωρητικότητας της στήλης με ρύθμιση αντίστοιχα του pH. Για ανιοανταλλακτικές ρητίνες η συνηθέστερη ομάδα που προσδένεται χημικά στο πολυμερές είναι το τεταρτοταγές αμμώνιο ή τεταρτοταγής αμίνη. Αντίστοιχα και εδώ οι μεγάλης χωρητικότητας ρητίνες έχουν μεγαλύτερα όρια ανίχνευσης και μικρότερη

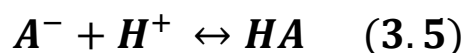
αντοχή σε πίεση εν αντιθέσει με τις μικρής χωρητικότητας ρητίνες που έχουν εφαρμογή σε αναλυτικές μετρήσεις. Τριτοταγείς, δευτεροταγείς και πρωτοταγείς αμινομάδες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ρύθμιση χωρητικότητας της στήλης σε σχέση με το pH. Δεν μπορεί να γίνει έλεγχος της χωρητικότητας με τον έλεγχο απόδοσης αντιδράσεων τροποποίησης, όπως στις κατιοανταλλακτικές ρητίνες. Για την παρασκευή χαμηλής χωρητικότητας ρητινών χρησιμοποιείται η τεχνική της επιφανειακής συσσωμάτωσης.

Τα πορώδη σφαιρίδια πολυμερών ως υλικό πλήρωσης έχουν μειονέκτημα τη μείωση του ρυθμού διάχυσης των μορίων του αναλύτη μέσα από τους πόρους τους και την συμπίεσότητά τους. Ένα νέο υλικό πλήρωσης στηλών που δεν εμφανίζει αυτά τα μειονεκτήματα είναι τα μη πορώδη σφαιρίδια. Έχουν μέγεθος 30-40 μm, είναι υάλινα ή από πολυμερές υλικό και η επιφάνειά τους καλύπτεται από συνθετική ρητίνη. Ένα άλλο υλικό πλήρωσης είναι μικροσωματίδια πυριτίας καλυμμένα με στρώμα ιονανταλλάκτη μέσω ολιγομερών. Το πλεονέκτημα αυτών είναι η επίτευξη μεγαλύτερης απόδοσης σε σχέση με τα πορώδη σωματίδια, λόγω ταχύτερης διάχυσης αναλύτη στο υπόστρωμα. Βέβαια υστερούν στη χημική σταθερότητα, αφού είναι ασταθή σε υψηλό pH, καθώς και στην κατασκευή στηλών με διαφοροποιήσεις στη χωρητικότητα.

3.7 Κινητή Φάση

Συνήθως η κινητή φάση που χρησιμοποιείται στην ιοντική χρωματογραφία αποτελείται από υδατικά διαλύματα οξέων, βάσεων ή διαλυμάτων αλάτων και δεν περιέχει οργανικούς διαλύτες. Οι ακραίες τιμές pH που παρέχονται από τα ισχυρά οξέα ή τις ισχυρές βάσεις, βοηθούν στη μετατροπή πολικών μορίων σε ιόντα. Βέβαια θα πρέπει σε τέτοια περιβάλλοντα ο αναλύτης να είναι σταθερός. Παράδειγμα είναι ο ιονισμός ουδέτερων σακχάρων και αλδιτολών σε υψηλό pH, με υδροξείδιο του νατρίου στην περίπτωση της υψηλής απόδοσης ανιοντικής χρωματογραφίας (High Performance Anion Exchange Chromatography, HPAEC). Βέβαια στη φαρμακευτική ανάλυση οι αναλύτες δεν είναι σταθερής μορφής σε μεγάλο εύρος pH και προτιμώνται διαλύματα αλάτων ή ρυθμιστικά διαλύματα σταθερού pH. Η χρησιμοποίηση οξέων ή βάσεων προτιμάται στην περίπτωση καταστέλλομενης χρωματογραφίας. Η έκλυση μπορεί να είναι ισοκρατική, είτε βαθμιδωτή με αύξηση της συγκέντρωσης αλάτων, ή με μεταβολή του pH. Τα ιόντα που δεσμεύονται ασθενέστερα θα παραληφθούν πρώτα από τη στήλη. Αυτά που δεσμεύονται ισχυρότερα εκκλύονται με αλλαγή των συνθηκών έκλυσης,

όπως υψηλότερη συγκέντρωση διαλύματος αλάτων ή διαφορετικό pH σε δεύτερο χρόνο από τη στήλη. Συνήθως όταν χρησιμοποιείται βαθμιδωτή έκλουση, η κορυφή αναμένεται να είναι ελαφρώς ασυμμετρική και ο παράγοντας ουράς μεγαλύτερος της μονάδας. Η αλλαγή του pH δύναται να αλλάξει τον ιονισμό του αναλύτη και πιθανώς των λειτουργικών-δραστικών ομάδων στη στήλη. Το πόσο ιονισμένο θα είναι ένα ιόν ουσιαστικά εξαρτάται από την pKa του συζυγούς οξέος κατά τη διάστασή του (εξίσωση 3.5).



Όσο περισσότερο απέχει (μεγαλύτερο) το pH του υγρού έκλουσης από την pKa του οξέος, τόσο περισσότερο θα βρίσκεται στην ιονισμένη του μορφή. Συνεπώς ένα ανιόν οξέως με χαμηλότερη τιμή pKa, θα εξέρχεται μετά από ένα άλλο με υψηλότερη τιμή pKa. Ομοίως ένα κατιόν με χαμηλότερη τιμή pKb, θα εκλούεται μετά από ένα άλλο με υψηλότερη τιμή pKb. Μερικές φορές, μικρές ποσότητες οργανικών διαλυτών προστίθενται στην κινητή φάση για επίτευξη καλύτερου διαχωρισμού, με μείωση υδροφοβικών αλληλεπιδράσεων με την πλήρωση της στήλης και για βελτίωση χρωματογραφικών παραμέτρων, όπως ο αριθμός θεωρητικών πλακών, η διαχωριστική ικανότητα (resolution), και το σχήμα κορυφών. Η επίδραση των οργανικών "τροποποιητών" γίνεται στη διηλεκτρική σταθερά του μέσου έκλουσης (εξίσωση Coulomb 3.4). Η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς, ϵ , για καθαρό νερό έχει τιμή περίπου 80 στους 20 °C και 50 για τους περισσότερους οργανικούς διαλύτες. Όταν γίνεται λοιπόν προσθήκη οργανικού διαλύτη στο υγρό έκλουσης, μειώνεται η τιμή της διηλεκτρικής σταθεράς του μέσου έκλουσης. Αυτή η μείωση έχει ως αποτέλεσμα την ισχυρότερη δέσμευση των ιόντων του αναλύτη, αλλά και της κινητής φάσης, από τη στατική φάση και αλλαγή του μοτίβου έκλουσης. Επίσης με αλλαγή της τιμής της διηλεκτρικής σταθεράς, επηρεάζεται η ενυδάτωση ιόντων στην κινητή φάση, αλλάζοντας την ισχύ των δυνάμεων δίπολου-δίπολου, ιόντος-δίπολου και των δεσμών υδρογόνου και ο οργανικός διαλύτης εισέρχεται στο πλέγμα της δομής του νερού. Παρόλα αυτά δεν υπάρχει σημαντική διαφορά όταν προστίθενται μικρές ποσότητες οργανικού διαλύτη. Τα πολικά οργανικά μόρια του διαλύτη που προστίθεται, ειδικά αν περιέχουν άτομα οξυγόνου, εισέρχονται στη σφαίρα ενυδάτωσης με δημιουργία δεσμών υδρογόνου. Βέβαια δεν μπορούν να εισέλθουν σε εκτεταμένο δίκτυο δεσμών υδρογόνου λόγω της υδροφοβικής φύσης και του μεγάλου μεγέθους τους, με αποτέλεσμα να

αποδυναμώνουν τη δομή του νερού. Κατά συνέπεια επέρχεται μείωση της ελεύθερης ενέργειας Gibbs, καθώς απαιτείται μικρότερη ενέργεια όταν το ιόν του αναλύτη ελευθερώνεται στην κινητή φάση. Επίσης η παρουσία οργανικού διαλύτη στην κινητή φάση, μειώνει την υδροφοβική αλληλεπίδραση μεταξύ αναλύτη και στατικής φάσης. Ειδικότερα εάν ο αναλύτης έχει μία υδροφοβική επιφάνεια, όπως στην περίπτωση πολλών φαρμακευτικών ουσιών, εμφανίζεται συχνά ευρεία κορυφή λόγω της αλληλεπίδρασης με την υδροφοβική επιφάνεια της στατικής φάσης. Η προσθήκη μικρής ποσότητας οργανικού διαλύτη πολλές φορές οδηγεί σε περισσότερο οξείες κορυφές, βελτιώνοντας με αυτό τον τρόπο τα χαρακτηριστικά κορυφών και άλλων χρωματογραφικών παραμέτρων, όπως τη διαχωριστική ικανότητα, μειώνοντας την επίδραση υδροφοβικότητας.

Οι σταθερές διάστασης των ιόντων του αναλύτη μεταβάλλονται με τη μεταβολή της θερμοκρασίας, αν και αυτές οι μεταβολές είναι συνήθως μικρές. Η μεταβολή της θερμοκρασίας δεν έχει σχεδόν καμία επίδραση στο χρωματογραφικό προφίλ όταν οι αναλύτες είναι πλήρως ιονισμένοι υπό τις εκάστοτε συνθήκες. Ωστόσο οι χρόνοι κατακράτησης αναλυτών οι οποίοι δεν είναι πλήρως ιονισμένοι, μεταβάλλονται ελαφρώς με τη μεταβολή της θερμοκρασίας. Αυτή η εξάρτηση των χρόνων ανάσχεσης, συνήθως δεν αποτελεί πρόβλημα, καθώς στη φαρμακευτική ανάλυση χρησιμοποιείται ένα πρότυπο αναφοράς. Έτσι η χρωματογραφία ιοντανταλλαγής διεξάγεται κοντά σε θερμοκρασία δωματίου χωρίς να απαιτείται μεγάλη ακρίβεια.

Ομοίως, ούτε η πίεση επηρεάζει τα χρωματογραφικά προφίλ, καθώς η επίδραση της πίεσης στις σταθερές διαχωρισμού, είναι αμελητέα. Παρόλα αυτά οι στήλες θα πρέπει να λειτουργούν στη βέλτιστη πίεση λειτουργίας τους ή στο βέλτιστο εύρος για τη διατήρηση των υψηλών επιδόσεών τους.

Εφόσον η ιοντική χρωματογραφία περιλαμβάνει τη δέσμευση και αποδέσμευση ιόντων αναλύτη στη στατική φάση, είναι κρίσιμο τα ιόντα αυτά να είναι σε θέση να διαχέονται στο χρωματογραφικό υπόστρωμα, να δεσμεύονται από αυτό και να διαχέονται από αυτό όταν ελευθερώνονται. Έτσι η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης πρέπει να είναι τέτοια ώστε να επιτρέπει τη διάχυση των ιόντων. Τα μικρότερα ιόντα δεν χρήζουν τέτοιας προσοχής, καθώς η διάχυσή τους είναι μεγάλη. Τα σχετικώς μεγαλύτερα ιόντα χρειάζονται μεγαλύτερο χρόνο για να εξέλθουν από τη στήλη και στις περισσότερες περιπτώσεις χρησιμοποιείται ροή κινητής φάσης από 0,5 mL έως 2,0 mL ανά min. Αν χρησιμοποιηθούν μεγαλύτερες τιμές ροής, μπορεί να παρατηρηθούν αλλαγές στα

χρωματογραφήματα λόγω ελλιπούς δέσμευσης και αποδέσμωσης ιόντων αναλύτη από τη στατική φάση.

Η επιλογή της κινητής φάσης γίνεται με βάση το είδος της στατικής φάσης, το είδος του ανιχνευτή, την ύπαρξη καταστολέα και τη φύση του ιόντος του αναλύτη (μέγεθος, σταθερά ιονισμού και φορτίο). Το εκλουστικό ιόν είναι θεμιτό να έχει την ικανότητα να μετατρέπεται μη-αντιστρεπτά στην μη ιονισμένη μορφή του. Στην ανάλυση ανιόντων το υδροξύλιο χρησιμοποιείται λόγω αυτής της ικανότητας και η μικρή εκλουστική ικανότητά του που θα απαιτούσε μεγάλες συγκεντρώσεις και κατ'επέκταση μεγάλο σήμα υπόβαθρου, αντιμετωπίζεται με μικρής χωρητικότητας στήλες και καταστολή. Ευρύτερα χρησιμοποιείται ως κινητή φάση, μίγμα ανθρακικών (ανθρακικά, όξινα ανθρακικά και υδροξύλιο) της οποίας η εκλουστική ικανότητα μπορεί να ρυθμιστεί με ρύθμιση του pH. Στην ανάλυση κατιόντων χρησιμοποιούνται υδατικά διαλύματα ανόργανων οξέων (θειικό οξύ, νιτρικό οξύ, υδροχλωρικό οξύ) ως εκλουστικά μέσα. Σε σύστημα καταστολής όπου δεν είναι συμβατό με ανόργανα οξέα, χρησιμοποιείται υδατικό διάλυμα τριφθοροξικού οξέος ή μεθανοσουλφονικού οξέος. Το πρωτόνιο έχει τα αντίστοιχα πλεονεκτήματα με το υδροξύλιο. Και αυτό όμως έχει μικρή εκλουστική ικανότητα με αποτέλεσμα να χρειάζεται μεγάλη συγκέντρωση κινητής φάσης. Για δύσκολως εκλουόμενα κατιόντα χρησιμοποιείται μ-φαινυλοδιαμίνη ή διαμινοπρωπιονικό οξύ, το οποίο καθίσταται μονοσθενές και δισθενές σε διάφορες αναλογίες εξαρτώμενες από το pH και μετά τη διέλευσή του από τον καταστολέα, μετατρέπεται σε άλας με μηδενική αγωγιμότητα.

Στην περίπτωση της μη καταστελλόμενης ιοντικής χρωματογραφίας θα πρέπει το εκλουστικό μέσο να έχει μεγάλη εκλουστική ικανότητα, ώστε να μην χρησιμοποιούνται μεγάλες συγκεντρώσεις, πράγμα που θα επηρέαζε την αγωγιμότητα του υποβάθρου. Επιθυμητό είναι να υπάρχει διαφορά στην ισοδύναμη αγωγιμότητα αναλύτη και εκλούσματος για λόγους ευαισθησίας στην ανίχνευση. Προτιμώνται τα οξέα και οι βάσεις από τα άλατά τους για την περίπτωση ανιόντων ή κατιόντων, αντίστοιχα.

3.8 Ανιχνευτές

Οποιοσδήποτε κατάλληλος ανιχνευτής μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό αναλυτών που έχει προηγηθεί διαχωρισμός τους από σύστημα ιοντικής χρωματογραφίας. Η εκάστοτε επιλογή ανιχνευτή εξαρτάται από τη φύση του αναλύτη. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν οπτικοί ανιχνευτές, ηλεκτροχημικοί

και άλλοι. Μερικοί από τους οπτικούς ανιχνευτές είναι ο ανιχνευτής δείκτη διάθλασης (Refractive Index Detector, RI), ο ανιχνευτής υπεριώδους (Ultra Violet, UV) για αναλύτες που απορροφούν στην υπεριώδη περιοχή, φθορισμομετρικός ανιχνευτής για αναλύτες που εμφανίζουν φθορισμό. Ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές μπορεί να είναι αμπερομετρικοί συνεχούς ρεύματος ή παλμικοί, αγωγιμομετρικοί και ποτενσιομετρικοί. Στην ιοντική χρωματογραφία χρησιμοποιούνται κυρίως ο αγωγιμομετρικός ανιχνευτής και ο παλμικός αμπερομετρικός ανιχνευτής. Αυτό δεν σημαίνει πως δεν χρησιμοποιούνται άλλου είδους ανιχνευτές, καθώς αυτό καθορίζεται από την εκάστοτε εφαρμογή και όπως αυτή το υπαγορεύει⁴¹.

3.8.1 Αγωγιμομετρικός ανιχνευτής

Η ανίχνευση βασίζεται στην εφαρμογή δυναμικού σε δύο ηλεκτρόδια που βρίσκονται εντός μίας κατάλληλης κυψελίδας από την οποία διέρχεται το έκλουσμα της στήλης, και στη μέτρηση της έντασης του παραγόμενου ρεύματος. Η ένταση του ρεύματος στο μετρούμενο διάλυμα είναι ανάλογη της αγωγιμότητας του διαλύματος. Η αγωγιμότητα του διαλύματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ιόντων σε αυτό και της ισοδύναμης αγωγιμότητας (η οποία είναι ανάλογη της ευκινησίας του ιόντος και κατ'επέκταση του μεγέθους) του κάθε ιόντος, καθώς κάθε ιόν συνειφέρει στη συνολική αγωγιμότητα ανεξάρτητα από τα υπόλοιπα. Τα ιόντα του υγρού έκλουσης παράγουν τη γραμμή υποβάθρου αγωγιμότητας ενός χρωματογραφικού προφίλ. Η επιπλέον αγωγιμότητα λόγω παρουσίας αναλύτη οδηγεί σε χρωματογραφική κορυφή η οποία είναι ανάλογη της συγκέντρωσής του. Διαφορετικοί αναλύτες στην ίδια συγκέντρωση, παρουσιάζουν διαφορετικά εμβαδά ή ύψη κορυφών λόγω διαφοράς στην ισοδύναμη αγωγιμότητά τους. Ένα πρόβλημα είναι ότι η αγωγιμότητα των ιόντων του υγρού έκλουσης είναι πολλές φορές σημαντικά μεγαλύτερη από αυτήν των ιόντων του αναλύτη καθώς οι συγκεντρώσεις των ιόντων στα εκλούσματα είναι έως και 100 φορές μεγαλύτερες. Βέβαια κατά την έκλουση ιόντων αναλύτη θα παρατηρηθεί μεταβολή, αύξηση ή μείωση ανάλογα με τη σχέση των ισοδύναμων αγωγιμοτήτων των εκάστοτε ιόντων, της έντασης του ρεύματος που θα είναι ανάλογη της συγκέντρωσής τους. Εάν πρόκειται για καταστελλόμενη χρωματογραφία, τότε τα ιόντα της κινητής φάσης έχουν απομακρυνθεί και η μετρούμενη ένταση του ρεύματος οφείλεται στον αναλύτη.

3.8.2 Παλμικός αμπερομετρικός ανιχνευτής

Η αμπερομετρική ανίχνευση βασίζεται στην οξειδωση ή αναγωγή των ιόντων που εκκλύονται, σε ηλεκτρόδιο εργασίας κατάλληλα τοποθετημένο εντός της κυψελίδας ροής. Ο παλμικός αμπερομετρικός ανιχνευτής (Pulsed Amperometric Detector- PAD) χρησιμοποιείται συνήθως με χρωματογραφία ανταλλαγής ιόντων υψηλής απόδοσης και έχει αποδειχθεί χρήσιμο εργαλείο για την ανίχνευση υδατανθράκων, αμινοξέων, θειολών, αλδιτολών και πεπτιδίων χωρίς να προηγηθεί παραγωγοποίηση. Σε υψηλό pH οι αναλύτες οξειδώνονται στην επιφάνεια ηλεκτροδίου χρυσού με εφαρμογή παλμών θετικού δυναμικού και το παραγόμενο ρεύμα είναι ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη, ο οποίος ανιχνεύεται ή και ποσοτικοποιείται. Όταν ένα δυναμικό εφαρμόζεται στην επιφάνεια του ηλεκτροδίου, τα προϊόντα οξειδωσης καθιζάνουν στην επιφάνεια μολύνοντάς το με αποτέλεσμα την απώλεια σήματος αναλύτη. Γιαυτό η επιφάνεια του ηλεκτροδίου καθαρίζεται από επόμενους παλμούς σε καθορισμένους χρόνους μετά την ανίχνευση, με σκοπό τον καθαρισμό του ηλεκτροδίου και την εξισορρόπηση του⁴².

3.9 Καταστολή

Οι καταστολείς έχουν γίνει αναπόσπαστο τμήμα της ιοντικής χρωματογραφίας εφόσον η πληθώρα των ιοντικών χρωματογράφων συνοδεύεται από αγωγιμομετρικό ανιχνευτή. Ο ρόλος του καταστολέα είναι να μειώσει με χημικό τρόπο τη συμβολή του εκλουστικού μέσου στην ανίχνευση πριν από αυτήν. Υπάρχει και ηλεκτρονικός τρόπος μείωσης του σήματος υπόβαθρου, όμως σε αυτήν την περίπτωση γίνεται αφαίρεση υπόβαθρου και όχι καταστολή.

Κατά τον διαχωρισμό στη στήλη, τα ιόντα του αναλύτη και τα εκλουστικά ιόντα που κατανέμονται μεταξύ στατικής και κινητής φάσης, θα πρέπει να είναι σταθερά σε άθροισμα ίσο με το σύνολο των αντισταθμιστικών ιόντων για τη διατήρηση της ηλεκτρικής ουδετερότητας. Συνεπώς όταν εκκλύονται τα ιόντα του αναλύτη, η συγκέντρωση των εκλουστικών ιόντων μειώνεται αντίστοιχα. Όπως έχει αναφερθεί και στο υποκεφάλαιο των ανιχνευτών, η αγωγιμότητα εξαρτάται από την συγκέντρωση του κάθε ιόντος και από την ισοδύναμη αγωγιμότητά του. Η συνολική μεταβολή της αγωγιμότητας είναι ανάλογη της συγκέντρωσης των ιόντων του αναλύτη. Η μεταβολή αυτή μπορεί να είναι είτε θετική είτε αρνητική, ανάλογα με τη σχέση των επιμέρους ισοδύναμων αγωγιμοτήτων των εκλουστικών και εκλουόμενων ιόντων και κατά περίπτωση γίνεται άμεση και έμμεση ανίχνευση αντίστοιχα. Επομένως η

ανιχνευσιμότητα και η ευαισθησία της μεθόδου εξαρτάται πρώτον από τη διαφορά των εκλουόμενων και εκλουστικών ιόντων, καθώς από αυτήν εξαρτάται το μέγεθος μεταβολής του σήματος. Δεύτερον και σημαντικότερο η αγωγιμότητα (σήμα) του υποβάθρου, η οποία είναι ανάλογη της ισοδύναμης αγωγιμότητας των εκλουστικών ιόντων και της συγκέντρωσής τους. Κατά την καταστολή γίνεται ανταλλαγή των εκλουστικών ιόντων με πρωτόνια και υδροξύλια στην περίπτωση του προσδιορισμού ανιόντων και κατιόντων, αντίστοιχα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μετατροπή της κινητής φάσης σε διάλυμα ασθενούς οξέος και ασθενούς βάσης σε κάθε περίπτωση προσδιορισμού. Η αγωγιμότητα σε αυτό το στάδιο θα εξαρτάται από τη σταθερά διάστασης του σχηματιζόμενου οξέος ή βάσης, που στην περίπτωση των πρωτονίων ή των υδροξυλίων είναι το νερό το οποίο έχει τη μικρότερη σταθερά διάστασης. Αν η κινητή φάση περιέχει άλατα ισχυρών οξέων ή βάσεων, τότε αποφεύγεται η καταστολή διότι οδηγεί σε αύξηση του σήματος υποβάθρου. Αύξηση της ευαισθησίας, δηλαδή της μεταβολής της αγωγιμότητας, επέρχεται λόγω μεγάλης ισοδύναμης αγωγιμότητας των πρωτονίων όταν αυτά συνεκλούνται με τα υπό προσδιορισμό ανιόντα. Απαιτείται προσοχή όταν τα υπό προσδιορισμό ιόντα είναι ιόντα ασθενών οξέων ή βάσεων, τα οποία σχηματίζουν αδιάστατα μόρια με ταυτόχρονη μείωση της ευαισθησίας. Γι' αυτή την περίπτωση χρησιμοποιούνται ανιόντα οξέων με $pK_a < 7$ και κατιόντα με $pK_b > 7$ της αντίστοιχης συζυγούς βάσης. Ο λόγος αυτός, καθώς και το υψηλό κόστος των συστημάτων καταστολής, ευθύνεται κυρίως για τη χρήση στηλών μικρής χωρητικότητας χωρίς σύστημα καταστολής. Με αυτό τον τρόπο η συγκέντρωση του εκλουστικού ιόντος διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα, καθώς δεν απαιτείται υψηλή συγκέντρωση για την έκλυση των ιόντων του αναλύτη. Ιστορικά, οι Gjerde και συν.⁴³ δημοσίευσαν μία τεχνική μη καταστελλόμενης ιοντικής χρωματογραφίας στην οποία, η αναλυτική στήλη ήταν συνδεδεμένη απευθείας με αγωγιμομετρικό ανιχνευτή χωρίς την παρουσία καταστολέα. Η τεχνική περιλάμβανε μικρής χωρητικότητας αναλυτική στήλη και εκλουστικά διαλύματα ασθενών οξέων και βάσεων για την επίτευξη χαμηλού σήματος υποβάθρου

Οι περιορισμοί της μη καταστελλόμενης ιοντικής χρωματογραφίας ξεπεράστηκαν όταν οι Small και συν.³⁶ παρουσίασαν την έννοια της καταστελλόμενης ιοντικής χρωματογραφίας το 1975. Οι Small και συν. χρησιμοποίησαν μία στήλη ιονανταλλακτικής ρητίνης για την αύξηση ευαισθησίας στον προσδιορισμό ιόντων με χημική τροποποίηση του υγρού έκλυσης πριν την είσοδο στον αγωγιμομετρικό

ανιχνευτή. Η καταστολή επιτεύχθηκε με τη μετατροπή του ανόργανου οξέος της κινητής φάσης σε νερό, οπότε λόγω της μικρής του αγωγιμότητας μειώθηκε το σήμα υποβάθρου και ο θόρυβος, υπήρξε μία περισσότερο σταθερή γραμμή βάσης με ταυτόχρονη μετατροπή του αναλύτη στη βασική του μορφή σε πλήρη διάσταση αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία της ανίχνευσης. Μειονεκτήματα ήταν η απαίτηση μεγάλου όγκου ρητίνης για πλήρη καταστολή της υψηλής ιοντικής συγκέντρωσης κινητής φάσης που απαιτούνταν λόγω της μεγάλης χωρητικότητας της στήλης και οδηγούσε σε μεγάλο χρόνου συστήματα. Αναγέννηση της ρητίνης έπρεπε να γίνεται με διακοπή της λειτουργίας. Υπήρχαν υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις που επηρέαζαν τους χρόνους έκλουσης οργανικών ιόντων.

.Για να τονισθεί πιο αναλυτικά η διαφορά καταστελλόμενης και μη ιοντικής χρωματογραφίας, ας πάρουμε ένα παράδειγμα. Έστω MX ένας υπό προσδιορισμό αναλύτης. Η αγωγιμότητά του περιγράφεται από την εξίσωση 3.6, όπου C η συγκέντρωση του ηλεκτρολύτη, C_{MX} η συγκέντρωση του MX σε κανονικότητα, Λ_{MX} η σχετική αγωγιμότητά του και λ_M και λ_X η ισοδύναμες αγωγιμότητες των αντίστοιχων ιόντων M και X. Η έκλυση των ιόντων από τη χρωματογραφική στήλη γίνεται με ισχυρό οξύ, H_A.

$$C = C_{MX} \Lambda_{MX} = C_{MX} (\lambda_M + \lambda_X) \quad (3.6)$$

Στην περίπτωση της μη καταστελλόμενης ιοντικής χρωματογραφίας, το αναλυτικό σήμα μετράται από τη διαφορά στην αγωγιμότητα που προκύπτει κατά την έκλυση των ιόντων του αναλύτη και των εκλουστικών ιόντων. Η διαφορά της αγωγιμότητας παρουσιάζεται στην εξίσωση 3.7, όπου C_M είναι η συγκέντρωση των ιόντων του M, που είναι ίση με αυτήν του MX.

$$\Delta C = C_M [(\lambda_M - \lambda_H) + (\lambda_X - \lambda_A)] \quad (3.7)$$

Πίνακας 3.1: Ισοδύναμες αγωγιμότητες ιόντων

Κατιόν	Ισοδύναμη Ιοντική Αγωγιμότητα (mho)	Ανιόν	Ισοδύναμη Ιοντική Αγωγιμότητα (mho)
H ⁺	349,8	OH ⁻	198
K ⁺	73,5	Br ⁻	78,4
Na ⁺	50,1	Cl ⁻	76,3
Li ⁺	38,7	HCO ₃ ⁻	44,5
NH ₄ ⁺	73,4	SO ₄ ²⁻	79,8
Mg ²⁺	53,1	Οξικό ιόν	40,9
Ca ²⁺	59,5	Προπιονικό ιόν	35,8

Από τον πίνακα 3.1 φαίνεται ότι η διαφορά της ισοδύναμης αγωγιμότητας των ανιόντων είναι της τάξης του ± 30 με εξαίρεση το ιόν του υδροξυλίου. Το υδροξύλιο βέβαια δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε κατιοανταλλακτική χρωματογραφία στην οποία το εκλουστικό υγρό είναι οξύ. Με δεδομένο ότι το πρωτόνιο έχει τη μεγαλύτερη ισοδύναμη αγωγιμότητα με μεγάλη διαφορά από το δεύτερο, φαίνεται ότι η κορυφή θα είναι αρνητική και ίση με -300 ± 30 επί την συγκέντρωση του ΜΧ σύμφωνα με την εξίσωση 3.5.

Στην περίπτωση της καταστέλλομενης ιοντικής χρωματογραφίας το έκλουσμα διέρχεται από καταστολέα όπου συμβαίνει ανταλλαγή των ανιόντων με ιόντα υδροξυλίου. Έτσι αντί να υπάρχουν ιόντα των Μ, Χ, Α και πρωτόνια μετά την ανταλλαγή, υπάρχουν ιόντα Μ και υδροξύλια (εφόσον τα πρωτόνια αντιδρούν με τα υδροξύλια που είναι σε περίσσεια προς σχηματισμό νερού). Ο αναλύτης λοιπόν ανιχνεύεται σε υπόβαθρο νερού που έχει μηδενικό σήμα, με αποτέλεσμα θετική κορυφή η οποία δίνεται από την εξίσωση 3.8.

$$\Delta C = C_{MX}(\lambda_M + \lambda_{OH}) \quad (3.8)$$

Για τα κατιόντα, όπως φαίνεται πάλι από τον πίνακα 3.1 η διαφορά της ισοδύναμης αγωγιμότητάς τους διαφέρει κατά ± 20 , με εξαίρεση το πρωτόνιο. Συνεπώς η μεταβολή θα είναι ίση με 250 ± 20 επί τη συγκέντρωση του MX, όπως προκύπτει από την εξίσωση 3.6.

Η γραμμή βάσης (baseline) στην καταστέλλομενη χρωματογραφία είναι κοντά στο μηδέν σε αντίθεση με τη μη καταστέλλομενη που είναι σημαντικά μεγαλύτερη (1000-1500 μS) παρόλο που και στις δύο χρησιμοποιούνται ισχυρά οξέα ή βάσεις. Ουσιαστικά στην καταστέλλομενη το σήμα είναι 250 περίπου φορές επί τη συγκέντρωση του αναλύτη (MX), ενώ στη μη καταστέλλομενη 300 περίπου φορές επί τη συγκέντρωση του αναλύτη (MX), ταυτόχρονα όμως με μία μεγάλη γραμμή βάσης. Το μέγεθος της γραμμής βάσης είναι ανάλογο της συγκέντρωσης των ιόντων του εκλουόμενου υγρού. Στη μη καταστέλλομενη χρωματογραφία η χρησιμοποίηση ασθενών οξέων ή βάσεων, τα οποία δίσταται ελαφρώς, μειώνει τη γραμμή βάσης, όμως επιβάλλει χρήση στηλών μικρής χωρητικότητας. Στην καταστέλλομενη δεν τίθεται ζήτημα στηλών μικρής χωρητικότητας, αφού η αυξημένη συγκέντρωση εκλουστικών ιόντων δεν επιφέρει σημαντική διαφορά στην αγωγιμότητα υποβάθρου, με την προϋπόθεση ότι δεν ξεπερνιέται (υπερπλήρωση) η χωρητικότητα του καταστολέα. Ο θόρυβος της γραμμής βάσης είναι μικρότερος από 0.5 nS για καταστέλλομενη χρωματογραφία και ισχυρά οξέα ή βάσεις για εκλουστικό μέσο και είναι περίπου ίσο με 10 nS για μη καταστέλλομενη με εκλουστικό μέσο ασθενείς βάσεις ή οξέα. Ο λόγος σήματος προς θόρυβο είναι 500 επί C_{mX} ($S/N = (250/0,5) C_{mX}$) και 30 επί C_{mX} ($S/N = (300/10) C_{mX}$) για την καταστέλλομενη και μη καταστέλλομενη ιοντική χρωματογραφία αντίστοιχα. Η μεγάλη αυτή διαφορά στον λόγο σήματος προς θόρυβο αντίστοιχα προσδίδει στην καταστέλλομενη μεγαλύτερη ευαισθησία και καλύτερα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης.

Στην βαθμιδωτή έκλυση ευνόητο είναι πως η γραμμή βάσης μεταβάλλεται συνεχώς στην μη καταστέλλομενη ιοντική χρωματογραφία, γεγονός που μειώνει την ακρίβεια στη μέτρηση των κορυφών. Αυτό δεν συμβαίνει με την καταστέλλομενη. Όταν οι αναλύτες είναι ασθενείς βάσεις (π.χ. ιόν αμμωνίου) προκύπτει μη γραμμική καμπύλη αναφοράς στην καταστέλλομενη και γραμμική στη μη καταστέλλομενη.

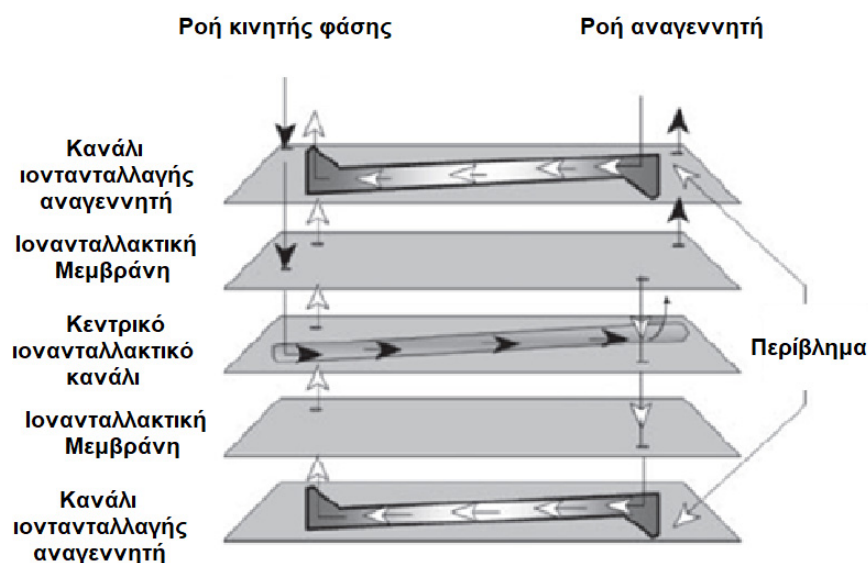
3.9.1 Μηχανισμός καταστολής

Αν και αρχικά οι Small και συν.³⁶ παρουσίασαν χημικό καταστολέα, η τωρινή χρήση τους είναι σπάνια. Τη μεγαλύτερη απήχηση σήμερα την έχουν ηλεκτροχημικοί καταστολείς. Μπορεί ο σχεδιασμός και η λειτουργία των ηλεκτροχημικών καταστολέων να διαφέρει ανάλογα με τον κατασκευαστή, όμως ο η αρχή λειτουργίας τους είναι βασικά η ίδια. Τελευταία έχει σχεδιαστεί καταστολέας με λειτουργία κατά την οποία ανακυκλώνεται το έκλουσμα πίσω στον θάλαμο που το παρέχει αρχικά μειώνοντας το κόστος λειτουργίας. Οι καταστολείς αυτοί λειτουργούν μόνο με σύνδεση σε ηλεκτρολυτικό σύστημα παραγωγής εκλούσματος, όπου η τροφοδοσία από τον θάλαμο εκλούσματος είναι το νερό.

Ο πρώτος καταστολέας που παρουσιάστηκε από τους Small και συν.³⁶, ήταν καταστολέας στήλης. Πρόκειται για μία πληρωμένη στήλη με ιονανταλλακτική ρητίνη που ονομαζόταν στήλη έκπλυσης (stripper column). Η στήλη έκπλυσης που θα έπρεπε να αναγεννηθεί σε κατάσταση εκτός λειτουργίας, παρουσίαζε κάποια προβλήματα με την ανάλυση ειδών που δίστανται ασθενώς και μεγάλο νεκρό όγκο για επαρκή χωρητικότητα για την καταστολή. Αργότερα αυτού του είδους οι καταστολείς υπέστησαν σημαντικές αλλαγές για την αντιμετώπιση των προβλημάτων τους. Έγινε αντικατάσταση του καταστολέα με μηχανισμό αυτόματης και συνεχούς αναγέννησης της ρητίνης κατασκευασμένου από ίνες⁴⁴.

Ο καταστολέας μεμβράνης υποστηρίζει τη συνεχή λειτουργία του ιοντικού χρωματογράφου και η αναγέννηση μπορεί να γίνει, είτε χημικώς είτε ηλεκτροχημικά (με ηλεκτρόλυση νερού). Μπορεί εύκολα να καταστείλει 200 mM εκλουστικού με ροή 1 mL/min διαλύτη έκλυσης. Παρέχει καλύτερες κορυφές και λόγω του λεπτού θαλάμου έκλυσης δεν υπάρχει πρόβλημα χωρητικότητας και νεκρού όγκου στον χώρο της κινητής φάσης. Αποτελείται από δύο ιονανταλλακτικές μεμβράνες οι οποίες δημιουργούν τρία διαμερίσματα, όπου στο κεντρικό ρέει το υγρό έκλυσης και στα ακραία ρέει ο αναγεννητής, όπως φαίνεται και στο σχήμα 3.2. Τα ιόντα του διαλύτη έκλυσης και τα αντισταθμιστικά ιόντα απομακρύνονται μέσω των δύο ιονανταλλακτικών μεμβρανών που βρίσκονται και από τις δύο πλευρές στα κανάλια αναγεννητή και εξέρχονται του καταστολέα με τυχόν περίσσεια ιόντων αναγέννησης.⁴⁵ Παρατηρήθηκε ότι οι μεμβράνες κατακρατούσαν αντισταθμιστικά ιόντα υγρού έκλυσης και ισχυρά ιόντα του αναλύτη (πολυφορτισμένα), γεγονός που επηρέαζε τη συνολική χωρητικότητα του καταστολέα. Γι' αυτόν το λόγο αντικαταστάθηκαν από

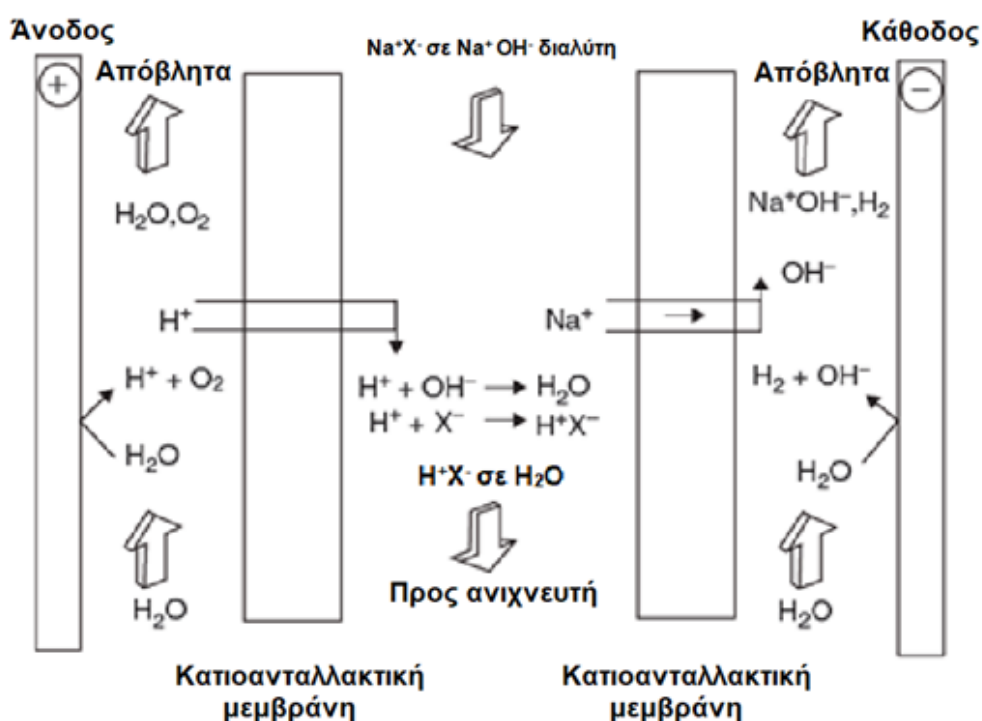
μικρομεμβράνες που δεν παρουσίαζαν κατακράτηση από το έκλουσμα στο κανάλι αναγέννησης και εμφάνιζαν μεγαλύτερη δυναμική χωρητικότητα⁴⁶.



Σχήμα 3.2: Διάγραμμα επίπεδου καταστολέα μεμβράνης

Σήμερα χρησιμοποιούνται κατά κόρον ηλεκτροχημικοί καταστολείς με σύστημα αυτόματης αναγέννησης (Self Regenerating Suppressor, SRS). Αυτού του τύπου καταστολείς αποτελούνται από τρία κανάλια που χωρίζονται με περατές σε ανιόντα ή κατιόντα μεμβράνες. Το κεντρικό κανάλι είναι το κανάλι από το οποίο διέρχεται το έκλουσμα της στήλης και καταλήγει στον ανιχνευτή. Τα δύο ακραία κανάλια περιέχουν νερό για αναγεννητή και δύο ηλεκτρόδια από ευγενές μέταλλο που χρησιμεύουν για την ηλεκτρόλυσή του. Το νερό διοχετεύεται μέσω ενός συστήματος ανακύκλωσης ή από εξωτερική πηγή. Έτσι αναπτύχθηκε τρόπος αναγέννησης νερού από το έκλουσμα της στήλης κάνοντάς τον καταστολέα αυτοδύναμη πηγή^{47, 48}. Στο σχήμα 3.3 παρουσιάζεται η λειτουργία καταστολέα στην περίπτωση ανιοντικής χρωματογραφίας. Στο σχήμα Χ⁻ είναι ο αναλύτης, Na⁺ το αντισταθμιστικό ιόν και υγρό έκλουσης υδροξείδιο του νατρίου. Το έκλουσμα της στήλης περνά μέσα από τον καταστολέα από θάλαμο που περιβάλεται από ημιπερατή μεμβράνη. Η μεμβράνη είναι περατή, μέσω εφαρμογής δυναμικού-ηλεκτρικού πεδίου, μόνο από κατιόντα και όχι από ανιόντα, αλλά ούτε επιτρέπει τη μεταφορά υλικών μέσω διάχυσης. Ο κεντρικός αυτός θάλαμος έχει εκατέρωθεν έναν θάλαμο ανόδου και έναν καθόδου πληρωμένους και τους δύο με νερό. Κατά την

εφαρμογή δυναμικού ηλεκτρικού πεδίου λαμβάνει χώρα ηλεκτρόλυση του νερού και στους δύο θαλάμους, παράγοντας πρωτόνια και μόρια νερού στον θάλαμο ανόδου και υδροξύλια και μόρια υδρογόνου στον θάλαμο καθόδου. Ιόν πρωτονίου μεταφέρεται, μέσω της μεμβράνης, από τον θάλαμο ανόδου στον κεντρικό θάλαμο και σχηματίζει νερό με το υπάρχον υδροξύλιο. Ιόν νατρίου από τον κεντρικό μεταφέρεται στον θάλαμο καθόδου. Στον ανιχνευτή φθάνει έκλουσμα που περιέχει ιόντα υδρογόνου και αναλύτη, αντί αναλύτη και νατρίου, σε διαλύτη νερό και ουσιαστικά το σήμα υποβάθρου είναι σχεδόν μηδενικό. Για προσδιορισμό κατιόντων, ο κατιοντικός καταστολέας διαθέτει μεμβράνη περατή από ανιόντα και στον ανιχνευτή φθάνουν ιόντα αναλύτη και υδροξύλια.



Σχήμα 3.3: Μηχανισμός καταστολής αυτόματης αναγέννησης

3.10 Εφαρμογές

Η ιοντική χρωματογραφία έτυχε ευρείας αναγνώρισης από την "αναλυτική" κοινότητα στον κλάδο της βιοτεχνολογίας, καθώς και από ακαδημαϊκούς ερευνητές, αφού ο Lee και συν.⁵¹ στα τέλη της δεκαετίας του '80 παρουσίασαν την υψηλής απόδοσης ανιονανταλλακτική χρωματογραφία (High Performance Anion Exchange Chromatography, HPAEC) με παλμικό αμπερομετρικό ανιχνευτή (Pulsed Amperometry

Detection, PAD) για την ανάλυση μονο- και ολιγοσακχαριτών που προέρχονται από γλυκοπρωτεΐνες⁴⁹. Το ενδιαφέρον στην ιοντική χρωματογραφία έγινε μεγαλύτερο όταν συζητήθηκαν ιοντικοί χρωματογράφοι με δυνατότερες αναλυτικές τεχνικές, όπως με φασματομετρία μαζών⁵⁰. Ωστόσο το ενδιαφέρον της φαρμακευτικής ανάλυσης παρέμενε χλιαρό προς την ιοντική χρωματογραφία, για διάφορους λόγους. Πολλά μόρια φαρμάκων δεν είναι σταθερά σε αραιά οξέα ή αλκαλικά διαλύματα και μπορεί να σχηματίσουν υδρόφοβες επιφάνειες που πιθανώς να αλληλεπιδράσουν με το χρωματογραφικό υλικό υποστήριξης. Επιπλέον τέτοια μόρια έχουν μικρή διαλυτότητα στο νερό και απαιτούν οργανικούς διαλύτες, με τους οποίους επηρεάζεται η λειτουργία αντιστάσεων και ηλεκτροχημικών συστημάτων ανίχνευσης. Από την άλλη πλευρά, η ικανότητα χρήσης σχετικών υψηλών συγκεντρώσεων οργανικών διαλυτών σε κανονική και αντιστρόφου φάσης χρωματογραφία, μείωνε ή εξάλειφε τις υδρόφοβες αλληλεπιδράσεις και επέτρεπε την καλή διαλυτότητα στην κινητή φάση. Η δυνατότητα συνδυασμού χρωματογραφίας αντίστροφης φάσης με φασματομετρία μαζών, κέρδισε το ενδιαφέρον της φαρμακευτικής "βιομηχανίας". Ακόμα και το έτος 2000, η USP-NF δεν είχε γενικό κεφάλαιο για την ιοντική χρωματογραφία παρά μόνο μερικές μονογραφίες όπου περιγράφονταν μέθοδοι ελέγχου με ιοντική χρωματογραφία. Με την αυξανόμενη ζήτηση νέων φαρμακευτικών προϊόντων, τη χρήση αντισταθμιστικών ιόντων για τη βελτίωση σταθερότητας και διαλυτότητας φαρμακευτικών ενεργών μορίων, τη διαθεσιμότητα μικτών στηλών και τη χρήση συστημάτων ανίχνευσης που έχουν μεγαλύτερη ανοχή ή δεν επηρεάζονται από οργανικούς διαλύτες, υπήρξε μία αύξηση ενδιαφέροντος των εφαρμογών της ιοντικής χρωματογραφίας στη φαρμακευτική ανάλυση⁵¹. Επιπροσθέτως, η αύξηση περιβαλλοντικής συνείδησης και η ανάγκη για μείωση του κόστους, συνέβαλε προς αυτή την κατεύθυνση. Τις περισσότερες περιπτώσεις στην ιοντική χρωματογραφία ως μέσα έκλουσης χρησιμοποιούνται αραιά διαλύματα οξέων, αλκάλια ή άλατα, με λίγη ή καθόλου ποσότητα οργανικού διαλύτη. Τέτοια υγρά έκλουσης μπορούν εύκολα να απορρίπτονται μετά από εξουδετέρωση ενίοτε με αραίωση με νερό προς συμμόρφωση περιβαλλοντικών απαιτήσεων. Οι οργανικοί διαλύτες από την άλλη πλευρά, είναι μεγάλου κόστους και η ασφαλής απόρριψή τους είναι συνήθως περίπλοκη. Η πρόσφατη έλλειψη ακενοτριλίου, κοινού διαλύτη που χρησιμοποιείται και στη χρωματογραφία αντίστροφης φάσης, έθεσε επίσης το ενδεχόμενο έλλειψης κρίσιμων διαλυτών στο μέλλον, πράγμα που πρέπει να ληφθεί υπόψη στην επιλογή μεθόδου ανάλυσης φαρμακευτικών προϊόντων. Η ιοντική

χρωματογραφία έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην ποσοτικοποίηση και χαρακτηρισμό φαρμακευτικών ουσιών, αντισταθμιστικών ιόντων, εκδόχων, καθώς και στον χαρακτηρισμό και ταυτοποίηση προσμίξεων και σε άλλες εφαρμογές περιλαμβανομένου και ελέγχου διαλυσης (dissolution test). Συνοπτικά υπάρχουν αρκετές μονογραφίες καθώς και δύο γενικά κεφάλαια ιοντικής χρωματογραφίας στην USP-NF.

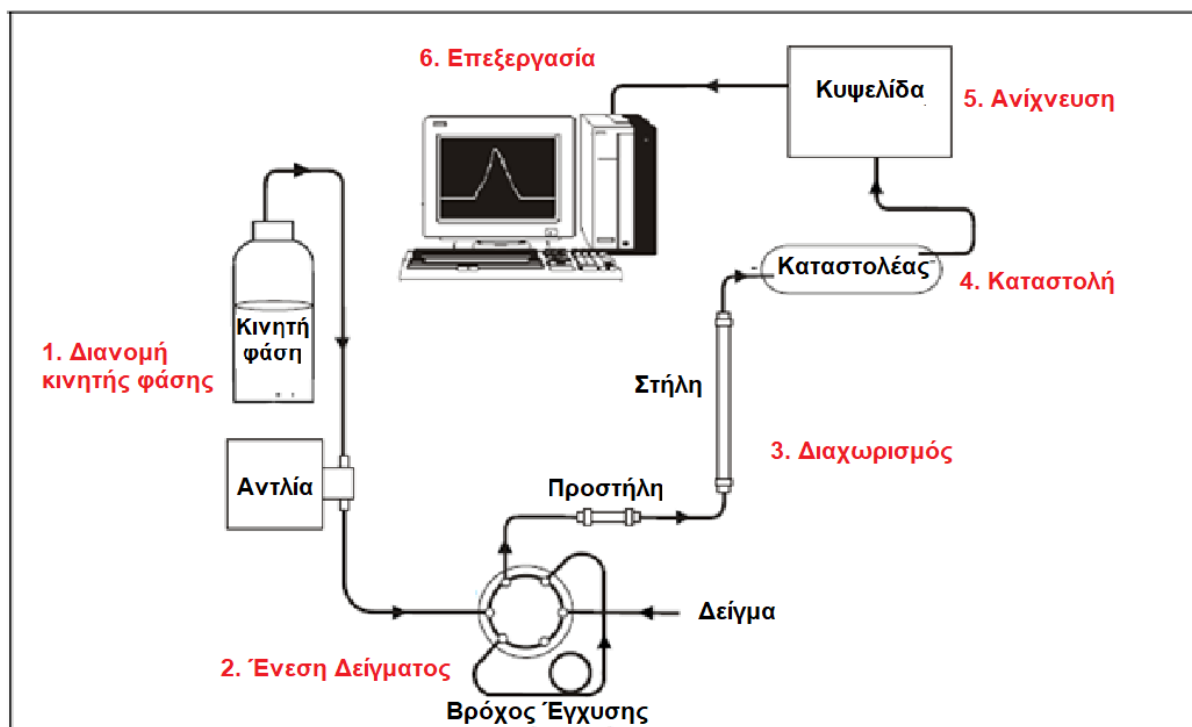
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4.1 Οργανολογία

4.1.1 Ιοντικός Χρωματογράφος

Χρησιμοποιήθηκε ο ιοντικός χρωματογράφος Thermo Scientific Dionex ICS-1100 (σχήμα 4.1). Το συγκεκριμένο μοντέλο, μαζί με το μοντέλο ICS-1600, είναι το πρώτο ολοκληρωμένο σύστημα χρωματογραφίας που δεν χρησιμοποιεί αντιδραστήρια για αναγέννηση κινητής φάσης. Το χρωματογραφικό αυτό σύστημα έχει σχεδιαστεί για διαχωρισμό με ισοκρατική έκλουση, με αγωγιμομετρικό ανιχνευτή και στήλες διαμέτρου 4 mm και 2 mm. Το λογισμικό που λειτουργεί το σύστημα είναι το Chromeleon (έκδοση 7.0) και παρέχει πλήρη έλεγχο και συλλογή δεδομένων μέσω υπολογιστή. Στο μοντέλο ICS-1100 περιλαμβάνεται μία αντλία με δύο έμβολα, ώστε να αποφεύγονται οι παλμοί παρέχοντας αυξημένη ευαισθησία στην ανίχνευση και υψηλή ακρίβεια στην ταχύτητα ροής της κινητής φάσης. Τα μέρη της αντλίας, όπως οι κεφαλές, αλλά και όλη η διαδρομή ροής του εκλούσματος είναι κατασκευασμένα από υλικό PEEK, με απουσία μετάλλων και χημικώς αδρανή και συμβατά με υδατικά διαλύματα όλου του εύρους του pH. Επίσης περιλαμβάνεται βαλβίδα έγχυσης, φούρνος στήλης και αγωγιμομετρικός ανιχνευτής. Τα υπόλοιπα μέρη όπως η προστήλη, η στήλη και ο καταστολέας διαφοροποιούνται ανάλογα την ανάλυση που λαμβάνει χώρα. Ο ιοντικός χρωματογράφος είναι συνδεδεμένος με αυτόματο δειγματολήπτη AS-AP μοντέλο της Dionex, ο οποίος λειτουργούσε με το πρόγραμμα Chromeleon. Στο σχήμα 4.1 φαίνεται η σχηματική παρουσίαση ολοκληρωμένου συστήματος ιοντικής χρωματογραφίας Thermo Scientific Dionex ICS-1100.



Σχήμα 4.1: Σχηματική παρουσίαση ολοκληρωμένου συστήματος ιοντικής χρωματογραφίας, Thermo Scientific Dionex ICS-1100

Η πορεία από την εισαγωγή του δείγματος έως την εξαγωγή του αποτελέσματος στο ιοντικό σύστημα είναι η εξής:

- Το δείγμα εισέρχεται στον βρόχο έγχυσης (sample loop) αυτόματα από τον αυτόματο δειγματολήπτη. Σε περίπτωση που δεν είναι εγκατεστημένος αυτόματος δειγματολήπτης, το δείγμα εισάγεται χειροκίνητα. Όταν ξεκινάει η ανάλυση το δείγμα εισάγεται στη ροή κυκλοφορίας.
- Η αντλία ωθεί το υγρό έκλουσης και το δείγμα μέσα από την προστήλη (guard column), εάν έχει εγκατασταθεί, και τη στήλη διαχωρισμού. Η προστήλη αφαιρεί ρύπους που πιθανώς να δηλητηριάσουν τη στήλη διαχωρισμού.
- Καθώς το δείγμα και το έκλουσμα διέρχονται μέσω της στήλης, τα ιόντα του διαλύματος διαχωρίζονται. Ο μηχανισμός είναι ιονανταλλακτικός. Τα διαφορετικά ιόντα μετακινούνται με διαφορετικούς ρυθμούς, διερχόμενα από τη στήλη, ανάλογα με την αλληλεπίδρασή τους με τις θέσεις ανταλλαγής της.
- Ύστερα το έκλουσμα διέρχεται μέσα από τον καταστολέα, όπου ενισχύεται επιλεκτικά η ανίχνευση των ιόντων καταστέλλοντας την αγωγιμότητα υποβάθρου.

- Η ανίχνευση γίνεται μετρώντας την αγωγιμότητα του εκλούσματος καθώς αυτό διέρχεται από κυψελίδα στον ανιχνευτή, παράγοντας ένα σήμα ανάλογο της φυσικοχημικής ιδιότητας του αναλύτη. Αυτό το σήμα μεταφέρεται στο σύστημα συλλογής δεδομένων.
- Το σύστημα συλλογής δεδομένων, στην συγκεκριμένη περίπτωση το Chromeleon, ταυτοποιεί τα ιόντα με βάση το χρόνο ανάσχεσης και ποσοτικοποιεί κάθε αναλύτη από το ύψος ή το εμβαδόν της κάθε κορυφής. Η ποσοτικοποίηση γίνεται συγκρίνοντας τα ύψη ή τα εμβαδά των κορυφών των προς ανάλυση δειγμάτων με αυτά που παράγονται από πρότυπα διαλύματα αναλυτών.

4.1.2 Στατική Φάση

Η στατική φάση που χρησιμοποιήθηκε ήταν η IONPAC CS12 ANALYTICAL COLUMN (4 x 250 mm) και τα χαρακτηριστικά της δίνονται στον πίνακα 4.1. Η συγκεκριμένη στήλη σχεδιάστηκε ειδικά για την ανάλυση αλκαλίων, αλκαλικών γαιών και αμμωνίου. Η στατική φάση είναι σχεδιασμένη με φωσφορικά και καρβοξυλικά οξέα, έχοντας υψηλή εκλεκτικότητα προς ιόντα οξωνίου. Οι ασθενείς καρβοξυλικές ομάδες απαιτούν διαλύτες με χαμηλή ιοντική ισχύ για την ισοκρατική έκλουση μονοσθενών και δισθενών ιόντων σε σχετικά μικρό χρονικό διάστημα. Είναι συμβατή με 100% υδατικά διαλύματα, 100% ακετονιτρίλιο και 20% τετραϋδροφουράνιο χωρίς κάποια μείωση απόδοσης. Η κινητή φάση που προτείνεται από τον κατασκευαστή για γρήγορο διαχωρισμό κατιόντων είναι διάλυμα μεθανοσουλφονικού οξέος ή θειικού οξέος.

Πίνακας 4.1: Χαρακτηριστικά στήλης CS12A (4 x 250) mm

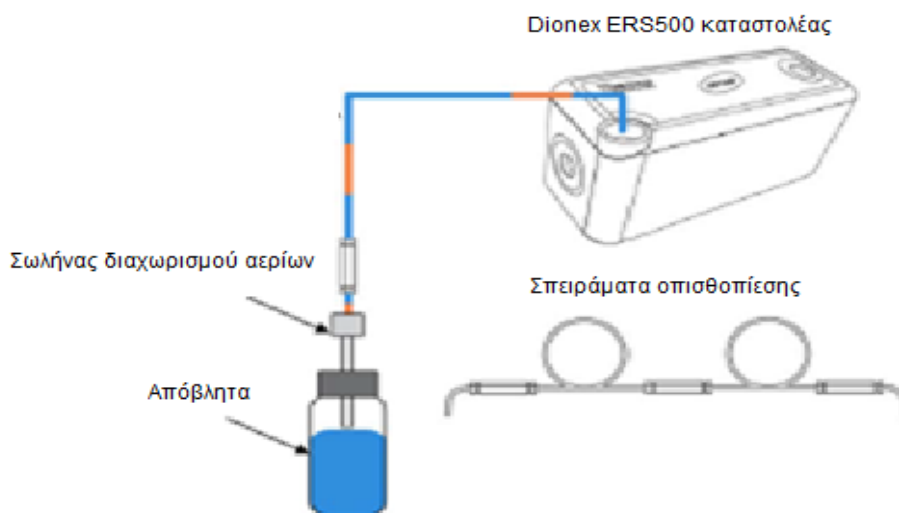
Στήλη	Διάμετρος Σωματιδίων (μm)	Διασταυρούμενη Σύνδεση Υποστρώματος %	Χωρητικότητα Στήλης Meq/Στήλη	Λειτουργικές ομάδες	Υδροφοβικότητα
CS12A 4 x 250 mm	8,5	55 [Μακροπορώδες πολυμερές (100Å) διβυνιλο/αιθυλοδιβυνιλοβενζόλιο]	2,8	Καρβοξυλικό/ Φωσφορικό οξύ	Μέτρια-Μικρή

Συνθήκες λειτουργίας: Ο βρόχος εισαγωγής είχε όγκο 25 μL (+0,8 μL νεκρός όγκος της βαλβίδας εισαγωγής). Η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης ήταν 1,0 mL/min και το υγρό έκλουσης ήταν υδατικό διάλυμα μεθανοσουλφονικού οξέος (methanesulfonic acid, MSA). Η κινητή φάση περιείχε 20 mM MSA και παρασκευαστηκε με προσθήκη 1.43 mL MSA σε ένα λίτρο νερού.

4.1.3 Καταστολέας

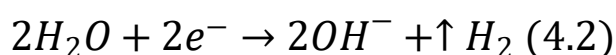
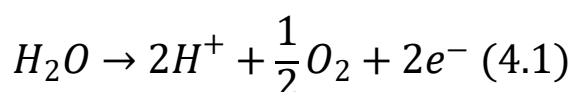
Στην ιοντική χρωματογραφία ο ρόλος του καταστολέα είναι να απομακρύνει από το έκλουσμα, τα αντισταθμιστικά ιόντα και να τα αντικαθιστά με αναγεννημένα ιόντα, μετατρέποντας έτσι το έκλουσμα σε μία ασθενώς ιονισμένη μορφή πριν την ανίχνευση. Ο καταστολέας που χρησιμοποιήθηκε ήταν ο CERS 500 (Cation Electrolytically Regenerated Suppressor) της Dionex (σχήμα 4.2). Ο συγκεκριμένος καταστολέας είναι σχεδιασμένος να λειτουργεί συνεχώς χωρίς να απαιτείται αναγέννηση σε κατάσταση εκτός λειτουργίας. Οι αναλυτικές παράμετροι είναι σταθερές κατά την ανάλυση και την βαθμονόμηση, καθώς τα δείγματα και τα πρότυπα διέρχονται από τον ίδιο καταστολέα. Ο αναγεννητής σε αυτού του είδους τους καταστολείς είναι το νερό. Στη λειτουργία αναγέννησης (recycle mode) η παροχή νερού προέρχεται από το καταναστελλόμενο έκλουσμα. Επιπροσθέτως ο ERS500 έχει υψηλή χωρητικότητα σε προσθήκη ελάχιστου νεκρού όγκου στο αναλυτικό σύστημα. Προσφέρει συνεχή καταστολή εκλουσμάτων έως την τιμή των 200 mN θειικού οξέος ή μεθανοσουλφονικού οξέος. Αυτή η υψηλή χωρητικότητα αυξάνει τις δυνατότητες και απλοποιεί την ιοντική ανάλυση.

Ηλεκτροχημικός καταστολέας Dionex ERS500 (με σύστημα αναγέννησης) και παρελκόμενα

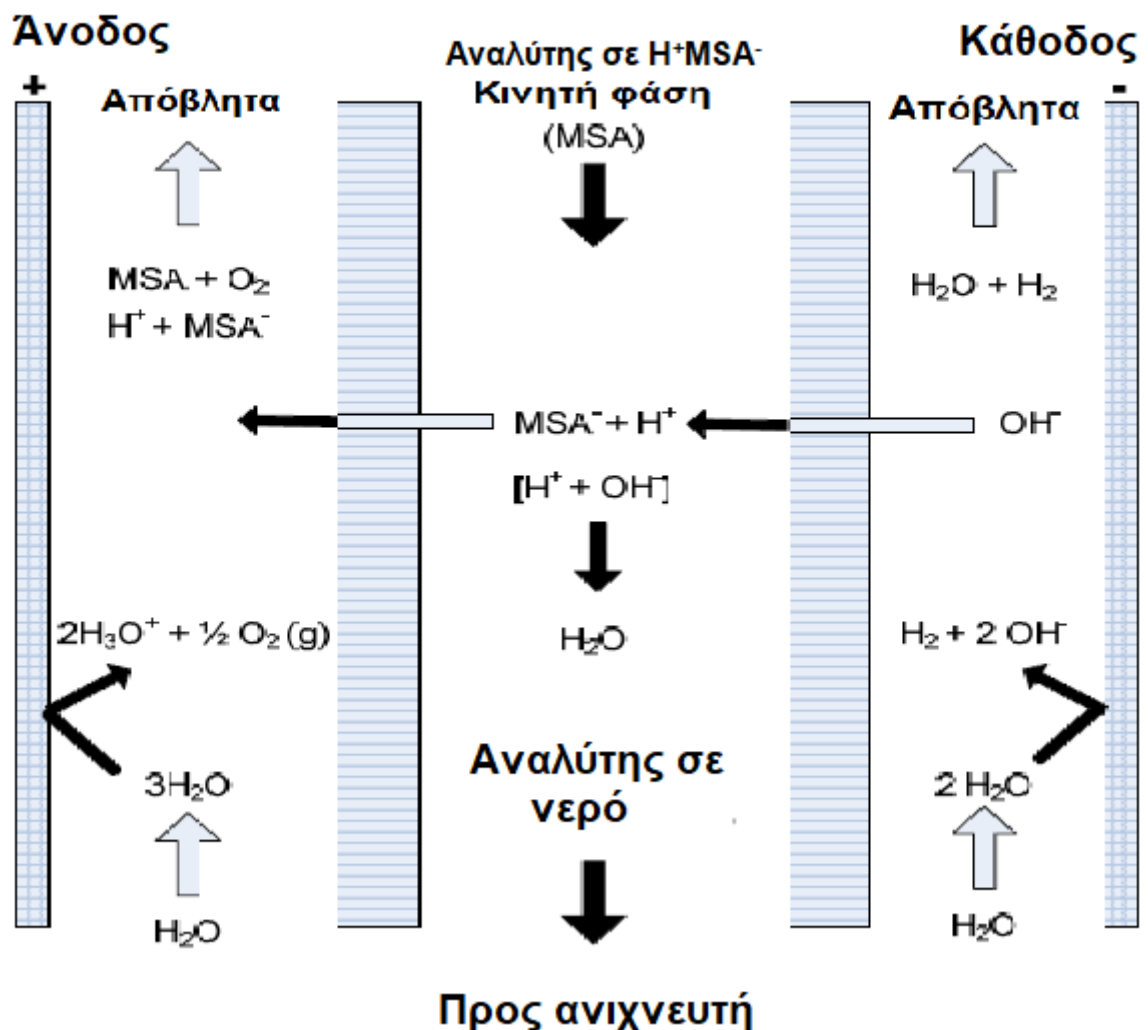


Σχήμα 4.2: Ηλεκτροχημικός καταστολέας Dionex ERS500 (με σύστημα αναγέννησης) και παρελκόμενα.

Το σύστημα του καταστολέα ERS500 αποτελείται από έναν ηλεκτροχημικό καταστολέα (ERS500), τη μονάδα ελέγχου του καταστολέα, τα σπειράματα οπισθοπίεσης (back pressure coils) και τον σωλήνα διαχωρισμού αερίων προς απόρριψη (gas separation waste tube). Ο σχεδιασμός του καταστολέα περιλαμβάνει τρία κανάλια χωρισμένα από δύο ιονανταλλακτικές μεμβράνες. Από το κεντρικό κανάλι διέρχεται το έκλουσμα και τα άλλα δύο είναι τα κανάλια αναγέννησης στα οποία το εξωτερικό τοίχωμα είναι κατασκευασμένο από PEEK και πάνω τους βρίσκονται βαλβίδες εισαγωγής και εξαγωγής διαλύτη από και προς τη συσκευή. Το κανάλι εκλούσματος καθορίζεται από μία πλάκα, κατασκευασμένη και αυτή από το πολυμερές PEEK, το οποίο σφραγίζει έναντι της μεμβράνης ανταλλαγής ιόντων έναν ελαστομερή δακτύλιο που είναι εγκατεστημένος στο κανάλι αναγέννησης. Η ροή του αναγεννητή είναι διατεταγμένη έτσι ώστε να είναι αντίθετη από αυτήν του εκλούσματος. Ο παραπάνω προσανατολισμός εξασφαλίζει την πλήρη αναγέννηση της κινητής φάσης. Κατά μήκος των καναλιών αναγέννησης της συσκευής ηλεκτρόδια είναι τοποθετημένα και την καλύπτουν πλήρως. Κατά τη λειτουργία, όταν εφαρμόζεται δυναμικό και η τάση υπερβαίνει το πρότυπο δυναμικό ηλεκτρόλυσης του νερού, περίπου 1,5 V, το νερό υφίσταται ηλεκτρολυτική διάσπαση προς τα ιόντα του. Τα σχηματιζόμενα αυτά ιόντα είναι διαθέσιμα για τις αντιδράσεις που γίνονται στον καταστολέα. Στον καταστολέα τα ανιοανταλλακτικά υλικά (μεμβράνες, ρητίνες, διαφράγματα) επιτρέπουν τη μεταφορά υδροξυλίου από το κανάλι αναγέννησης που βρίσκεται το ηλεκτρόδιο της καθόδου στο κεντρικό κανάλι του εκλούσματος για την εξουδετέρωσή του. Τα ανιόντα του MSA, του εκλούσματος ή τα αντισταθμιστικά μεταφέρονται λόγω του εφαρμοσμένου δυναμικού προς το κανάλι της ανόδου και αντιδρώντας με τα υπάρχοντα οξώνια-πρωτόνια, σχηματίζουν MSA και απόβλητα. Επίσης ιόντα υδροξυλίου μπορούν να μεταφερθούν από το κανάλι της καθόδου σε αυτό της ανόδου, σχηματίζοντας εκεί μόρια νερού. Στο σχήμα 4.3 δείχνεται η λειτουργία του καταστολέα. Οι αντιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στην άνοδο και στην κάθοδο, περιγράφονται από τις εξισώσεις 4.1 και 4.2 αντίστοιχα.



Dionex CERS 500 σε λειτουργία καταστολής



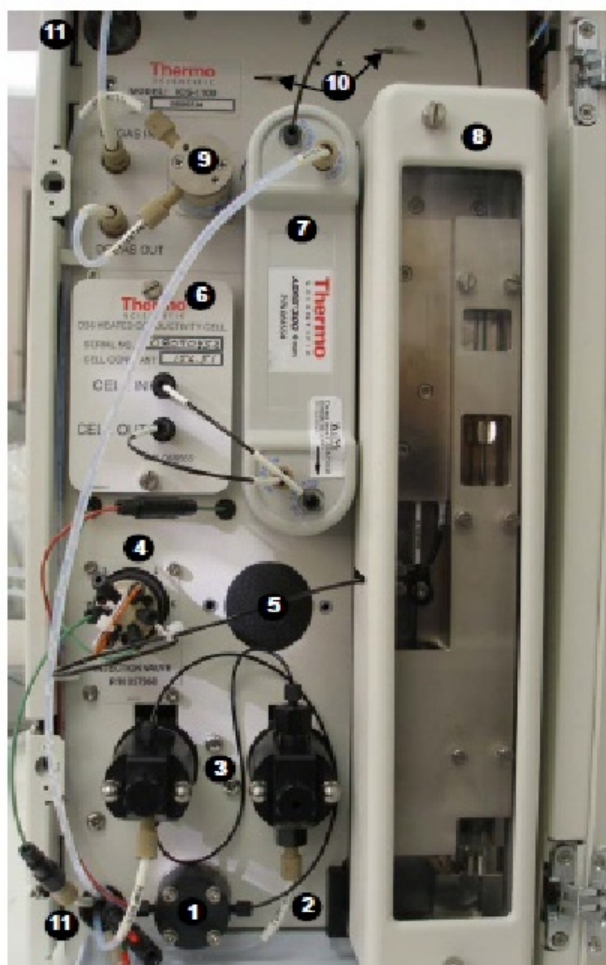
Σχήμα 4.3: Λειτουργία αυτοκαταστολής του καταστολέα CERS500

4.1.4 Αυτόματος Δειγματολήπτης

Ο αυτόματος δειγματολήπτης που ήταν εγκατεστημένος, ήταν της Thermo Scientific Dionex μοντέλο AS-AP. Ο συγκεκριμένος δειγματολήπτης έχει σχεδιαστεί για υψηλή πιστότητα, ανθεκτικότητα, ευκολία χρήσης και αξιοπιστία. Ο AS-AP μπορεί να χρησιμοποιηθεί με όλη τη σειρά ιοντικών χρωματογράφων ICS και παρέχει υψηλής απόδοσης, αυτοματοποιημένη επεξεργασία των δειγμάτων για εφαρμογές ιοντικής χρωματογραφίας. Ένα από τα χαρακτηριστικά του είναι η εξαιρετική αναπαραγωγιμότητά με RSDs < 0,3%. Όλες οι διαδρομές ροής είναι από υλικό PEEK για αποφυγή διάβρωσης μετάλλων.

4.1.5 Ανιχνευτής

Ο ανιχνευτής στο σύστημα ICS αποτελείται από τη θερμαινόμενη αγωγιμομετρική κυψελίδα (DS6 Heated Conductivity Cell). Η κυψελίδα μετρά την ηλεκτρική αγωγιμότητα των ιόντων του αναλύτη καθώς αυτά διέρχονται μέσα από αυτήν. Δύο “παθητικοποιημένα” ηλεκτρόδια, από ανοξείδωτο χάλυβα, είναι ακινητοποιημένα στην κυψελίδα που είναι κατασκευασμένη από υλικό PEEK. Ο σχεδιασμός παρέχει αποτελεσματική απομάκρυνση δείγματος, μικρό όγκο (1 μL) και χαμηλή διασπορά. Ο έλεγχος της θερμοκρασίας βοηθά στη διασφάλιση της καλής αναπαραγωγιμότητας και στη σταθερότητα της γραμμής βάσης, καθώς η θερμοκρασία επηρεάζει άμεσα την αγωγιμότητα του διαλύματος. Η επίδραση της θερμοκρασίας αυξάνεται με την αύξηση της αγωγιμότητας του διαλύματος. Βέβαια στην καταστέλλομενη χρωματογραφία, η αγωγιμότητα του εκλούσματος καταστέλλεται και η επίδραση της διακύμανσης της θερμοκρασίας ελαχιστοποιείται. Για την περαιτέρω μείωση της επίδρασης της διακύμανσης της θερμοκρασίας, ένας θερμαντήρας εντός της κυψελίδας ρυθμίζει τη θερμοκρασία (από τους 0 $^{\circ}\text{C}$ έως τους 55 $^{\circ}\text{C}$). Στην εικόνα 4.1 φαίνεται ο ιοντικός χρωματογράφος ICS-1100 που χρησιμοποιήθηκε.



- ❶ Ανιχνευτής πίεσης
- ❷ Αισθητήρας διαρροής
- ❸ Αντλία
- ❹ Βαλβίδα έγχυσης
- ❺ Θέση για βοηθητική βαλβίδα (προαιρετικό)
- ❻ DS6 κυψελίδα αγωγιμότητας
- ❼ Καταστολέας
- ❽ Φούρνος στήλης
- ❾ Βαλβίδα εκλουστικού μέσου
- ❿ Στηρίγματα για 2ο καταστολέα
- ⓫ Σωληνώσεις

Εικόνα 4.1: Ιοντικός χρωματογράφος ICS-1100

4.2 Βοηθητικά Όργανα και Αντιδραστήρια

4.2.1 Βοηθητικά Όργανα:

Πεχάμετρο. Οι μετρήσεις pH έγιναν σε πεχάμετρο Consort C 3010. Η βαθμονόμηση του οργάνου γινόταν καθημερινά πριν τις μετρήσεις. Τα κύρια χαρακτηριστικά του είναι:

- Εύρος μέτρησης pH: -2....+16
- Διακριτική ικανότητα (resolution): 0,001 pH
- Ακρίβεια: 0,1%±1 ψηφίο
- Κλίση (slope): 80....120% της θεωρητικής κατά Nerst
- Ηλεκτρόδια με σημείο τομής (zero point) (E₀): ±999 mV

Υδρόλουτρο-Αναμείκτης. Η ανακίνηση, υπό σταθερή θερμοκρασία, έγινε σε υδρόλουτρο-αναμείκτη της Clifton. Το συγκεκριμένο μοντέλο ήταν το NE5-28D

SHAKING BATH. Η συσκευή επέτρεπε την ταυτόχρονη παρακολούθηση της ρυθμισμένης και πραγματικής θερμοκρασίας. Τα κύρια χαρακτηριστικά του είναι η ευαισθησία και ομοιομορφία στο 0,1% και εύρος θερμοκρασίας +5 °C έως 99 °C.

Φυγόκεντρος. Χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο Z400 της εταιρίας Hermle.

Ζυγός. Για τις μετρήσεις μάζας χρησιμοποιήθηκε διακριβωμένος ζυγός SHIMADZU AUX 320. Τα κύρια χαρακτηριστικά του είναι:

- εύρος χρήσης 0,01 g-320 g
- επαναληψιμότητα (τυπική απόκλιση) : $\leq 0,15$ mg
- γραμμικότητα: $\pm 0,3$ mg

Αποστακτήρας νερού Το νερό που χρησιμοποιήθηκε κατά τη διάρκεια της παρούσας εργασίας, για αραιώσεις, ήταν νερό απεσταγμένο καθαρότητας HPLC από τον αποστακτήρα της GFL, μοντέλο 2004.

Πιπέτα όγκου 100-1000 μ L. Η πιπέτα που χρησιμοποιήθηκε για τις αραιώσεις, μεταφορές και προσθήκες υδατικών όγκων είναι της εταιρίας transferpipette και διακριβωμένη κατά την περίοδο χρήσης της.

Υαλικά. Τα υαλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της παρούσης εργασίας, όπως ογκομετρικοί κύλινδροι και σιφώνια για τη μέτρηση και μεταφορά όγκου διαλύματος, ήταν κλάσης A (grade A).

4.2.2 Αντιδραστήρια

Χλωριούχο Κάλιο. Χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή διαφόρων συγκεντρώσεων πρότυπων διαλυμάτων καλίου. Potassium Chloride PA-ACS-ISO της εταιρίας Panreac (KCl, MB=74.56).

Ένυδρο χλωριούχο ασβέστιο. Χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή διαφόρων συγκεντρώσεων διαλυμάτων που περιείχαν συγκεκριμένη ποσότητα ασβεστίου. Calcium Chloride dihydrate της εταιρίας PENTA ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, MB=147.01).

Μεθανοσουλφονικό οξύ (MethaneSulfonic Acid, MSA). Χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή της κινητής φάσης της ιοντικής χρωματογραφίας. Ήταν της εταιρίας Sigma-Aldrich καθαρότητας $\geq 99,5\%$ ($\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$, ειδικό βάρος 1,345, MB=96,10).

Αμμωνία 25% της εταιρίας Panreac (Reag. USP, Ph. Eur.) (NH_3 , MB=17,03). Χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή διαλύματος προς ρύθμιση του pH στο στάδιο της προκατεργασίας.

Οξικό οξύ, παγόμορφο της εταιρίας CARLO EBRA glacial (φαρμακευτικής καθαρότητας USP, Ph. Eur καθαρότητας $\geq 99,85\%$ (CH_3COOH , MB=60,05)

Ως κινητή φάση χρησιμοποιήθηκε διάλυμα 20 μM μεθανοσουλφονικού οξέως σε νερό.

Το σκεύασμα kayexalate χρησιμοποιήθηκε ως σκεύασμα αναφοράς.

4.3 Στόχος

Η συγκεκριμένη μελέτη κινητικής ισοδυναμίας είναι κομμάτι μιας εμπειριστατωμένης επιστημονικής αξιολόγησης (biowaiver justification) μεταξύ ενός υπό έγκριση φαρμακευτικού σκευάσματος και ενός ήδη εγκεκριμένου, που θα χρησιμοποιηθεί ως σκεύασμα αναφοράς (kayexalate). Και τα δύο προϊόντα περιέχουν την δραστική νατριούχο σουλφονικό πολυστυρένιο η οποία δεν απορροφάται στη συστηματική κυκλοφορία, πράγμα που καθιστά αδύνατη την μελέτη βιοϊσοδυναμίας. Στόχος είναι η μελέτη της κινητικής, των δύο σκευασμάτων, ως προς την ικανότητά δέσμευσης K^+ και η απόδειξη κινητικής ισοδυναμίας. Και για τα δύο φαρμακευτικά σκευάσματα μελετήθηκε η δέσμευση K^+ συναρτήσει του χρόνου και του pH σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων. Η ποσότητα που δεσμεύεται βρίσκεται από τη διαφορά της αρχικής ποσότητας, αφαιρώντας την τελική ποσότητα ελεύθερου K^+ , η οποία προσδιορίζεται με την τεχνική της ιοντικής χρωματογραφίας. Επίσης μετρήθηκε και μία σειρά ίδιων δειγμάτων με προστιθέμενη ποσότητα Ca^{2+} σε δύο συγκεντρώσεις για μελέτη της αλληλεπίδρασής της με ιόντα ασβεστίου. Στη συνέχεια έγινε επεξεργασία των αποτελεσμάτων και εύρεση παραμέτρων οι οποίες αποδεικνύουν την κινητική ισοδυναμία.

4.4 Μέθοδος Προσδιορισμού

Χρησιμοποιήθηκε η γενική μέθοδος προσδιορισμού κατιόντων που προτείνεται από τον κατασκευαστή του οργάνου, βελτιστοποιήθηκε και επικυρώθηκε από το εργαστήριο για προσδιορισμούς κατιόντων σε φαρμακευτική πρώτη ύλη και σκευάσματα.

Χρωματογραφικοί παράμετροι:

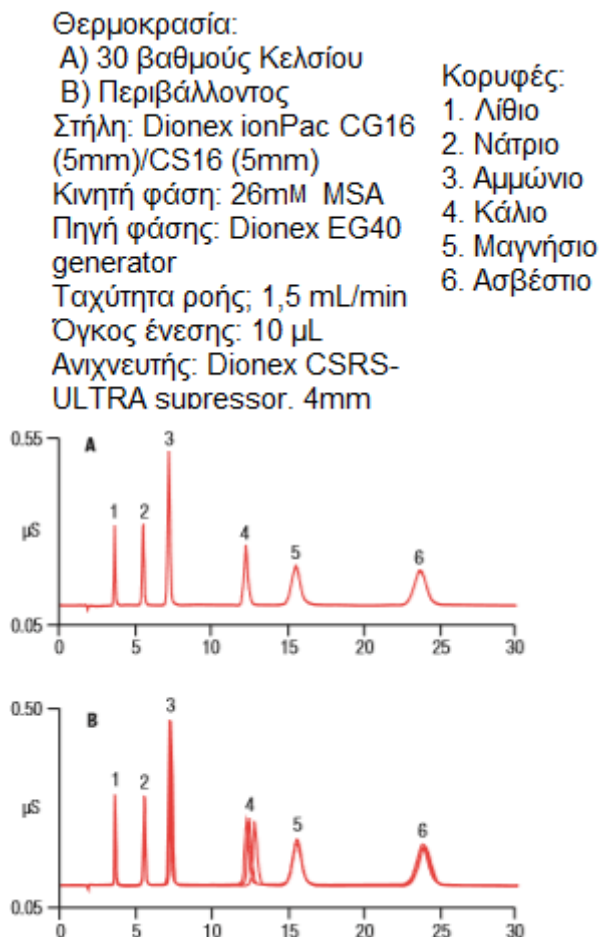
Στήλη: IONPAC CS12 (4 x 250 MM, 4 μm)

Κινητή φάση: Μεθανοσουλφονικό οξύ (MSA) 20 mM

Ταχύτητα ροής: 1 mL/min

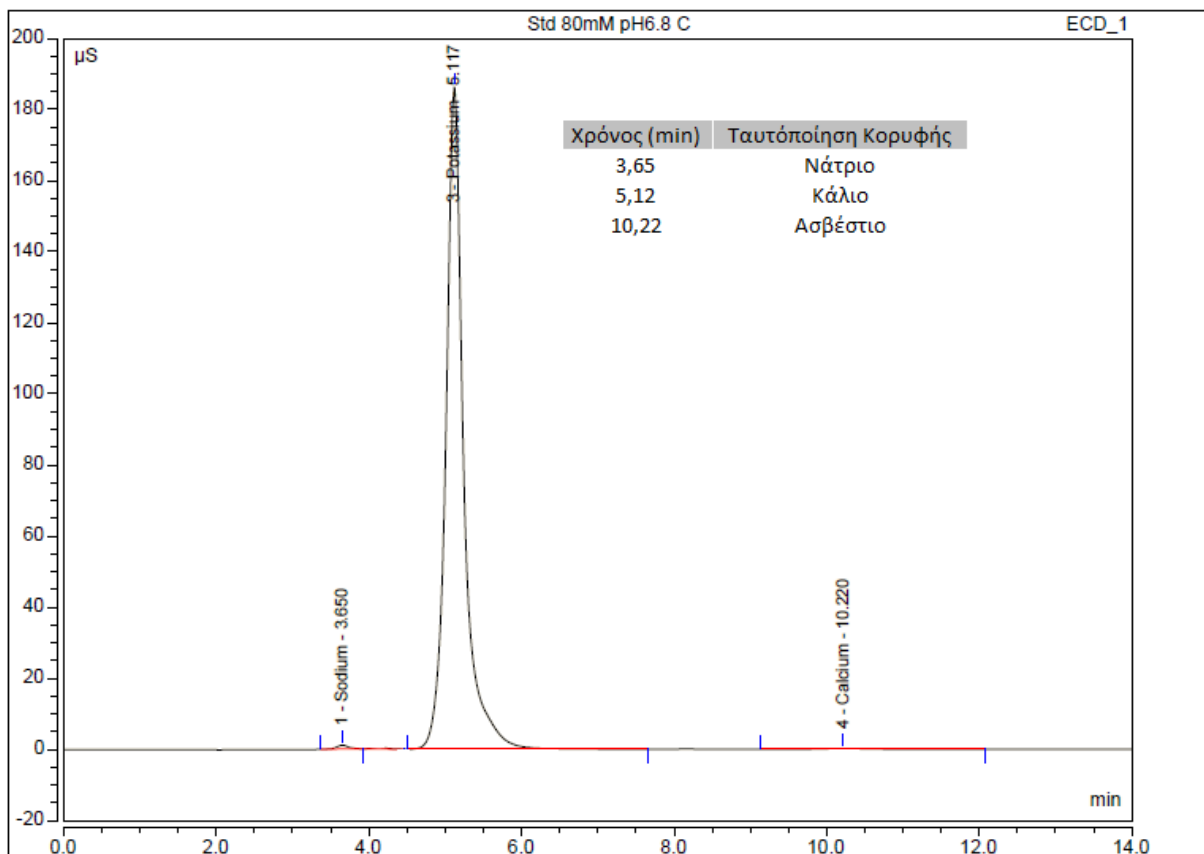
Θερμοκρασία στήλης: θερμοκρασία περιβάλλοντος

Στην εικόνα 4.2 που ακολουθεί δίνεται τυπικό χρωματογράφημα μίγματος κατιόντων.



Εικόνα 4.2: Τυπικό χρωματογράφημα μίγματος κατιόντων

Όπως φαίνεται, η μέθοδος είναι ικανή να προσδιορίσει K^+ (κορυφή 4), παρουσία Na^+ (κορυφή 2) και Ca^{2+} (κορυφή 6). Στην παρακάτω εικόνα 4.3 παρίσταται χρωματογράφημα από το πειραματικό μέρος όπου αναδεικνύεται η ικανότητα της μεθόδου να προσδιορίσει K^+ , παρουσία Na^+ και Ca^{2+} (κορυφή 6).



Σχήμα 4.4: Χρωματογράφημα, πειραματικού μέρους, μίγματος H^+ , Na^+ και Ca^{2+}

Καμπύλη αναφοράς:

Παρασκευαζόταν και ελεγχόταν καθημερινά χρησιμοποιώντας 6 πρότυπα (0,3-120 mM) K^+ . Η εξίσωση παλινδρόμησης υπολογιζόταν με το πρόγραμμα SPSS, χρησιμοποιώντας το μοντέλο $1/x^2$, weighted linear regression. Η ακρίβεια της καμπύλης αναφοράς υπολογιζόταν καθημερινά με “οπισθοϋπολογισμό” των προτύπων. Στον πίνακα 4.2 δίνονται τα αντιπροσωπευτικά δεδομένα.

Πίνακας 4.2: Δεδομένα υπολογισμού καμπύλης αναφοράς προσδιορισμού K⁺ με ιοντική χρωματογραφία

Συγκέντρωση K ⁺ (mM)	Εμβαδόν	Υπολ. Συγκέντρωση	%Ακρίβεια
0,30	0,1055	0,30	101,0
1,0	0,5225	0,97	97,2
6,0	3,5501	5,83	97,1
20,0	12,5131	20,20	101,0
80,0	50,7057	81,45	101,8
120,0	76,1866	122,32	101,9

4.5 Πορεία μελέτης

Η κινητική μελέτη της ιονανταλλαγής K⁺- Na⁺ των σκευασμάτων SPS έγινε σε δύο επίπεδα συγκεντρώσεων καλίου (6 και 120 mmol/L), σε τρεις τιμές pH (4,5, 6,8, 7,9), σε όγκο 250 mL. Επίσης μελετήθηκε η κινητική ιονανταλλαγής και παρουσία ασβεστίου (για να μελετηθεί η τυχόν επίδραση Ca²⁺) σε δύο τιμές συγκεντρώσεων (0,3 και 10 mmol/L) για κάθε συγκέντρωση καλίου και για κάθε τιμή pH σε κάθε χρονικό σημείο.

4.5.1 Στάδια

4.5.1.1 Μελέτη δέσμευσης ιόντων καλίου

- 1) Ζυγίζονται 5 g ρητίνης SPS του σκευάσματος και προστίθενται σε 200 mL νερού σε κωνική φιάλη.
- 2) Γίνεται ρύθμιση σε τρία pH (4,5, 6,8, 7,9) με διαλύματα αμμωνίας και οξικού οξέος με τη βοήθεια pH-μέτρου.
- 3) Τα διαλύματα αφήνονται σε κατάσταση ηρεμίας για περίπου μία ώρα για τη σχετική διόγκωση της ρητίνης.
- 4) Στη συνέχεια γίνεται προσθήκη 20 mL από πρότυπο διάλυμα καλίου για την τελική συγκέντρωση 6 και 120 mmol/L, αντίστοιχα, γίνεται αραίωση στα 250 mL, έλεγχος και τελική ρύθμιση pH, αν είναι απαραίτητο. Οι κωνικές φιάλες τοποθετούνται, πωματισμένες, σε υδρόλουτρο στους 37 °C και ανακινούνται με ταχύτητα 75 rpm.

- 5) Μετά από συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα (5', 15', 30', 1h, 2h, 4h, 8h, 24h), δειγματοληπτείται 1,0 mL και στη συνέχεια φυγοκεντρείται για 5 min στις 4000 rpm.
- 6) Συλλέγεται ποσοτικά το υπερκείμενο υγρό, αραιώνεται 10 φορές με νερό και αναλύεται με την τεχνική της ιοντικής χρωματογραφίας.
- 7) Η ποσότητα του καλίου που δεσμεύτηκε από την ρητίνη υπολογίζεται από τη διαφορά συγκέντρωσης του ελεύθερου καλίου, που μετράται από την αναλυτική μέθοδο, και της αρχικής συγκέντρωσης για κάθε χρονικό σημείο. Για κάθε δείγμα υπολογίζεται η επί τοις εκατό δέσμευση του καλίου από την ρητίνη.

Η ανάλυση επαναλήφθηκε 12 φορές, υπό τις ίδιες συνθήκες χρησιμοποιώντας διαφορετικές μονάδες σκευάσματος και συλλέχθηκαν 12 ομάδες αποτελεσμάτων.

4.5.1.2 Μελέτη δέσμευσης ιόντων καλίου παρουσία ιόντων ασβεστίου

Όπως στο εδάφιο 4.5.1.1 με τη διαφορά ότι στο στάδιο 4 προστίθενται και 20 mL από αντίστοιχο πρότυπο διάλυμα ασβεστίου για την τελική συγκέντρωση 0,3 και 10 mmol/L.

Η ανάλυση επαναλήφθηκε 12 φορές, υπό τις ίδιες συνθήκες και συλλέχθηκαν 12 ομάδες αποτελεσμάτων.

4.5.2 Επεξεργασία αποτελεσμάτων

Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων είναι η ίδια και στις δύο περιπτώσεις, παρουσία και απουσία ασβεστίου. Η ποσότητα του καλίου που δεσμεύτηκε από την ρητίνη υπολογίζεται από τις αρχικές συγκεντρώσεις που παρασκευάστηκαν και τις παρούσες συγκεντρώσεις καλίου στα 8 χρονικά σημεία. Από αυτές τις τιμές η ποσότητα του καλίου που δεσμεύτηκε, από 5 g ρητίνης, εκφράζεται σε mmoles και σε ποσοστό για κάθε χρονικό σημείο. Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των 12 πειραμάτων με τον μέσο όρο και την τυπική απόκλιση, και για το υπό εξέταση σκεύασμα και το σκεύασμα αναφοράς (kayexalate). Το ποσοστό δέσμευσης καλίου από τα 5 g ρητίνης παρουσιάζεται σε πίνακες και γραφικά για κάθε χρονικό σημείο. Παρουσιάζεται επίσης σε πίνακα και γραφικά για κάθε χρονικό σημείο, η ποσότητα καλίου σε mmoles που δεσμεύτηκε από 5 g ρητίνης.

4.5.3 Αξιολόγηση αποτελεσμάτων

Για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της κινητικής ιονανταλλαγής, μεταξύ των δύο σκευασμάτων, υπό εξέταση και αναφοράς (Καγεχάλατε), χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος “similarity factor f_2 ”. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται ευρέως για τη σύγκριση των “dissolution profiles” των φαρμακευτικών σκευασμάτων σε μελέτες “pre-authorization”, “post- authorization” και “biowaivers”.

Η μέθοδος “similarity factor” περιγράφεται σε οδηγία του FDA για μελέτες dissolution σε στερεές φαρμακοτεχνικές μορφές άμεσης αποδέσμευσης⁵², αλλά και σε οδηγία για μελέτη βιοϊσοδυναμίας από την CHMP του EMA⁵³.

Η μέθοδος σύγκρισης f_2 , προτάθηκε από τους Moore και Planer^{54, 55}. Ο τύπος υπολογισμού του παράγοντα ομοιότητας f_2 περιγράφεται στην εξίσωση 4.3.

$$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}} \quad (4.3)$$

Όπου R(t) και T(t) είναι τα μέσα αθροιστικά (cumulative) ποσοστά δέσμευσης καλίου για το σκεύασμα υπό εξέταση και το σκεύασμα αναφοράς, αντίστοιχα, σε κάθε χρονική στιγμή t και n ο αριθμός χρονικών σημείων δειγματοληψίας.

Τα δύο προφίλ είναι όμοια εάν ο f_2 έχει τιμή από 50 έως 100. Οι προϋποθέσεις για την εκτέλεση του πειράματος είναι τουλάχιστον τρία χρονικά σημεία ελέγχου πέραν του μηδενός, 12 πειράματα για κάθε σκεύασμα, η τυπική απόκλιση των δειγμάτων να είναι μικρότερη του 20% για το πρώτο χρονικό σημείο και μικρότερη του 10% για τα υπόλοιπα και το πολύ μία τιμή >85% για τον υπολογισμό των μέσων όρων για κάθε δείγμα. Επίσης όταν υπάρχει >85% αποδέσμευση (δέσμευση στην παρούσα μελέτη) σε χρόνο έως και τα πρώτα 15 min, τα δύο προφίλ θεωρούνται όμοια χωρίς περαιτέρω αξιολόγηση.

4.5.4 Αποτελέσματα και επεξεργασία

Και για τους 6 διαφορετικούς συνδυασμούς συγκεντρώσεων K^+ , απουσία και παρουσία Ca^{2+} , έγιναν 12 πειράματα σε 3 pH και για τα δύο σκευάσματα, το σκεύασμα αναφοράς και το υπό εξέταση σκεύασμα. Για κάθε συνδυασμό παρουσιάζεται πίνακας παρουσίασης συνολικών αποτελεσμάτων των μετρήσεων, πίνακας συνοπτικής παρουσίασης αποτελεσμάτων, ο υπολογισμός του παράγοντα ομοιότητας f_2 για κάθε pH, εκτίμηση των αποτελεσμάτων και γραφήματα δέσμησης και ποσοστιαίας δέσμησης K^+ , για κάθε pH, συναρτήσει του χρόνου.

4.5.4.1 6 mM Καλίου

Πίνακας 4.3: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 6 mM καλίου

K ⁺ (mM)	Χρονικό σημείο	pH	Αριθμός πειράματος-σκευάσματος	Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα αναφοράς			Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα ελέγχου		
6	5 min	4,5	1-3	0,31	0,31	0,30	0,32	0,35	0,30
		4,5	4-6	0,33	0,33	0,29	0,29	0,31	0,28
		4,5	7-9	0,32	0,32	0,29	0,31	0,32	0,28
		4,5	10-12	0,31	0,30	0,28	0,29	0,30	0,27
		6,8	1-3	0,31	0,32	0,27	0,30	0,30	0,25
		6,8	4-6	0,33	0,33	0,29	0,31	0,31	0,25
		6,8	7-9	0,33	0,29	0,28	0,32	0,30	0,24
		6,8	10-12	0,31	0,30	0,28	0,30	0,29	0,24
		7,9	1-3	0,26	0,26	0,28	0,29	0,29	0,22
		7,9	4-6	0,33	0,32	0,30	0,28	0,29	0,24
		7,9	7-9	0,27	0,29	0,28	0,30	0,30	0,23
		7,9	10-12	0,29	0,32	0,31	0,27	0,28	0,24
	4,5	1-3	0,30	0,32	0,30	0,31	0,32	0,31	
	4,5	4-6	0,32	0,29	0,32	0,30	0,32	0,30	
	4,5	7-9	0,32	0,33	0,33	0,32	0,31	0,29	
	4,5	10-12	0,28	0,31	0,29	0,31	0,30	0,31	
	6,8	1-3	0,29	0,29	0,27	0,30	0,31	0,26	
	6,8	4-6	0,30	0,31	0,29	0,28	0,32	0,27	
	6,8	7-9	0,29	0,32	0,30	0,27	0,30	0,28	
	6,8	10-12	0,31	0,32	0,32	0,29	0,29	0,26	
	7,9	1-3	0,26	0,26	0,28	0,29	0,29	0,28	
	7,9	4-6	0,27	0,28	0,28	0,30	0,29	0,29	
	7,9	7-9	0,29	0,28	0,29	0,28	0,28	0,27	
	7,9	10-12	0,29	0,27	0,32	0,31	0,27	0,26	
	4,5	1-3	0,32	0,32	0,30	0,33	0,34	0,31	
	4,5	4-6	0,32	0,27	0,28	0,33	0,32	0,30	
	4,5	7-9	0,29	0,31	0,28	0,30	0,32	0,32	
	4,5	10-12	0,32	0,28	0,32	0,32	0,33	0,29	
	6,8	1-3	0,37	0,31	0,28	0,30	0,31	0,28	
	6,8	4-6	0,29	0,27	0,27	0,28	0,33	0,29	
	6,8	7-9	0,31	0,32	0,33	0,31	0,30	0,30	
	6,8	10-12	0,28	0,31	0,31	0,30	0,30	0,28	
	7,9	1-3	0,27	0,27	0,29	0,30	0,30	0,27	
	7,9	4-6	0,30	0,27	0,27	0,30	0,34	0,29	
	7,9	7-9	0,28	0,30	0,29	0,27	0,33	0,28	
	7,9	10-12	0,29	0,27	0,32	0,31	0,29	0,29	
	4,5	1-3	0,29	0,28	0,27	0,30	0,30	0,29	
	4,5	4-6	0,31	0,32	0,31	0,28	0,29	0,28	
	4,5	7-9	0,32	0,31	0,30	0,30	0,31	0,30	
	4,5	10-12	0,31	0,27	0,30	0,33	0,30	0,27	
	6,8	1-3	0,29	0,28	0,29	0,27	0,28	0,28	
	6,8	4-6	0,30	0,28	0,29	0,32	0,29	0,27	
	6,8	7-9	0,27	0,32	0,29	0,32	0,32	0,29	
	6,8	10-12	0,30	0,32	0,32	0,28	0,31	0,26	
	7,9	1-3	0,27	0,27	0,30	0,31	0,30	0,28	
	7,9	4-6	0,31	0,28	0,33	0,31	0,32	0,29	
	7,9	7-9	0,30	0,28	0,28	0,32	0,31	0,27	
	7,9	10-12	0,28	0,32	0,31	0,32	0,30	0,27	
	4,5	1-3	0,29	0,29	0,29	0,31	0,30	0,28	
	4,5	4-6	0,33	0,28	0,30	0,28	0,31	0,29	
	4,5	7-9	0,32	0,30	0,33	0,29	0,29	0,26	
	4,5	10-12	0,31	0,27	0,31	0,31	0,30	0,28	
	6,8	1-3	0,31	0,31	0,29	0,26	0,26	0,29	
	6,8	4-6	0,31	0,32	0,31	0,28	0,29	0,28	
	6,8	7-9	0,32	0,31	0,28	0,28	0,28	0,30	
	6,8	10-12	0,28	0,33	0,32	0,28	0,30	0,27	
	7,9	1-3	0,27	0,27	0,29	0,30	0,30	0,29	
	7,9	4-6	0,30	0,31	0,27	0,28	0,29	0,30	
	7,9	7-9	0,30	0,30	0,28	0,31	0,28	0,28	
	7,9	10-12	0,33	0,29	0,30	0,30	0,28	0,26	
	4,5	1-3	0,26	0,26	0,28	0,29	0,29	0,27	
	4,5	4-6	0,32	0,30	0,32	0,29	0,30	0,28	
	4,5	7-9	0,30	0,29	0,32	0,27	0,27	0,26	
	4,5	10-12	0,31	0,29	0,29	0,32	0,29	0,27	
	6,8	1-3	0,27	0,28	0,29	0,27	0,27	0,29	
	6,8	4-6	0,28	0,30	0,30	0,32	0,29	0,28	
	6,8	7-9	0,31	0,31	0,31	0,32	0,27	0,30	
	6,8	10-12	0,33	0,32	0,31	0,32	0,26	0,27	
	7,9	1-3	0,27	0,27	0,29	0,31	0,31	0,28	
	7,9	4-6	0,29	0,28	0,28	0,30	0,32	0,29	
	7,9	7-9	0,33	0,28	0,32	0,31	0,31	0,26	
	7,9	10-12	0,32	0,28	0,27	0,30	0,29	0,28	
	4,5	1-3	0,27	0,28	0,28	0,30	0,29	0,27	
	4,5	4-6	0,31	0,32	0,32	0,28	0,28	0,26	
	4,5	7-9	0,28	0,29	0,27	0,30	0,30	0,27	
	4,5	10-12	0,29	0,33	0,30	0,28	0,30	0,25	
	6,8	1-3	0,28	0,27	0,28	0,27	0,27	0,29	
	6,8	4-6	0,31	0,33	0,31	0,31	0,25	0,29	
	6,8	7-9	0,32	0,27	0,32	0,29	0,29	0,27	
	6,8	10-12	0,28	0,30	0,30	0,27	0,27	0,28	
	7,9	1-3	0,29	0,30	0,31	0,31	0,31	0,29	
	7,9	4-6	0,27	0,28	0,29	0,29	0,30	0,30	
	7,9	7-9	0,31	0,31	0,28	0,29	0,28	0,28	
	7,9	10-12	0,28	0,30	0,28	0,33	0,30	0,28	
	4,5	1-3	0,27	0,26	0,28	0,30	0,29	0,27	
	4,5	4-6	0,27	0,30	0,28	0,30	0,29	0,26	
	4,5	7-9	0,29	0,29	0,31	0,31	0,30	0,26	
	4,5	10-12	0,33	0,31	0,29	0,29	0,29	0,28	
	6,8	1-3	0,29	0,30	0,29	0,26	0,28	0,30	
	6,8	4-6	0,29	0,31	0,31	0,32	0,27	0,30	
	6,8	7-9	0,28	0,29	0,33	0,32	0,27	0,29	
	6,8	10-12	0,32	0,31	0,28	0,33	0,29	0,28	
	7,9	1-3	0,28	0,28	0,30	0,34	0,32	0,30	
	7,9	4-6	0,33	0,29	0,28	0,29	0,31	0,29	
	7,9	7-9	0,29	0,33	0,28	0,28	0,31	0,28	
	7,9	10-12	0,29	0,29	0,30	0,27	0,29	0,30	

Πίνακας 4.4: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 6 mM καλίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο (h)	pH	Μέση συγκέντρωση ελεύθερου K ⁺ (mM)						Συγκέντωση δεσμευμένου K ⁺		Ποσοστό Δέσμησης K ⁺	
				Σκεύασμα αναφοράς	SD	%RSD	Σκεύασμα ελέγχου	SD	%RSD	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου
6	0	0,08	4,5	0,31	0,01	4,46	0,30	0,02	7,25	5,69	5,70	95	95
			6,8	0,30	0,02	6,81	0,29	0,03	10,27	5,70	5,71	95	95
			7,9	0,29	0,02	8,56	0,27	0,03	10,90	5,71	5,73	95	96
		0,25	4,5	0,31	0,01	4,81	0,31	0,01	3,06	5,69	5,69	95	95
			6,8	0,30	0,02	5,47	0,28	0,02	6,73	5,70	5,72	95	95
			7,9	0,28	0,02	6,04	0,29	0,01	5,01	5,72	5,71	95	95
		0,50	4,5	0,30	0,02	6,40	0,32	0,01	4,21	5,70	5,68	95	95
			6,8	0,31	0,03	9,25	0,30	0,01	4,49	5,69	5,70	95	95
			7,9	0,28	0,02	5,61	0,30	0,02	6,22	5,72	5,70	95	95
		1,00	4,5	0,30	0,02	5,92	0,30	0,01	5,07	5,70	5,70	95	95
			6,8	0,30	0,02	5,29	0,29	0,02	7,45	5,70	5,71	95	95
			7,9	0,29	0,02	7,15	0,30	0,02	6,00	5,71	5,70	95	95
		2,00	4,5	0,30	0,02	5,95	0,29	0,01	5,04	5,70	5,71	95	95
			6,8	0,31	0,02	4,99	0,28	0,01	4,52	5,69	5,72	95	95
			7,9	0,29	0,02	5,76	0,29	0,01	4,75	5,71	5,71	95	95
		4,00	4,5	0,29	0,02	7,30	0,30	0,02	5,31	5,71	5,70	95	95
			6,8	0,30	0,02	5,90	0,29	0,02	7,66	5,70	5,71	95	95
			7,9	0,29	0,02	7,26	0,30	0,02	5,48	5,71	5,70	95	95
		8,00	4,5	0,29	0,02	6,63	0,28	0,02	5,82	5,71	5,72	95	95
			6,8	0,30	0,02	6,69	0,28	0,02	5,62	5,70	5,72	95	95
			7,9	0,29	0,01	4,50	0,30	0,01	4,75	5,71	5,70	95	95
		24,00	4,5	0,29	0,02	6,84	0,28	0,02	5,95	5,71	5,72	95	95
			6,8	0,30	0,02	6,23	0,29	0,02	7,18	5,70	5,71	95	95
			7,9	0,29	0,02	5,70	0,30	0,02	6,45	5,71	5,70	95	95

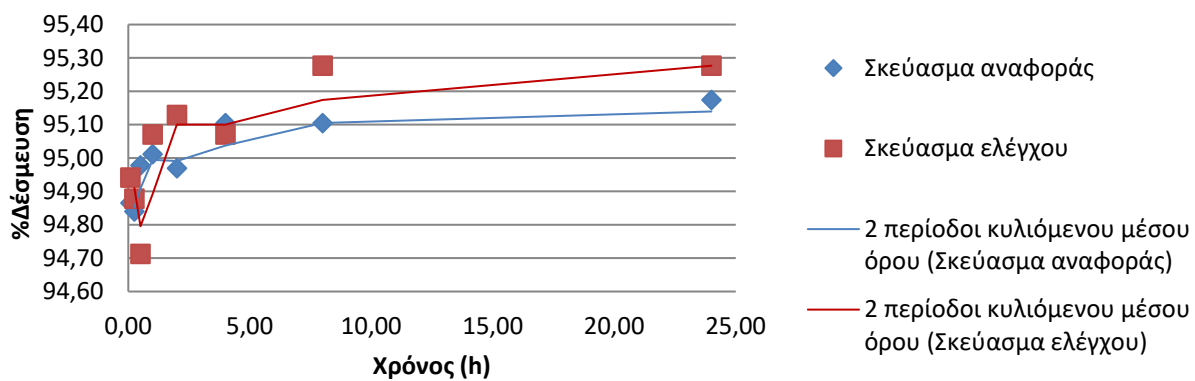
Ο παράγοντας f_2 και για τα τρία pH βρέθηκε ανάμεσα στο διάστημα 50 και 100 με αποτέλεσμα να τεκμηριώνεται η ομοιότητα και η ισοδυναμία της κινητικής των δύο ρητινών, για αυτό το επίπεδο συγκέντρωσης καλίου.

Παράγοντας Ομοιότητας (f_2)	
$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}}$	
f_2 (pH 4,5)	99,8
f_2 (pH 6,8)	99,3
f_2 (pH 7,9)	99,7

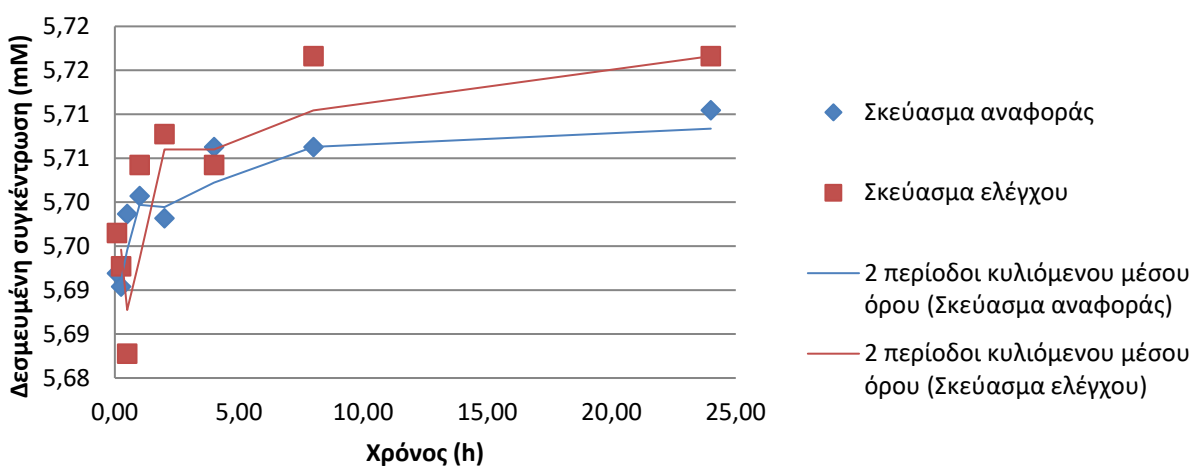
Όπως φαίνεται, η διεργασία ιονανταλλαγής είναι ταχύτατη και ήδη στα 5 min έχει ποσοστό δέσμησης πάνω από 95%, που δεν μεταβάλλεται δραστικά στη συνέχεια, και η %RSD σε κάθε χρονικό σημείο, για όλες τις τιμές pH, είναι μικρότερη του 10%.

Ακολουθούν γραφήματα ποσοστιαίας δέσμησης και συγκέντρωσης δεσμευμένου καλίου συναρτήσει του χρόνου, για τα τρία pH. Για τη χάραξη των γραφικών τάσεων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυλιόμενου μέσου δύο περιόδων (ο μέσος όρος των δύο πρώτων σημείων δεδομένων χρησιμοποιείται ως πρώτο σημείο στη γραμμή).

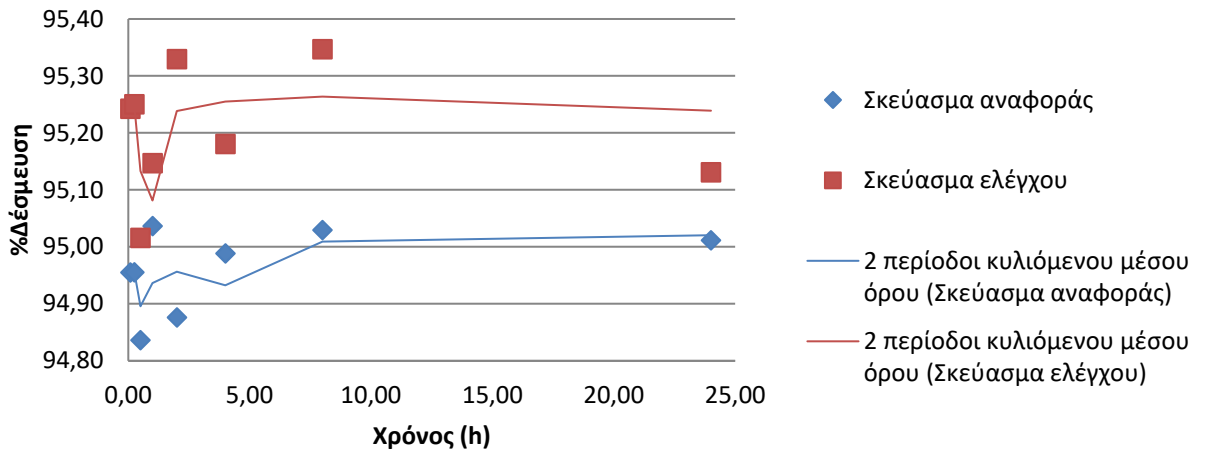
%Δέσμευση K^+ [$K^+(6 \text{ mM})$] pH 4,5



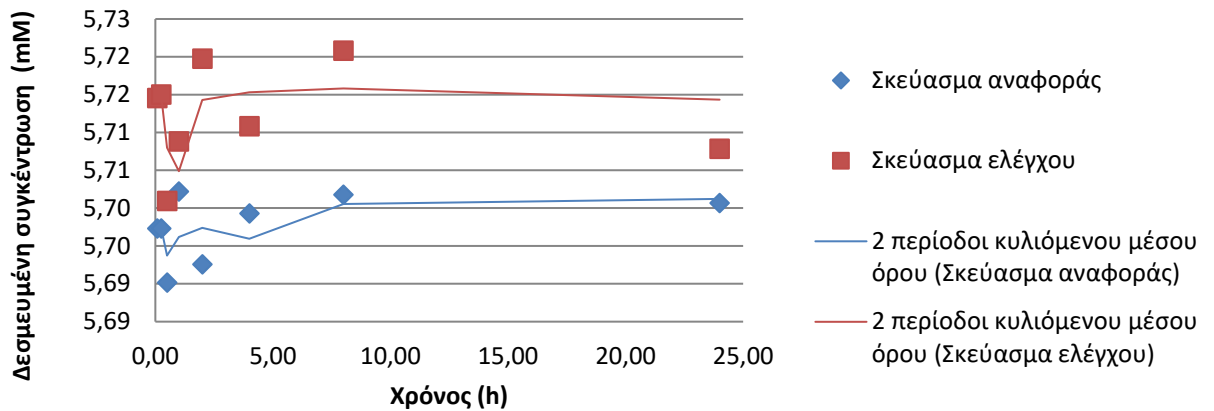
Δεσμευμένη συγκέντρωση K^+ [$K^+(6 \text{ mM})$] pH 4,5



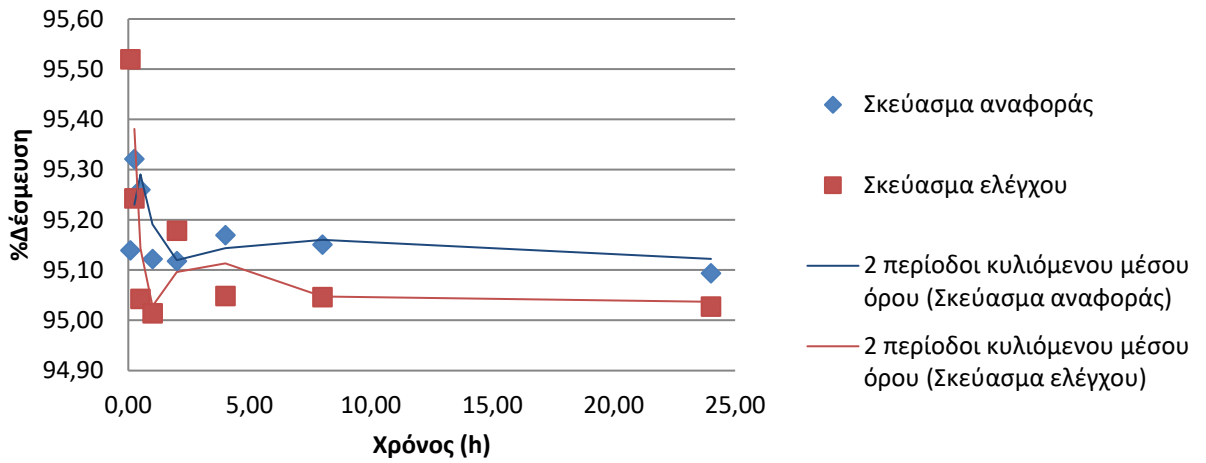
%Δέσμευση K^+ [$K^+(6 \text{ mM})$] pH 6,8



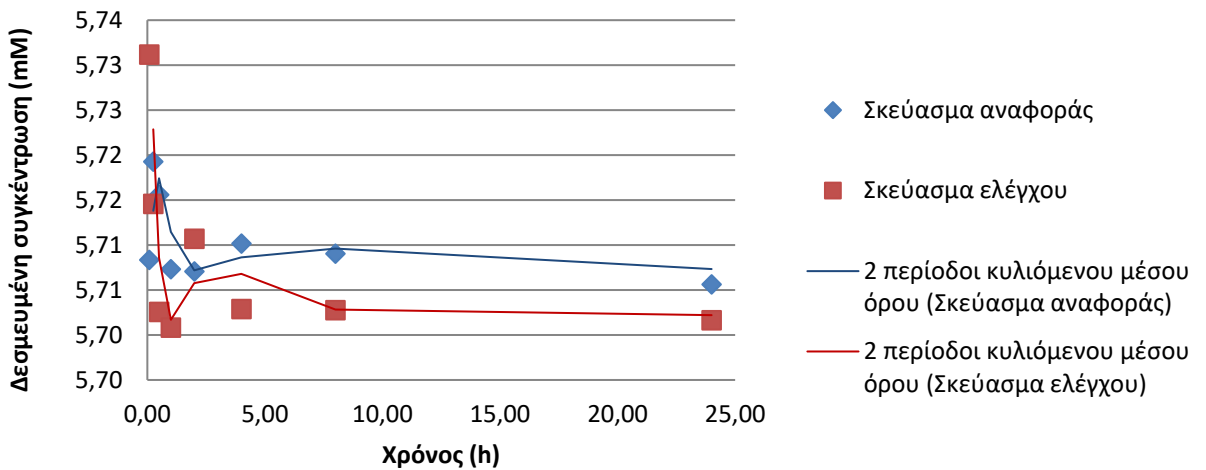
Δεσμευμένη συγκέντρωση K^+ [$K^+(6 \text{ mM})$] pH 6,8



%Δέσμευση K^+ [$K^+(6 \text{ mM})$] pH 7,9



Δεσμευμένη συγκέντρωση K^+ [$K^+(6 \text{ mM})$] pH 7,9



4.5.4.2 120 mM Καλίου

Πίνακας 4.5: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 120 mM καλίου

K ⁺ (mM)	Χρονικό σημείο	pH	Αριθμός πειράματος- σκευάσματος	Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα αναφοράς			Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα ελέγχου			
120	5 min	4,5	1-3	63,58	63,50	64,46	65,60	65,95	70,79	
		4,5	4-6	63,49	59,09	64,39	58,50	65,50	58,10	
		4,5	7-9	66,00	58,02	58,96	70,25	57,78	58,39	
		4,5	10-12	62,67	60,28	70,58	57,76	65,54	71,43	
		6,8	1-3	59,10	58,90	67,24	62,50	62,66	57,01	
		6,8	4-6	68,12	68,67	65,85	68,54	63,58	58,50	
		6,8	7-9	61,80	70,29	67,53	71,16	59,76	59,56	
		6,8	10-12	63,99	57,50	63,11	63,04	70,46	62,84	
		7,9	1-3	59,81	59,91	58,73	65,38	65,04	61,87	
		7,9	4-6	60,60	58,92	62,70	61,94	70,85	60,53	
		7,9	7-9	71,42	69,00	63,89	69,22	64,77	57,59	
		7,9	10-12	59,00	67,50	67,85	61,04	62,48	69,91	
	4,5	15 min	4,5	1-3	65,28	65,20	64,79	66,11	66,05	70,59
	4,5		4-6	61,53	63,26	60,09	60,73	59,16	70,73	
	4,5		7-9	65,92	65,08	65,41	64,56	61,35	59,55	
	4,5		10-12	69,30	61,34	58,35	66,97	66,65	68,13	
	6,8		1-3	70,74	70,63	68,40	60,94	60,89	48,74	
	6,8		4-6	65,61	70,62	60,51	64,73	57,85	69,73	
	6,8		7-9	59,83	62,17	61,79	69,82	66,25	63,46	
	6,8		10-12	63,88	58,34	63,42	69,09	64,40	62,28	
	7,9		1-3	59,75	59,77	63,18	63,60	63,69	62,18	
	7,9		4-6	58,75	58,09	64,10	61,82	65,48	68,28	
	7,9		7-9	61,21	63,32	59,36	69,85	58,35	60,97	
	7,9		10-12	65,28	62,99	65,36	66,80	65,88	67,78	
	4,5	30 min	4,5	1-3	64,15	63,98	61,40	63,22	63,16	69,85
	4,5		4-6	61,55	64,70	58,47	58,17	62,70	66,75	
	4,5		7-9	61,64	65,39	65,67	60,32	68,40	62,30	
	4,5		10-12	67,13	70,32	70,71	64,06	70,89	67,05	
	6,8		1-3	69,49	69,66	68,73	63,33	63,32	57,79	
	6,8		4-6	69,04	59,15	69,31	69,44	65,30	58,50	
	6,8		7-9	63,27	58,76	61,13	69,25	61,35	71,21	
	6,8		10-12	58,23	65,52	66,84	65,49	64,68	69,48	
	7,9		1-3	58,10	57,90	59,87	65,60	65,46	60,25	
	7,9		4-6	57,95	68,76	71,35	63,97	61,85	71,28	
	7,9		7-9	63,30	58,94	62,25	59,69	64,52	65,94	
	7,9		10-12	67,69	65,54	60,58	71,13	65,43	68,11	
	4,5	1h	4,5	1-3	64,71	64,27	64,98	61,78	61,86	70,09
	4,5		4-6	57,96	63,34	63,38	63,60	61,80	58,03	
	4,5		7-9	62,96	64,84	70,22	61,43	62,15	62,51	
	4,5		10-12	61,18	63,74	68,70	65,04	70,25	71,38	
	6,8		1-3	70,69	71,22	69,31	63,32	63,39	62,95	
	6,8		4-6	61,64	68,55	71,03	64,73	67,03	65,26	
	6,8		7-9	65,60	62,88	62,05	65,13	70,48	57,54	
	6,8		10-12	70,94	62,78	66,94	65,47	60,41	59,11	
	7,9		1-3	59,56	59,72	59,88	65,27	65,10	63,63	
	7,9		4-6	69,49	71,25	62,32	59,37	68,30	59,08	
	7,9		7-9	68,99	61,57	65,76	61,44	60,34	58,82	
	7,9		10-12	60,36	62,09	59,88	59,18	63,68	58,33	
	4,5	2h	4,5	1-3	60,37	60,23	57,30	65,87	65,73	64,83
	4,5		4-6	60,95	63,77	58,53	60,41	67,41	65,80	
	4,5		7-9	61,44	64,99	68,82	70,94	69,22	64,74	
	4,5		10-12	69,18	59,56	67,52	61,99	59,99	59,92	
	6,8		1-3	50,12	50,20	61,11	62,16	61,95	58,48	
	6,8		4-6	64,58	60,60	65,98	65,35	70,65	60,49	
	6,8		7-9	66,54	64,38	58,08	59,59	58,77	70,67	
	6,8		10-12	57,87	60,55	57,57	58,60	69,92	57,96	
	7,9		1-3	57,55	57,86	61,12	60,15	60,19	60,08	
	7,9		4-6	58,85	63,60	71,06	61,48	67,60	63,06	
	7,9		7-9	64,92	66,90	62,92	63,16	62,58	69,23	
	7,9		10-12	58,85	59,82	65,32	69,10	71,43	64,43	
	4,5	4h	4,5	1-3	64,21	64,19	63,98	66,21	66,13	70,29
	4,5		4-6	63,02	61,09	59,26	62,16	67,84	66,38	
	4,5		7-9	58,62	64,54	62,04	70,48	59,66	65,93	
	4,5		10-12	61,33	58,47	63,19	59,18	61,45	58,28	
	6,8		1-3	70,79	70,94	68,34	62,83	62,92	60,64	
	6,8		4-6	58,84	62,89	69,12	58,64	68,30	59,03	
	6,8		7-9	64,52	67,84	61,06	67,74	71,13	68,95	
	6,8		10-12	63,17	61,06	63,06	63,40	63,42	60,02	
	7,9		1-3	58,65	58,78	61,23	63,84	63,88	63,75	
	7,9		4-6	64,37	65,79	65,98	67,82	69,58	61,82	
	7,9		7-9	60,90	62,98	62,00	68,16	66,32	70,10	
	7,9		10-12	64,33	66,39	61,39	69,86	67,75	62,23	
	4,5	8h	4,5	1-3	64,46	64,49	63,62	65,70	66,10	70,34
	4,5		4-6	63,82	70,72	65,33	69,08	61,29	59,83	
	4,5		7-9	58,54	61,23	65,99	58,40	70,25	58,50	
	4,5		10-12	65,69	66,89	60,52	60,04	63,58	61,20	
	6,8		1-3	71,63	71,59	68,49	52,71	53,54	63,25	
	6,8		4-6	68,18	67,71	65,94	70,72	59,68	58,71	
	6,8		7-9	61,97	61,76	61,12	65,16	60,97	70,08	
	6,8		10-12	67,72	69,29	69,98	70,21	65,08	58,57	
	7,9		1-3	59,97	59,78	63,90	66,22	66,17	66,27	
	7,9		4-6	69,42	61,16	59,25	67,09	69,25	71,30	
	7,9		7-9	59,45	68,21	62,37	58,40	69,29	61,70	
	7,9		10-12	65,36	69,08	61,01	69,17	67,56	66,68	
	4,5	24h	4,5	1-3	63,79	63,59	57,41	52,38	53,15	68,38
	4,5		4-6	66,02	70,75	62,89	67,84	61,76	65,50	
	4,5		7-9	71,35	67,06	58,45	65,05	68,64	65,80	
	4,5		10-12	66,12	71,49	69,33	58,55	69,05	66,54	
	6,8		1-3	67,76	67,61	66,44	64,93	65,04	60,47	
	6,8		4-6	61,50	61,42	67,59	59,98	69,34	69,07	
	6,8		7-9	59,74	62,75	65,93	67,93	61,41	63,75	
	6,8		10-12	71,44	71,05	66,31	66,32	65,47	61,68	
	7,9		1-3	59,82	59,68	62,62	65,07	65,05	65,22	
	7,9		4-6	69,09	60,70	58,17	70,18	58,05	64,08	
	7,9		7-9	64,29	63,55	63,46	68,32	63,56	67,07	
	7,9		10-12	59,18	61,44	64,54	66,45	60,74	59,60	

Πίνακας 4.6: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 120 mM καλίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο (h)	pH	Μέση συγκέντρωση ελεύθερου K ⁺ (mM)						Συγκέντρωση δεσμευμένου K ⁺		Ποσοστό Δέσμευσης K ⁺	
				Σκεύασμα αναφοράς	SD	%RSD	Σκεύασμα ελέγχου	SD	%RSD	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου
120	0	0,08	4,5	62,92	3,50	5,57	63,80	5,44	8,52	57,08	56,20	47,57	46,83
			6,8	64,34	4,28	6,65	63,30	4,58	7,24	55,66	56,70	46,38	47,25
			7,9	63,28	4,54	7,18	64,22	4,10	6,39	56,72	55,78	47,27	46,48
		0,25	4,5	63,80	3,00	4,71	65,05	4,03	6,19	56,20	54,95	46,84	45,79
			6,8	64,66	4,47	6,91	63,18	5,90	9,34	55,34	56,82	46,12	47,35
			7,9	61,76	2,58	4,18	64,56	3,39	5,25	58,24	55,44	48,53	46,20
		0,50	4,5	64,59	3,63	5,62	64,74	3,87	5,98	55,41	55,26	46,17	46,05
			6,8	64,93	4,58	7,06	64,93	4,37	6,73	55,07	55,07	45,89	45,89
			7,9	62,69	4,66	7,43	65,27	3,69	5,65	57,31	54,73	47,76	45,61
		1,00	4,5	64,19	3,15	4,90	64,16	4,20	6,54	55,81	55,84	46,51	46,53
			6,8	66,97	3,83	5,71	63,73	3,52	5,53	53,03	56,27	44,19	46,89
			7,9	63,41	4,31	6,79	61,88	3,24	5,23	56,59	58,12	47,16	48,43
		2,00	4,5	62,72	4,06	6,48	64,74	3,58	5,53	57,28	55,26	47,73	46,05
			6,8	59,80	5,46	9,13	62,88	4,98	7,93	60,20	57,12	49,46	47,60
			7,9	62,40	4,15	6,65	64,37	3,98	6,19	57,60	55,63	48,00	46,36
		4,00	4,5	64,27	2,24	3,48	64,16	4,23	6,59	55,73	55,84	46,44	46,53
			6,8	65,14	4,11	6,31	63,92	4,17	6,53	54,86	56,08	45,72	46,73
			7,9	62,73	2,68	4,27	66,26	3,03	4,57	57,27	53,74	47,72	44,78
		8,00	4,5	64,27	3,18	4,95	63,69	4,49	7,04	55,73	56,31	46,44	46,92
			6,8	67,12	3,69	5,49	62,39	6,14	9,84	52,88	57,61	44,07	48,15
			7,9	63,25	3,87	6,12	66,59	3,51	5,28	56,75	53,41	47,29	44,51
		24,00	4,5	65,69	4,71	7,16	63,69	5,87	9,22	54,31	56,31	45,26	46,92
			6,8	65,80	3,48	5,28	64,62	3,24	5,01	54,20	55,38	45,17	46,15
			7,9	62,21	3,03	4,87	64,45	3,56	5,52	57,79	55,55	48,16	46,29

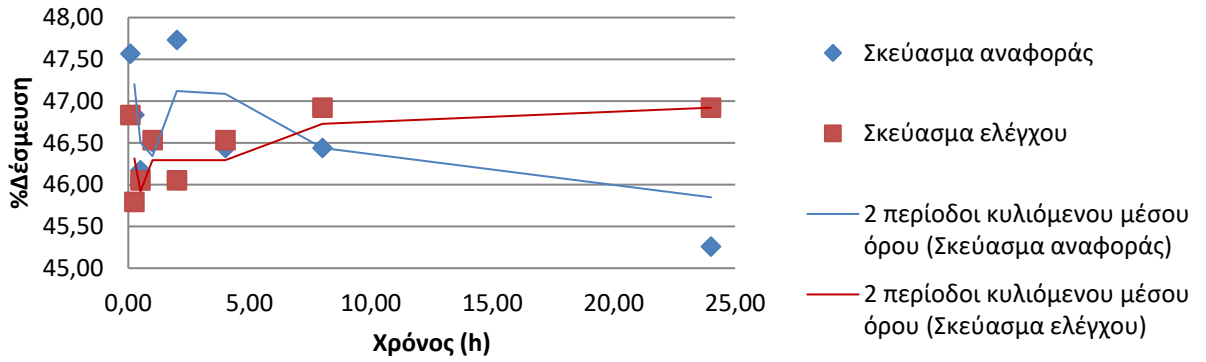
Ο παράγοντας f_2 και για τα τρία pH βρέθηκε ανάμεσα στο διάστημα 50 και 100 με αποτέλεσμα να τεκμηριώνεται η ομοιότητα και η ισοδυναμία της κινητικής των δύο ρητινών, για αυτό το επίπεδο συγκέντρωσης καλίου.

Παράγοντας Ομοιότητας (f_2)	
$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}}$	
f_2 (pH 4,5)	95,0
f_2 (pH 6,8)	82,6
f_2 (pH 7,9)	81,8

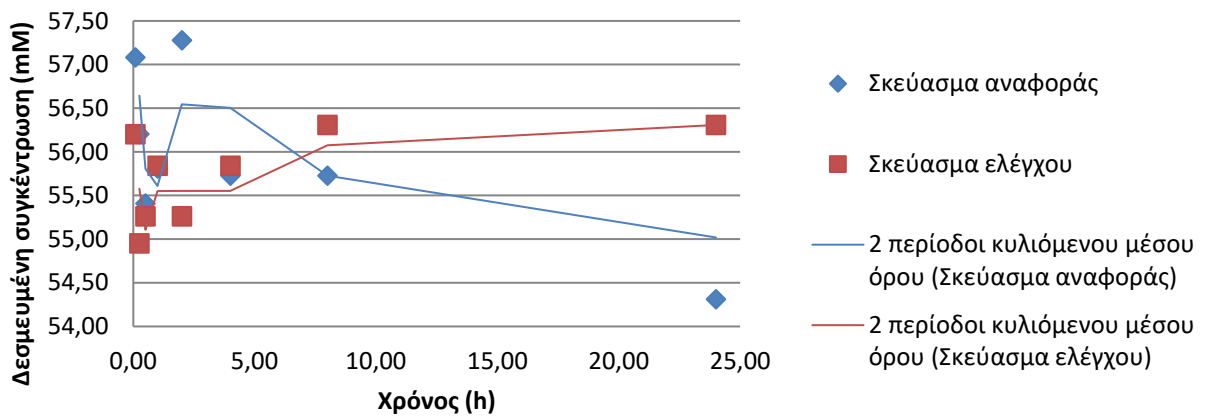
Το μέγιστο ποσοστό δέσμευσης K⁺ μειώθηκε στο 49%, σε σχέση με τα αποτελέσματα μετρήσεων για 6 mM K⁺, λόγω της παρουσίας αυξημένης συγκέντρωσης K⁺ και η %RSD σε κάθε χρονικό σημείο, για όλες τις τιμές pH, είναι μικρότερη του 10%.

Ακολουθούν γραφήματα ποσοστιαίας δέσμευσης και συγκέντρωσης δεσμευμένου καλίου συναρτήσει του χρόνου, για τα τρία pH. Για τη χάραξη των γραφικών τάσεων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυλιόμενου μέσου δύο περιόδων (ο μέσος όρος των δύο πρώτων σημείων δεδομένων χρησιμοποιείται ως πρώτο σημείο στη γραμμή).

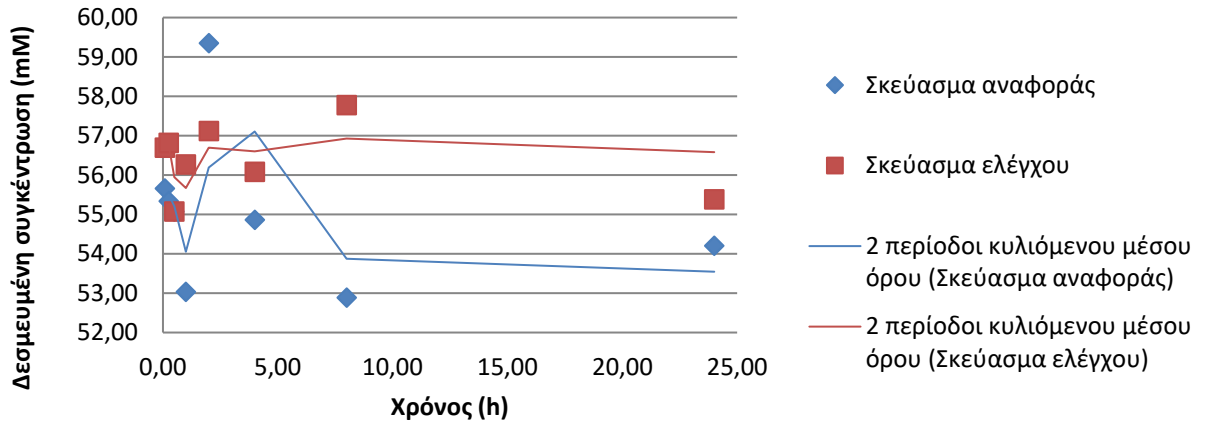
%Δέσμευση K⁺ [K⁺(120 mM)] pH 4,5



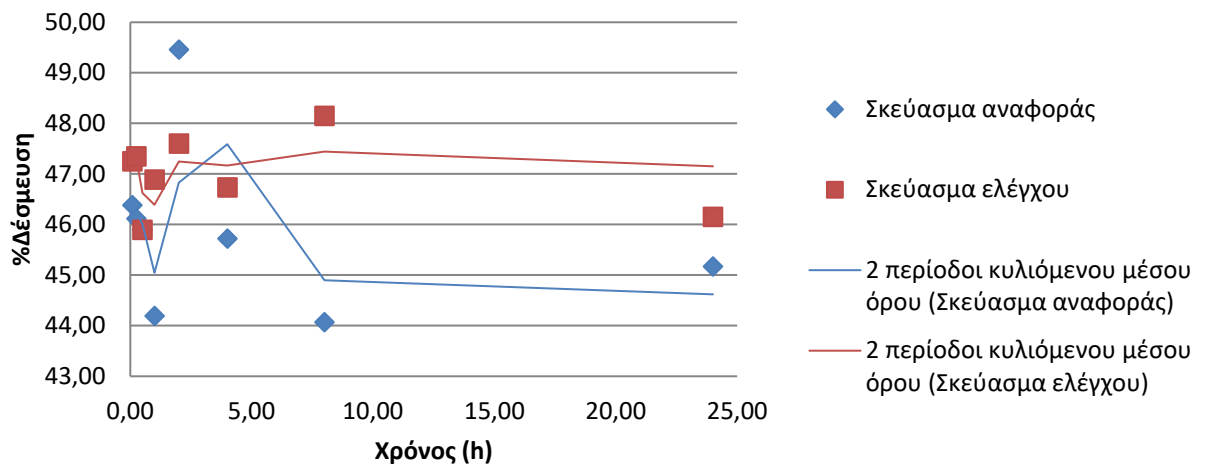
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺ [K⁺(120 mM)] pH 4,5



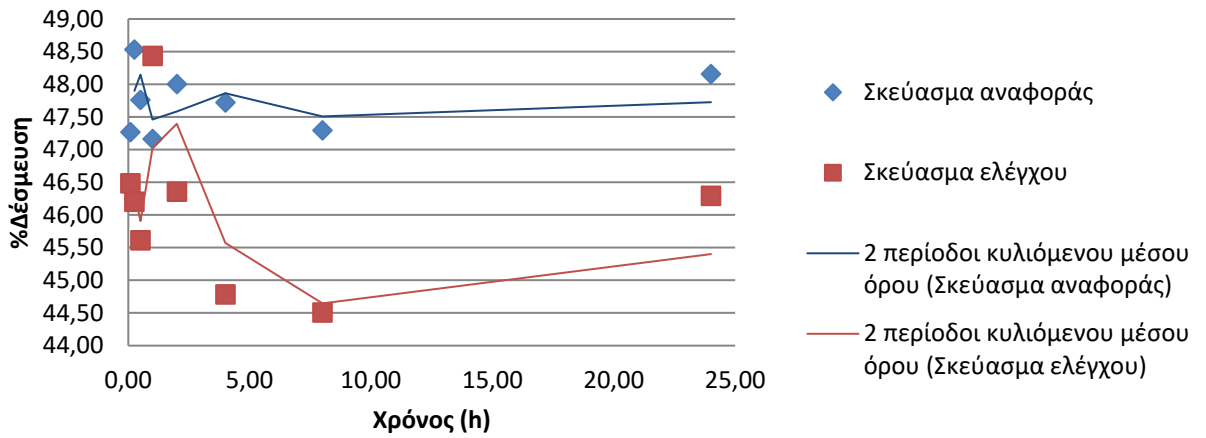
Δεσμευμένη συγκέντρωση K^+ [$K^+(120\text{ mM})$] pH 6,8



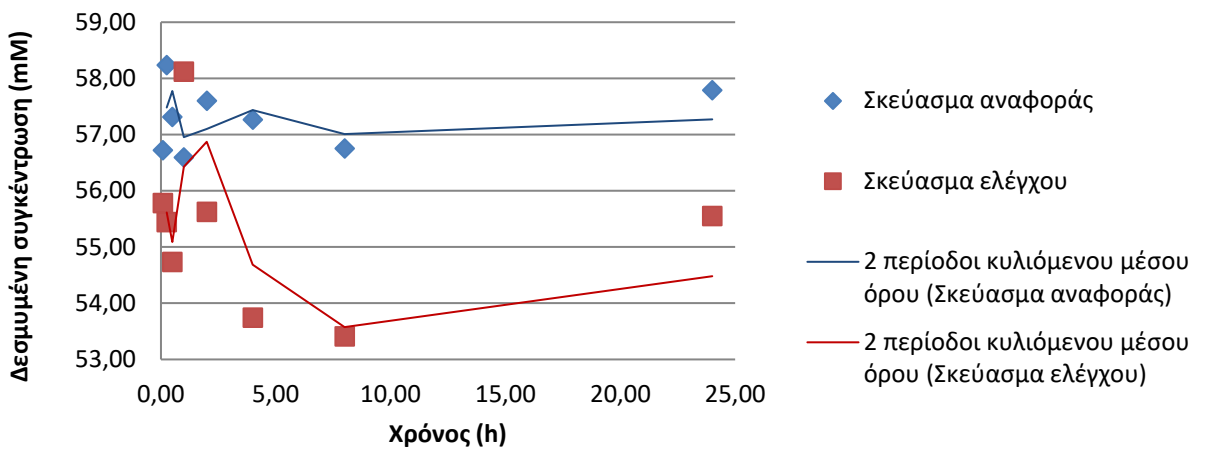
%Δέσμευση K^+ [$K^+(120\text{ mM})$] pH 6,8



%Δέσμευση K^+ [$K^+(120\text{ mM})$] pH 7,9



Δεσμευμένη συγκέντρωση K^+ [$K^+(120\text{ mM})$] pH 7,9



4.5.4.3 6 mM Καλίου παρουσία 0,3 mM Ασβεστίου

Πίνακας 4.7: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο	pH	Αριθμός πειράματος-σκευάσματος	Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα αναφοράς			Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα ελέγχου		
6	0,3	5 min	4,5	1-3	0,29	0,26	0,26	0,28	0,28	0,30
			4,5	4-6	0,29	0,28	0,29	0,30	0,26	0,26
			4,5	7-9	0,30	0,26	0,25	0,26	0,30	0,27
			4,5	10-12	0,30	0,27	0,26	0,30	0,32	0,25
			6,8	1-3	0,29	0,29	0,26	0,29	0,29	0,27
			6,8	4-6	0,31	0,30	0,31	0,30	0,30	0,32
			6,8	7-9	0,29	0,25	0,28	0,26	0,26	0,29
			6,8	10-12	0,30	0,26	0,31	0,30	0,29	0,32
			7,9	1-3	0,28	0,27	0,25	0,24	0,24	0,28
			7,9	4-6	0,27	0,25	0,25	0,32	0,30	0,31
			7,9	7-9	0,28	0,28	0,29	0,27	0,28	0,28
			7,9	10-12	0,27	0,30	0,30	0,27	0,28	0,26
		15 min	4,5	1-3	0,28	0,28	0,28	0,28	0,28	0,27
			4,5	4-6	0,30	0,29	0,31	0,32	0,27	0,27
			4,5	7-9	0,31	0,27	0,28	0,31	0,28	0,28
			4,5	10-12	0,28	0,25	0,31	0,27	0,29	0,29
			6,8	1-3	0,29	0,29	0,24	0,30	0,29	0,28
			6,8	4-6	0,29	0,30	0,29	0,32	0,25	0,28
			6,8	7-9	0,27	0,26	0,27	0,31	0,28	0,26
			6,8	10-12	0,30	0,27	0,25	0,28	0,29	0,25
			7,9	1-3	0,26	0,26	0,27	0,29	0,29	0,28
			7,9	4-6	0,28	0,31	0,29	0,30	0,26	0,29
			7,9	7-9	0,25	0,27	0,25	0,29	0,31	0,30
			7,9	10-12	0,30	0,27	0,30	0,29	0,29	0,26
		30 min	4,5	1-3	0,24	0,24	0,28	0,26	0,26	0,26
			4,5	4-6	0,29	0,27	0,27	0,25	0,25	0,31
			4,5	7-9	0,28	0,31	0,28	0,28	0,25	0,29
			4,5	10-12	0,26	0,30	0,27	0,26	0,30	0,28
			6,8	1-3	0,25	0,25	0,27	0,24	0,26	0,28
			6,8	4-6	0,27	0,30	0,30	0,26	0,25	0,27
			6,8	7-9	0,30	0,31	0,29	0,27	0,28	0,32
			6,8	10-12	0,28	0,30	0,30	0,27	0,31	0,25
			7,9	1-3	0,28	0,28	0,27	0,28	0,28	0,29
			7,9	4-6	0,28	0,31	0,28	0,28	0,29	0,26
			7,9	7-9	0,30	0,25	0,29	0,30	0,32	0,25
			7,9	10-12	0,28	0,26	0,32	0,26	0,26	0,29
		1h	4,5	1-3	0,31	0,28	0,27	0,28	0,28	0,31
			4,5	4-6	0,31	0,31	0,29	0,28	0,32	0,26
			4,5	7-9	0,31	0,29	0,29	0,28	0,30	0,28
			4,5	10-12	0,31	0,29	0,30	0,26	0,25	0,27
			6,8	1-3	0,30	0,29	0,27	0,30	0,30	0,28
			6,8	4-6	0,28	0,27	0,29	0,26	0,32	0,31
			6,8	7-9	0,25	0,29	0,27	0,26	0,27	0,28
			6,8	10-12	0,31	0,31	0,28	0,32	0,26	0,27
			7,9	1-3	0,27	0,26	0,28	0,29	0,29	0,26
			7,9	4-6	0,26	0,32	0,30	0,29	0,30	0,31
			7,9	7-9	0,28	0,30	0,25	0,30	0,27	0,28
			7,9	10-12	0,28	0,30	0,28	0,31	0,32	0,32
		2h	4,5	1-3	0,27	0,28	0,28	0,29	0,29	0,29
			4,5	4-6	0,30	0,28	0,31	0,29	0,27	0,27
			4,5	7-9	0,31	0,29	0,29	0,30	0,25	0,27
			4,5	10-12	0,28	0,29	0,30	0,29	0,29	0,27
			6,8	1-3	0,28	0,28	0,25	0,30	0,30	0,28
			6,8	4-6	0,26	0,27	0,30	0,32	0,28	0,32
			6,8	7-9	0,30	0,32	0,25	0,30	0,29	0,30
			6,8	10-12	0,28	0,30	0,30	0,31	0,31	0,27
			7,9	1-3	0,28	0,28	0,28	0,27	0,28	0,27
			7,9	4-6	0,26	0,29	0,27	0,31	0,27	0,26
			7,9	7-9	0,32	0,26	0,27	0,29	0,25	0,29
			7,9	10-12	0,28	0,28	0,26	0,31	0,27	0,26
		4h	4,5	1-3	0,27	0,28	0,26	0,29	0,29	0,29
			4,5	4-6	0,31	0,25	0,27	0,27	0,30	0,26
			4,5	7-9	0,27	0,30	0,27	0,28	0,31	0,31
			4,5	10-12	0,29	0,30	0,32	0,25	0,32	0,29
			6,8	1-3	0,29	0,29	0,28	0,31	0,30	0,26
			6,8	4-6	0,31	0,27	0,26	0,30	0,29	0,27
			6,8	7-9	0,27	0,31	0,29	0,31	0,27	0,28
			6,8	10-12	0,31	0,27	0,28	0,26	0,25	0,28
			7,9	1-3	0,28	0,28	0,28	0,29	0,30	0,29
			7,9	4-6	0,29	0,26	0,30	0,28	0,31	0,27
			7,9	7-9	0,26	0,27	0,28	0,29	0,31	0,30
			7,9	10-12	0,25	0,27	0,27	0,27	0,25	0,26
		8h	4,5	1-3	0,28	0,28	0,29	0,28	0,30	0,30
			4,5	4-6	0,28	0,28	0,26	0,29	0,27	0,32
			4,5	7-9	0,32	0,29	0,28	0,32	0,26	0,30
			4,5	10-12	0,31	0,27	0,26	0,30	0,26	0,30
			6,8	1-3	0,32	0,32	0,29	0,31	0,31	0,28
			6,8	4-6	0,26	0,31	0,29	0,25	0,28	0,31
			6,8	7-9	0,26	0,29	0,30	0,30	0,26	0,26
			6,8	10-12	0,25	0,27	0,28	0,28	0,31	0,32
			7,9	1-3	0,30	0,30	0,28	0,30	0,30	0,30
			7,9	4-6	0,31	0,28	0,28	0,31	0,27	0,30
			7,9	7-9	0,26	0,28	0,28	0,25	0,28	0,27
			7,9	10-12	0,31	0,28	0,26	0,26	0,29	0,25
		24h	4,5	1-3	0,27	0,27	0,26	0,25	0,27	0,26
			4,5	4-6	0,28	0,29	0,25	0,30	0,27	0,28
			4,5	7-9	0,30	0,31	0,31	0,30	0,29	0,30
			4,5	10-12	0,31	0,26	0,29	0,28	0,25	0,26
			6,8	1-3	0,28	0,29	0,26	0,28	0,28	0,28
			6,8	4-6	0,32	0,27	0,25	0,27	0,27	0,28
			6,8	7-9	0,30	0,30	0,31	0,32	0,30	0,29
			6,8	10-12	0,27	0,31	0,28	0,25	0,32	0,25
			7,9	1-3	0,30	0,29	0,29	0,30	0,31	0,30
			7,9	4-6	0,28	0,32	0,31	0,26	0,31	0,32
			7,9	7-9	0,25	0,29	0,30	0,29	0,28	0,32
			7,9	10-12	0,27	0,31	0,29	0,26	0,30	0,26

Πίνακας 4.8: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο (h)	pH	Μέση συγκέντρωση ελεύθερου Καλίου						Συγκέντρωση Δεσμευμένου		Ποσοστό Δέσμευσης	
				Σκεύασμα αναφοράς	SD	%RSD	Σκεύασμα ελέγχου	SD	%RSD	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου
6	0.3	0,08	4,5	0,28	0,02	5,96	0,28	0,02	7,17	5,72	5,72	95,40	95,30
			6,8	0,29	0,02	7,53	0,29	0,02	6,78	5,71	5,71	95,21	95,17
			7,9	0,27	0,02	6,39	0,28	0,02	8,50	5,73	5,72	95,42	95,38
		0,25	4,5	0,29	0,02	6,17	0,29	0,01	5,18	5,71	5,71	95,21	95,24
			6,8	0,28	0,02	6,65	0,28	0,02	7,54	5,72	5,72	95,39	95,29
			7,9	0,28	0,02	6,74	0,29	0,01	4,96	5,72	5,71	95,40	95,20
		0,50	4,5	0,27	0,02	7,77	0,27	0,02	7,79	5,73	5,73	95,42	95,48
			6,8	0,28	0,02	7,29	0,27	0,02	7,90	5,72	5,73	95,25	95,46
			7,9	0,28	0,02	6,80	0,28	0,02	6,74	5,72	5,72	95,28	95,33
		1,00	4,5	0,30	0,01	4,64	0,28	0,02	7,38	5,70	5,72	95,07	95,33
			6,8	0,29	0,02	6,11	0,29	0,02	8,30	5,71	5,71	95,24	95,23
			7,9	0,28	0,02	7,17	0,29	0,02	6,01	5,72	5,71	95,31	95,09
		2,00	4,5	0,29	0,01	4,72	0,28	0,01	4,99	5,71	5,72	95,17	95,32
			6,8	0,28	0,02	7,73	0,30	0,02	5,35	5,72	5,70	95,32	95,03
			7,9	0,28	0,02	5,80	0,28	0,02	7,52	5,72	5,72	95,38	95,38
		4,00	4,5	0,28	0,02	6,84	0,28	0,02	7,19	5,72	5,72	95,28	95,33
			6,8	0,28	0,02	6,65	0,28	0,02	7,04	5,72	5,72	95,27	95,31
			7,9	0,27	0,01	4,52	0,28	0,02	6,38	5,73	5,72	95,43	95,26
		8,00	4,5	0,28	0,02	5,99	0,29	0,02	6,87	5,72	5,71	95,28	95,14
			6,8	0,29	0,02	8,09	0,29	0,02	8,09	5,71	5,71	95,21	95,17
			7,9	0,29	0,02	5,42	0,28	0,02	7,44	5,71	5,72	95,23	95,30
		24,00	4,5	0,28	0,02	7,72	0,29	0,02	6,17	5,72	5,71	95,27	95,14
			6,8	0,29	0,02	7,31	0,28	0,02	7,49	5,71	5,72	95,20	95,29
			7,9	0,29	0,02	5,93	0,29	0,02	7,81	5,71	5,71	95,12	95,14

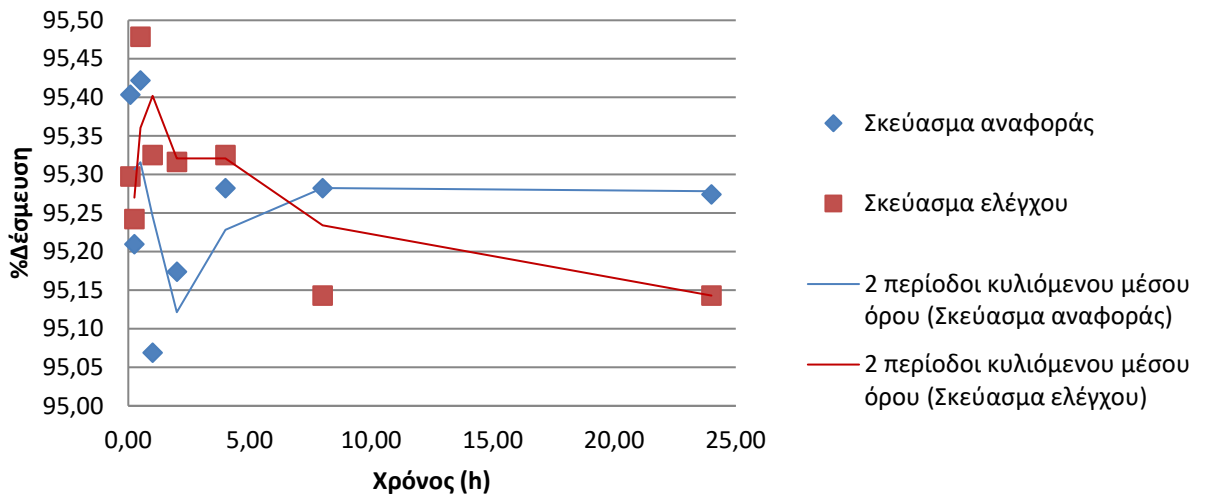
Ο παράγοντας f_2 και για τα τρία pH βρέθηκε ανάμεσα στο διάστημα 50 και 100 με αποτέλεσμα να τεκμηριώνεται η ομοιότητα και η ισοδυναμία της κινητικής των δύο ρητινών, για αυτό το επίπεδο συγκέντρωσης καλίου και παρουσία Ca^{2+} (0,3 mM).

Παράγοντας Ομοιότητας (f_2)	
$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}}$	
f_2 (pH 4,5)	99,8
f_2 (pH 6,8)	99,8
f_2 (pH 7,9)	99,8

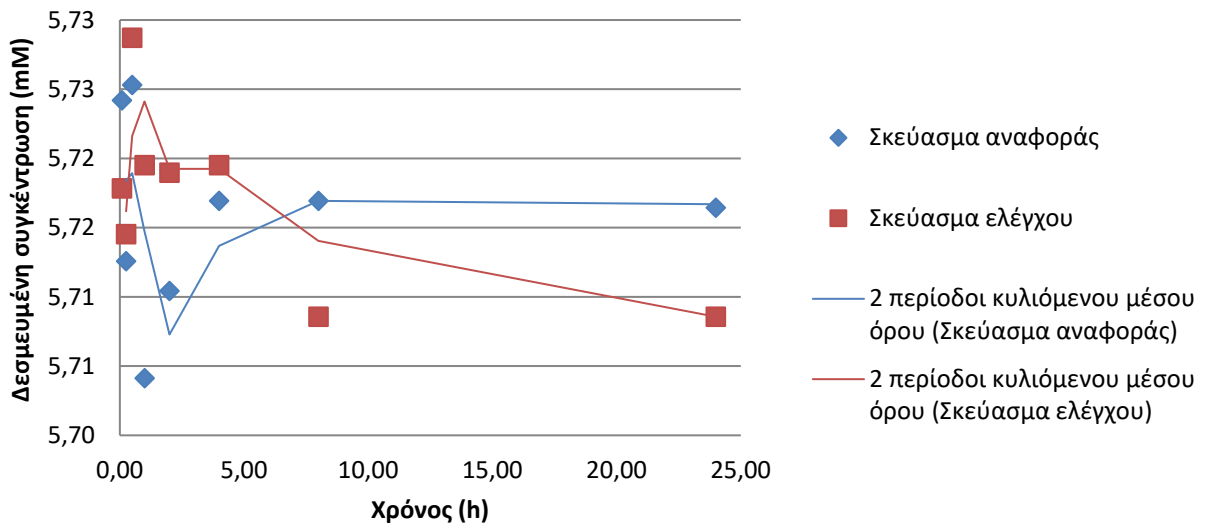
Όπως φαίνεται η διεργασία ιονανταλλαγής είναι ταχύτατη και ήδη στα 5 min έχει ποσοστό δέσμευσης πάνω από 95%, που δεν μεταβάλλεται δραστικά στη συνέχεια, και η %RSD σε κάθε χρονικό σημείο, για όλες τις τιμές pH, είναι μικρότερη του 10%.

Ακολουθούν γραφήματα ποσοστιαίας δέσμευσης και συγκέντρωσης δεσμευμένου καλίου συναρτήσεως του χρόνου, για τα τρία pH. Για τη χάραξη των γραφικών τάσεων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυλιόμενου μέσου δύο περιόδων (ο μέσος όρος των δύο πρώτων σημείων δεδομένων χρησιμοποιείται ως πρώτο σημείο στη γραμμή).

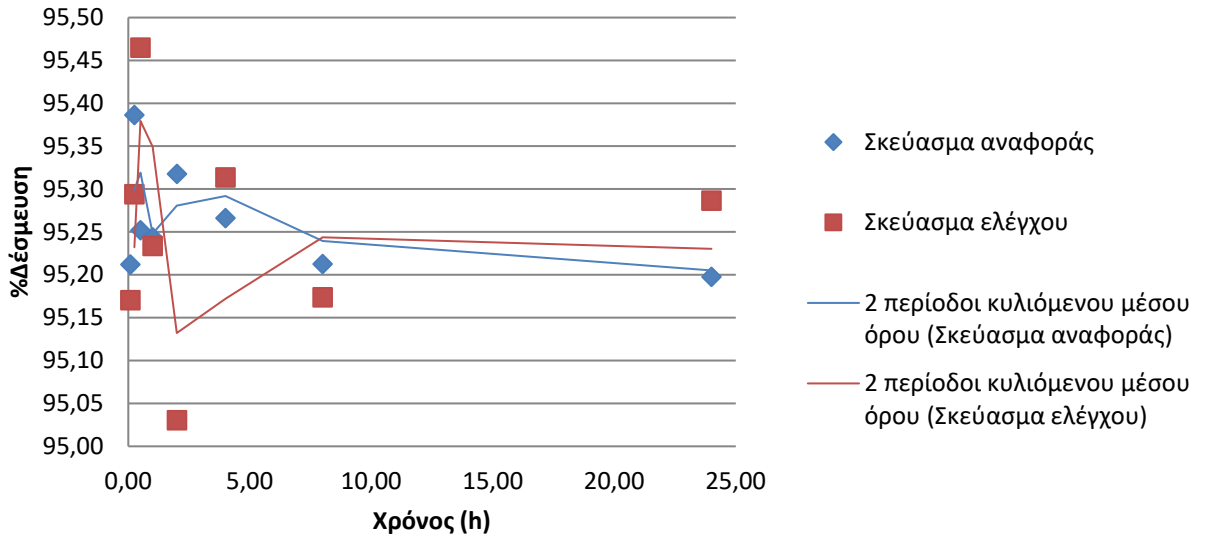
%Δέσμευση
K⁺ [K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 4,5



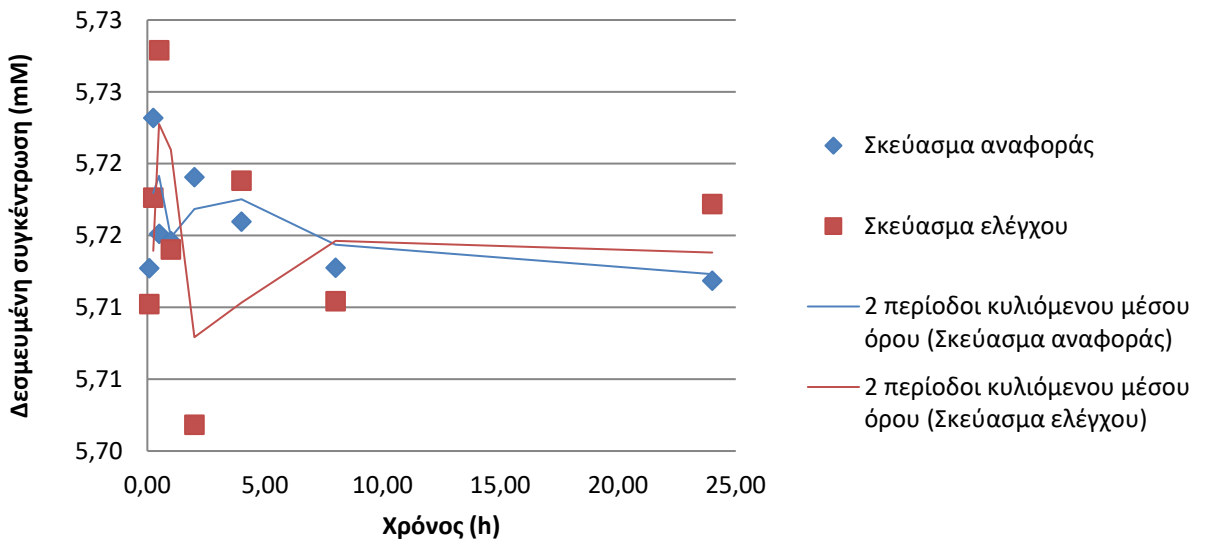
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 4,5



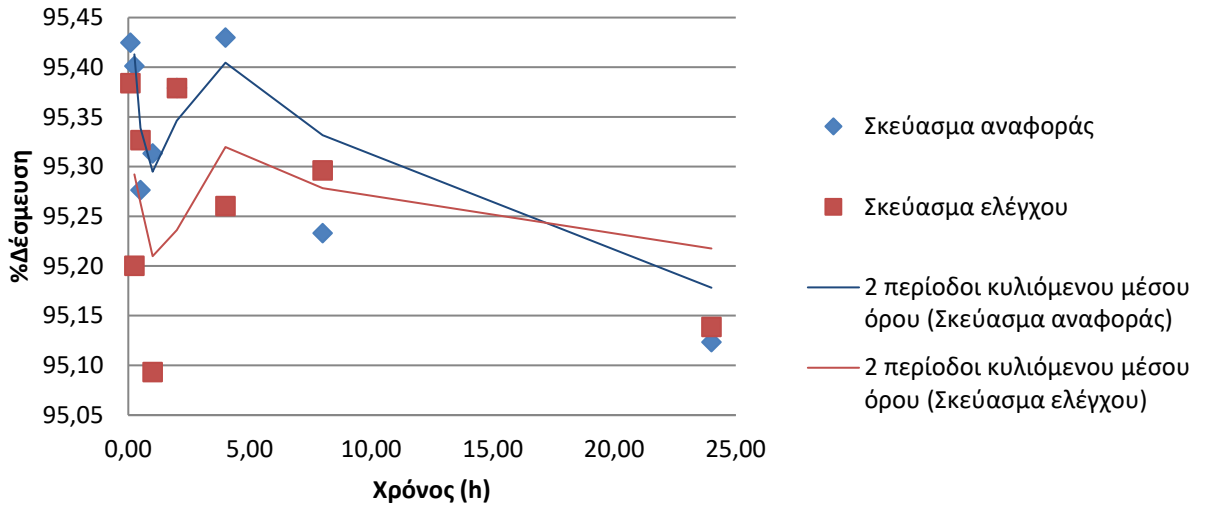
%Δέσμευση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 6,8



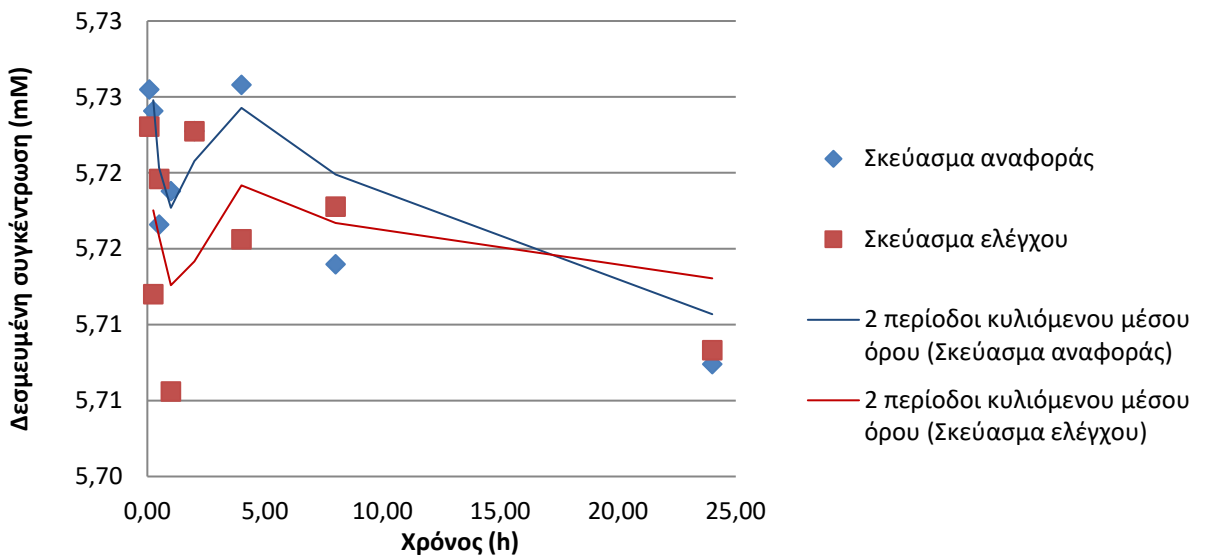
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 6,8



%Δέσμευση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 7,9



Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 7,9



4.5.4.4 6 mM Καλίου παρουσία 10 mM Ασβεστίου

Πίνακας 4.9: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο	pH	Αριθμός πειράματος-σκευάσματος	Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα αναφοράς			Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα ελέγχου		
6	10	5 min	4,5	1-3	0,88	0,89	0,81	0,84	0,83	0,87
			4,5	4-6	0,80	0,91	0,81	0,92	0,76	0,92
			4,5	7-9	0,79	0,79	0,87	0,83	0,81	0,88
			4,5	10-12	0,79	0,87	0,79	0,90	0,81	0,80
			6,8	1-3	0,81	0,79	0,91	0,87	0,87	0,86
			6,8	4-6	0,77	0,93	0,83	0,93	0,83	0,77
			6,8	7-9	0,87	0,88	0,76	0,81	0,82	0,76
			6,8	10-12	0,85	0,87	0,76	0,93	0,81	0,90
			7,9	1-3	0,89	0,89	0,85	0,83	0,82	0,84
			7,9	4-6	0,76	0,82	0,78	0,89	0,88	0,85
			7,9	7-9	0,86	0,87	0,75	0,87	0,90	0,83
			7,9	10-12	0,84	0,82	0,78	0,77	0,85	0,87
		15 min	4,5	1-3	0,80	0,80	0,95	0,84	0,84	0,85
			4,5	4-6	0,90	0,82	0,89	0,86	0,77	0,79
			4,5	7-9	0,78	0,80	0,92	0,88	0,92	0,77
			4,5	10-12	0,89	0,89	0,77	0,78	0,85	0,82
			6,8	1-3	0,82	0,82	0,88	0,89	0,88	0,85
			6,8	4-6	0,82	0,81	0,75	0,80	0,81	0,77
			6,8	7-9	0,93	0,87	0,90	0,92	0,83	0,92
			6,8	10-12	0,88	0,77	0,76	0,86	0,78	0,83
			7,9	1-3	0,87	0,88	0,86	0,83	0,84	0,85
			7,9	4-6	0,79	0,91	0,77	0,89	0,90	0,80
			7,9	7-9	0,77	0,76	0,85	0,85	0,79	0,92
			7,9	10-12	0,92	0,92	0,89	0,87	0,89	0,87
		30 min	4,5	1-3	0,80	0,79	0,92	0,83	0,83	0,84
			4,5	4-6	0,79	0,92	0,90	0,91	0,81	0,77
			4,5	7-9	0,90	0,88	0,92	0,93	0,78	0,75
			4,5	10-12	0,86	0,79	0,85	0,92	0,81	0,78
			6,8	1-3	0,89	0,89	0,87	0,89	0,89	0,85
			6,8	4-6	0,86	0,85	0,75	0,90	0,80	0,89
			6,8	7-9	0,82	0,82	0,79	0,80	0,89	0,87
			6,8	10-12	0,89	0,79	0,94	0,77	0,91	0,87
			7,9	1-3	0,88	0,88	0,85	0,78	0,78	0,83
			7,9	4-6	0,79	0,87	0,79	0,80	0,77	0,88
			7,9	7-9	0,89	0,87	0,88	0,77	0,87	0,79
			7,9	10-12	0,76	0,87	0,87	0,93	0,91	0,81
		1h	4,5	1-3	0,86	0,86	0,95	0,79	0,79	0,85
			4,5	4-6	0,93	0,91	0,89	0,76	0,86	0,84
			4,5	7-9	0,94	0,86	0,91	0,79	0,92	0,92
			4,5	10-12	0,88	0,79	0,92	0,92	0,79	0,83
			6,8	1-3	0,82	0,80	0,84	0,85	0,80	0,81
			6,8	4-6	0,81	0,85	0,91	0,77	0,85	0,92
			6,8	7-9	0,89	0,90	0,93	0,76	0,91	0,84
			6,8	10-12	0,86	0,80	0,77	0,84	0,83	0,78
			7,9	1-3	0,88	0,88	0,86	0,81	0,81	0,83
			7,9	4-6	0,79	0,90	0,83	0,89	0,93	0,92
			7,9	7-9	0,84	0,84	0,91	0,85	0,84	0,84
			7,9	10-12	0,79	0,78	0,75	0,76	0,88	0,79
		2h	4,5	1-3	0,85	0,84	0,92	0,82	0,82	0,83
			4,5	4-6	0,89	0,78	0,85	0,82	0,86	0,91
			4,5	7-9	0,83	0,86	0,88	0,93	0,86	0,93
			4,5	10-12	0,84	0,76	0,87	0,92	0,93	0,85
			6,8	1-3	0,86	0,84	0,85	0,86	0,87	0,80
			6,8	4-6	0,87	0,91	0,81	0,78	0,85	0,84
			6,8	7-9	0,92	0,79	0,93	0,83	0,87	0,81
			6,8	10-12	0,80	0,93	0,83	0,80	0,76	0,83
			7,9	1-3	0,88	0,88	0,84	0,83	0,83	0,79
			7,9	4-6	0,90	0,90	0,83	0,82	0,79	0,81
			7,9	7-9	0,84	0,85	0,76	0,85	0,90	0,90
			7,9	10-12	0,93	0,79	0,90	0,76	0,78	0,81
		4h	4,5	1-3	0,78	0,80	0,95	0,70	0,70	0,73
			4,5	4-6	0,84	0,91	0,85	0,81	0,83	0,92
			4,5	7-9	0,87	0,89	0,93	0,83	0,79	0,83
			4,5	10-12	0,80	0,81	0,76	0,76	0,83	0,85
			6,8	1-3	0,88	0,89	0,89	0,88	0,88	0,87
			6,8	4-6	0,83	0,77	0,87	0,82	0,84	0,80
			6,8	7-9	0,77	0,76	0,82	0,84	0,85	0,91
			6,8	10-12	0,80	0,79	0,87	0,93	0,82	0,78
			7,9	1-3	0,86	0,85	0,87	0,85	0,84	0,83
			7,9	4-6	0,87	0,91	0,79	0,87	0,92	0,76
			7,9	7-9	0,86	0,90	0,81	0,79	0,83	0,85
			7,9	10-12	0,91	0,92	0,84	0,89	0,91	0,84
		8h	4,5	1-3	0,88	0,88	0,95	0,85	0,85	0,95
			4,5	4-6	0,82	0,80	0,80	0,81	0,85	0,93
			4,5	7-9	0,76	0,81	0,84	0,89	0,82	0,81
			4,5	10-12	0,80	0,87	0,84	0,82	0,80	0,88
			6,8	1-3	0,88	0,88	0,89	0,88	0,88	0,84
			6,8	4-6	0,93	0,85	0,88	0,87	0,80	0,82
			6,8	7-9	0,89	0,87	0,78	0,92	0,89	0,92
			6,8	10-12	0,79	0,85	0,91	0,93	0,77	0,82
			7,9	1-3	0,89	0,88	0,75	0,84	0,84	0,86
			7,9	4-6	0,82	0,78	0,77	0,91	0,80	0,85
			7,9	7-9	0,80	0,77	0,78	0,84	0,91	0,76
			7,9	10-12	0,77	0,78	0,89	0,88	0,92	0,90
		24h	4,5	1-3	0,90	0,91	0,93	0,81	0,81	0,84
			4,5	4-6	0,79	0,87	0,92	0,87	0,92	0,86
			4,5	7-9	0,92	0,75	0,78	0,83	0,75	0,86
			4,5	10-12	0,91	0,86	0,83	0,94	0,78	0,91
			6,8	1-3	0,91	0,91	0,79	0,89	0,89	0,82
			6,8	4-6	0,75	0,80	0,85	0,82	0,78	0,82
			6,8	7-9	0,85	0,75	0,81	0,81	0,75	0,84
			6,8	10-12	0,89	0,76	0,83	0,82	0,77	0,85
			7,9	1-3	0,91	0,91	0,76	0,87	0,86	0,82
			7,9	4-6	0,88	0,93	0,80	0,76	0,87	0,76
			7,9	7-9	0,78	0,77	0,90	0,76	0,80	0,88
			7,9	10-12	0,91	0,89	0,80	0,90	0,78	0,82

Πίνακας 4.10: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 6 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο (h)	pH	Μέση συγκέντρωση ελεύθρου Καλίου						Συγκέντρωση Δεσμευμένου		Ποσοστό Δέσμευσης	
				Σκεύασμα αναφοράς	SD	%RSD	Σκεύασμα ελέγχου	SD	%RSD	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου
6	10	0,08	4,5	0,83	0,05	5,44	0,85	0,05	5,87	5,17	5,15	86,13	85,86
			6,8	0,84	0,06	7,06	0,85	0,06	6,58	5,16	5,15	86,07	85,88
			7,9	0,83	0,05	6,02	0,85	0,04	4,32	5,17	5,15	86,22	85,86
		0,25	4,5	0,85	0,06	7,23	0,83	0,05	5,53	5,15	5,17	85,83	86,15
			6,8	0,83	0,06	6,97	0,85	0,05	6,03	5,17	5,15	86,10	85,90
			7,9	0,85	0,06	7,05	0,86	0,04	4,62	5,15	5,14	85,84	85,70
		0,50	4,5	0,86	0,06	6,40	0,83	0,06	7,51	5,14	5,17	85,65	86,17
			6,8	0,85	0,05	6,18	0,86	0,05	5,40	5,15	5,14	85,90	85,65
			7,9	0,85	0,04	5,06	0,83	0,06	6,87	5,15	5,17	85,84	86,23
		1,00	4,5	0,89	0,05	5,06	0,84	0,06	6,81	5,11	5,16	85,16	86,05
			6,8	0,85	0,05	5,89	0,83	0,05	6,15	5,15	5,17	85,86	86,16
			7,9	0,84	0,05	6,14	0,87	0,05	6,16	5,16	5,15	86,01	85,89
		2,00	4,5	0,85	0,04	5,17	0,87	0,05	5,52	5,15	5,13	85,89	85,46
			6,8	0,86	0,05	5,82	0,83	0,03	4,16	5,14	5,17	85,67	86,24
			7,9	0,86	0,05	5,67	0,82	0,04	5,39	5,14	5,18	85,67	86,27
		4,00	4,5	0,84	0,06	7,35	0,84	0,06	7,71	5,16	5,16	86,04	86,05
			6,8	0,83	0,05	5,94	0,85	0,04	5,27	5,17	5,15	86,18	85,82
			7,9	0,87	0,04	4,75	0,85	0,04	5,26	5,13	5,15	85,57	85,85
		8,00	4,5	0,84	0,05	6,23	0,85	0,05	5,73	5,16	5,15	86,04	85,76
			6,8	0,87	0,04	5,17	0,86	0,05	5,99	5,13	5,14	85,56	85,65
			7,9	0,81	0,05	6,46	0,86	0,05	5,59	5,19	5,14	86,57	85,65
		24,00	4,5	0,86	0,06	7,30	0,85	0,06	6,56	5,14	5,15	85,60	85,76
			6,8	0,83	0,05	6,02	0,82	0,04	5,16	5,17	5,18	86,22	86,32
					7,9	0,85	0,06	7,56	0,82	0,05	6,21	5,15	5,18

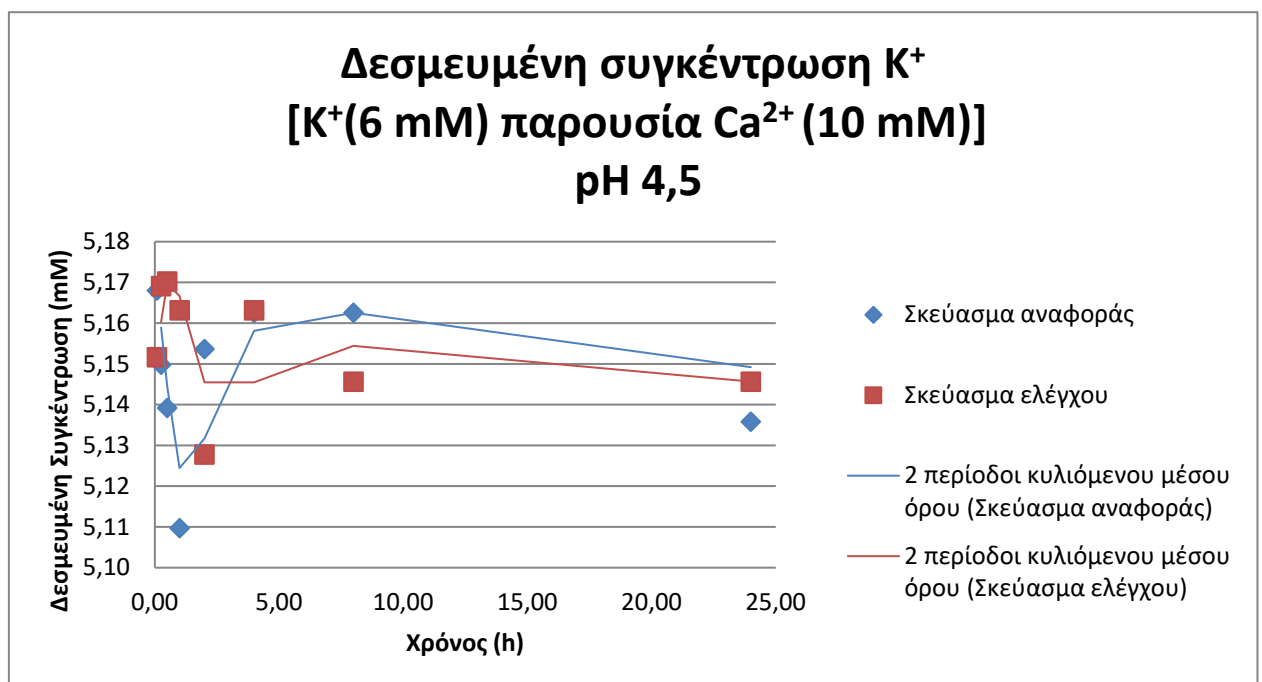
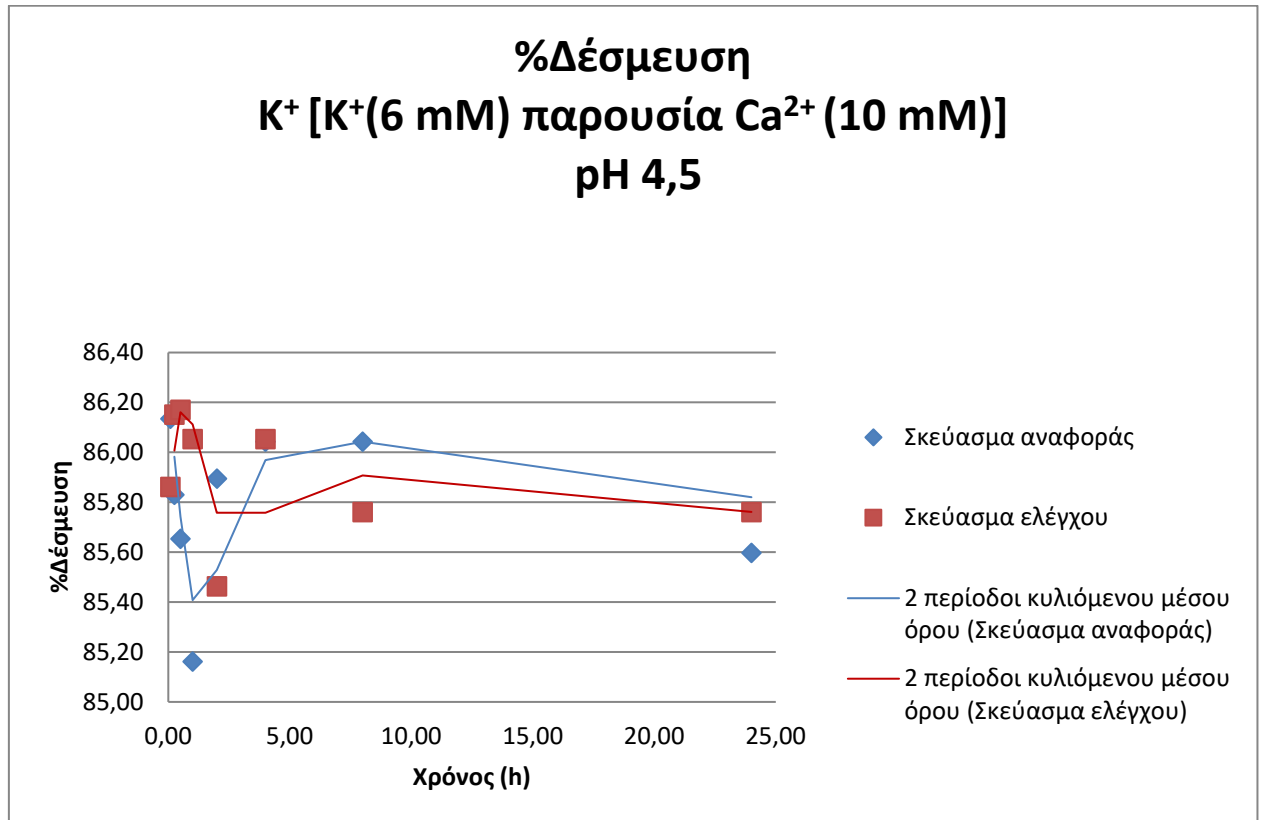
Ο παράγοντας f_2 και για τα τρία pH βρέθηκε ανάμεσα στο διάστημα 50 και 100 με αποτέλεσμα να τεκμηριώνεται η ομοιότητα και η ισοδυναμία της κινητικής των δύο ρητινών, για αυτό το επίπεδο συγκέντρωσης καλίου παρουσία 10mM Ca²⁺.

Παράγοντας Ομοιότητας (f_2)	
$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}}$	
f_2 (pH 4,5)	98,1
f_2 (pH 6,8)	99,1
f_2 (pH 7,9)	97,7

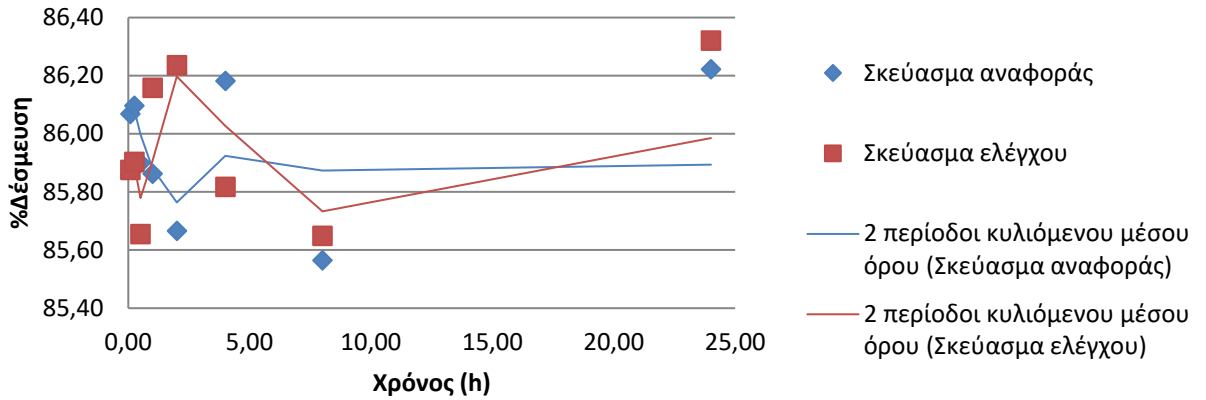
Το ποσοστό δέσμευσης K⁺ μειώθηκε στο 86%, σε σχέση με τα αποτελέσματα απουσίας ασβεστίου, λόγω της παρουσίας Ca²⁺ που ανταγωνίζονται της θέσης δέσμευσης των K⁺. Η διεργασία ιονανταλλαγής είναι ταχύτατη και ήδη στα 5 min έχει ποσοστό δέσμευσης πάνω από 85%, που δεν μεταβάλλεται δραστικά στη συνέχεια, και η %RSD σε κάθε χρονικό σημείο, για όλες τις τιμές pH, είναι μικρότερη του 10%.

Ακολουθούν γραφήματα ποσοστιαίας δέσμευσης και συγκέντρωσης δεσμευμένου καλίου συναρτήσει του χρόνου, για τα τρία pH. Για τη χάραξη των γραφικών τάσεων

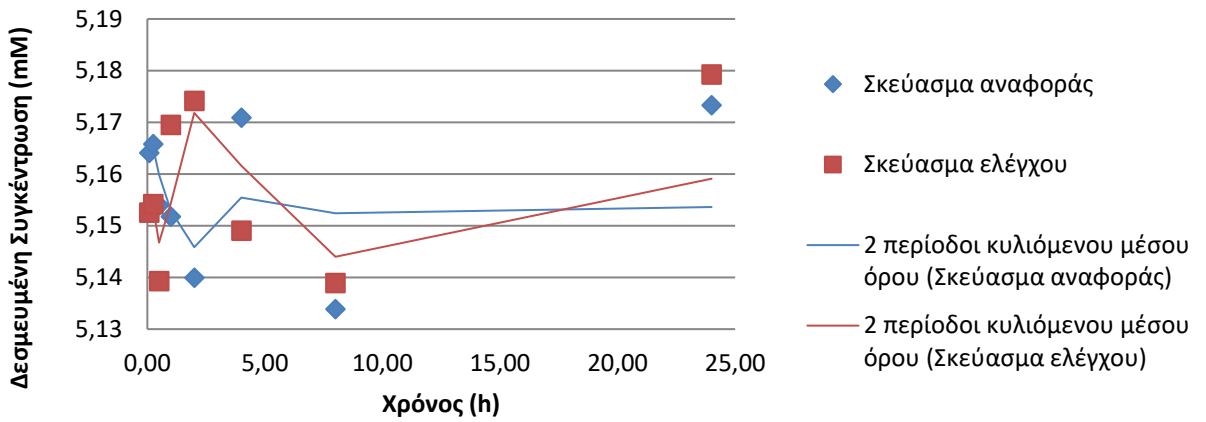
χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυλιόμενου μέσου δύο περιόδων (ο μέσος όρος των δύο πρώτων σημείων δεδομένων χρησιμοποιείται ως πρώτο σημείο στη γραμμή).



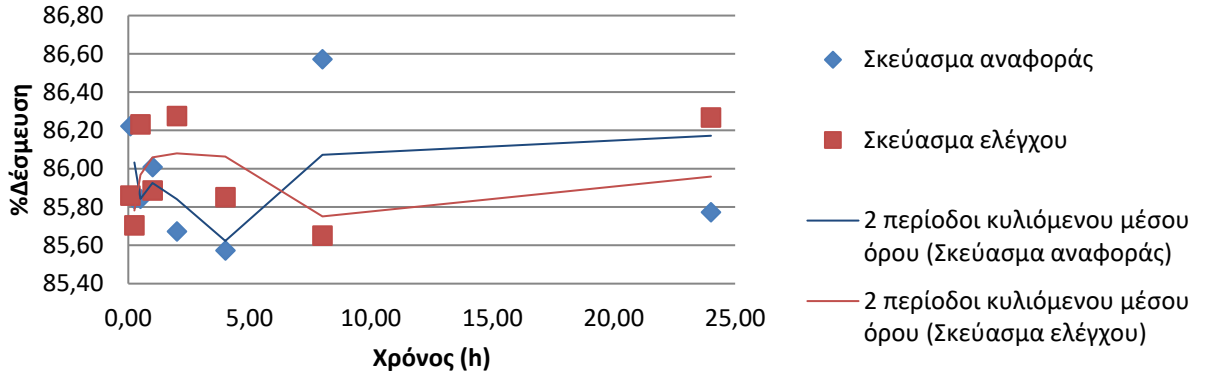
%Δέσμευση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 6,8



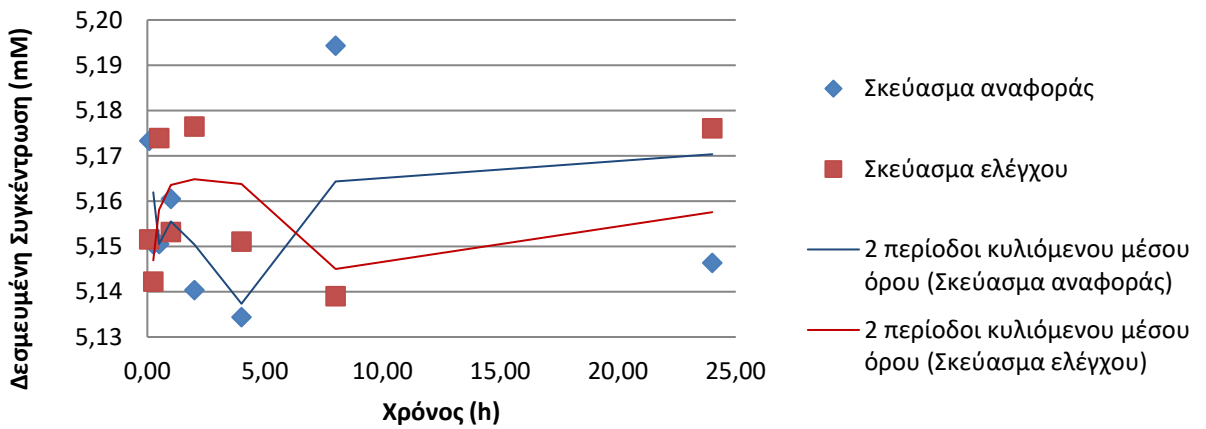
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 6,8



%Δέσμευση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 7,9



Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(6 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 7,9



4.5.4.5 120 mM Καλίου παρουσία 0,3 mM Ασβεστίου

Πίνακας 4.11: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο	pH	Αριθμός πειράματος-σκευάσματος	Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα αναφοράς			Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα ελέγχου		
120	0,3	5 min	4,5	1-3	60,36	60,47	58,44	67,62	67,41	62,75
			4,5	4-6	66,87	58,26	65,82	62,07	65,43	58,42
			4,5	7-9	56,27	68,68	56,39	62,30	65,53	59,23
			4,5	10-12	60,76	64,03	60,24	66,15	64,66	59,50
			6,8	1-3	62,57	62,53	62,99	66,84	66,83	64,38
			6,8	4-6	58,25	68,11	67,01	68,05	66,35	59,91
			6,8	7-9	61,59	60,00	64,67	63,56	61,15	60,53
			6,8	10-12	66,33	64,78	59,06	59,83	63,42	65,63
			7,9	1-3	58,20	57,51	60,94	65,96	66,08	62,85
			7,9	4-6	67,85	60,70	62,00	63,37	67,58	56,94
			7,9	7-9	60,29	56,97	59,91	67,67	61,70	62,72
			7,9	10-12	56,67	62,15	61,56	62,09	60,59	59,99
		4,5	1-3	59,39	59,13	67,37	66,26	66,49	61,73	
		4,5	4-6	65,08	60,38	65,94	61,28	67,74	65,88	
		4,5	7-9	61,62	66,91	59,58	57,75	60,20	59,02	
		4,5	10-12	66,15	64,50	57,31	62,60	57,53	61,67	
		6,8	1-3	63,16	62,93	58,95	68,09	68,31	62,73	
		6,8	4-6	67,50	57,72	64,97	60,76	65,79	65,67	
		6,8	7-9	58,37	60,88	61,02	68,44	67,59	68,38	
		6,8	10-12	64,60	56,56	57,97	68,98	61,85	63,99	
		7,9	1-3	57,46	57,34	62,39	57,99	58,02	57,38	
		7,9	4-6	65,94	68,46	58,85	58,18	66,56	57,86	
		7,9	7-9	63,86	64,43	57,49	59,80	59,27	56,79	
		7,9	10-12	67,14	56,02	62,18	63,67	63,42	63,43	
		4,5	1-3	58,54	58,65	65,62	68,41	68,83	60,87	
		4,5	4-6	60,22	62,25	57,91	65,29	62,50	66,76	
		4,5	7-9	66,05	57,38	60,54	63,67	61,01	60,87	
		4,5	10-12	61,47	57,08	63,53	61,24	68,63	60,31	
		6,8	1-3	60,45	60,61	61,42	69,58	69,34	61,85	
		6,8	4-6	56,14	63,08	59,55	60,22	63,06	66,72	
		6,8	7-9	59,37	56,57	63,68	66,89	68,71	63,56	
		6,8	10-12	60,98	58,60	67,69	58,08	65,21	65,41	
		7,9	1-3	62,25	62,43	59,65	66,41	66,24	61,96	
		7,9	4-6	68,87	64,59	62,56	61,69	64,41	65,33	
		7,9	7-9	61,93	61,40	60,29	58,40	67,84	59,26	
		7,9	10-12	67,38	63,11	64,09	63,88	63,84	61,43	
		4,5	1-3	60,39	60,14	68,28	68,44	68,67	60,03	
		4,5	4-6	68,37	68,78	61,95	60,02	65,45	56,93	
		4,5	7-9	65,82	61,75	65,37	63,60	67,73	58,59	
		4,5	10-12	67,35	62,78	56,60	59,11	57,79	59,25	
		6,8	1-3	60,06	49,00	62,63	64,00	63,96	64,08	
		6,8	4-6	62,04	66,86	65,24	61,16	60,01	66,65	
		6,8	7-9	61,95	63,42	60,44	59,31	61,08	59,88	
		6,8	10-12	57,08	66,08	63,24	61,33	65,33	60,57	
		7,9	1-3	55,07	55,14	61,58	66,07	66,59	62,34	
		7,9	4-6	62,88	58,82	66,05	67,93	60,10	60,58	
		7,9	7-9	61,36	68,67	68,13	66,01	63,04	58,60	
		7,9	10-12	64,19	57,90	64,21	61,46	64,07	57,34	
		4,5	1-3	59,34	59,68	65,95	65,94	66,10	62,35	
		4,5	4-6	68,98	59,20	67,58	63,64	67,65	60,31	
		4,5	7-9	61,53	57,74	59,35	61,67	61,29	66,20	
		4,5	10-12	58,67	60,31	61,68	68,37	66,34	60,44	
		6,8	1-3	63,00	63,14	65,10	63,40	63,56	67,84	
		6,8	4-6	65,29	59,03	65,76	60,12	56,05	59,59	
		6,8	7-9	61,58	67,46	59,95	68,77	58,91	66,64	
		6,8	10-12	62,13	62,51	67,43	59,25	68,59	62,24	
		7,9	1-3	62,28	62,21	64,27	68,66	68,91	65,13	
		7,9	4-6	67,32	59,08	60,39	59,12	60,13	59,75	
		7,9	7-9	67,00	58,49	59,96	58,57	65,58	64,37	
		7,9	10-12	57,86	68,30	56,68	67,92	56,72	63,84	
		4,5	1-3	59,92	59,30	64,89	62,82	63,07	54,76	
		4,5	4-6	64,25	63,24	62,88	66,89	67,79	59,19	
		4,5	7-9	62,81	59,51	61,76	68,94	65,51	57,38	
		4,5	10-12	56,04	58,22	68,19	66,12	68,19	59,56	
		6,8	1-3	53,50	54,55	61,81	67,39	67,10	57,57	
		6,8	4-6	65,79	56,86	66,93	56,73	59,19	58,68	
		6,8	7-9	60,89	68,91	56,37	59,69	58,81	62,91	
		6,8	10-12	59,97	59,13	65,79	65,16	60,80	57,42	
		7,9	1-3	62,52	62,32	65,62	68,17	67,99	63,66	
		7,9	4-6	65,84	57,11	59,41	58,36	59,85	59,48	
		7,9	7-9	63,57	56,43	64,91	63,14	65,53	67,32	
		7,9	10-12	57,93	59,89	59,06	63,19	58,85	63,58	
		4,5	1-3	59,70	59,61	61,29	65,43	65,54	62,66	
		4,5	4-6	65,32	60,07	56,37	63,97	68,54	65,41	
		4,5	7-9	64,76	64,19	66,17	60,57	65,25	63,43	
		4,5	10-12	65,16	68,47	60,25	65,44	59,27	63,94	
		6,8	1-3	60,98	61,04	64,66	66,27	66,38	65,24	
		6,8	4-6	60,52	63,85	59,12	68,65	57,71	59,42	
		6,8	7-9	65,76	67,60	63,64	60,36	56,93	66,34	
		6,8	10-12	64,70	56,56	58,89	62,35	61,93	57,31	
		7,9	1-3	62,52	62,40	63,74	67,32	67,44	70,79	
		7,9	4-6	56,23	63,70	56,52	62,05	66,72	63,68	
		7,9	7-9	66,63	68,52	65,39	57,05	57,98	59,70	
		7,9	10-12	63,49	61,25	62,26	66,16	57,43	57,13	
		4,5	1-3	59,99	60,65	66,07	65,05	66,12	61,80	
		4,5	4-6	60,06	56,57	62,51	63,60	65,25	66,71	
		4,5	7-9	64,28	60,66	62,96	57,28	65,77	66,69	
		4,5	10-12	65,48	67,73	57,49	68,69	60,30	60,64	
		6,8	1-3	60,81	60,78	66,67	68,18	68,21	66,62	
		6,8	4-6	56,67	56,25	59,47	65,53	59,03	57,09	
		6,8	7-9	61,36	61,93	61,52	57,34	61,80	61,41	
		6,8	10-12	66,38	68,94	66,30	59,74	65,25	62,05	
		7,9	1-3	56,41	56,56	64,07	66,22	66,33	64,00	
		7,9	4-6	66,85	67,05	57,04	65,11	58,88	61,07	
		7,9	7-9	65,10	57,07	65,20	64,10	65,16	57,87	
		7,9	10-12	57,47	56,96	60,97	59,28	59,34	58,79	

Πίνακας 4.12: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 0,3 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο (h)	pH	Μέση συγκέντρωση ελεύθερου Καλίου						Συγκέντρωση Δεσμευμένου		Ποσοστό Δέσμευσης	
				Σκεύασμα αναφοράς	SD	%RSD	Σκεύασμα ελέγχου	SD	%RSD	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου
120	0.3	0,08	4,5	61,38	4,08	6,64	63,42	3,20	5,04	58,62	56,58	48,85	47,15
			6,8	63,16	3,14	4,97	63,87	2,94	4,61	56,84	56,13	47,37	46,77
			7,9	60,40	3,04	5,04	63,13	3,24	5,13	59,60	56,87	49,67	47,39
		0,25	4,5	62,78	3,56	5,68	62,35	3,52	5,64	57,22	57,65	47,68	48,05
			6,8	61,22	3,43	5,61	65,88	2,89	4,39	58,78	54,12	48,98	45,10
			7,9	61,80	4,28	6,92	60,20	3,21	5,33	58,20	59,80	48,50	49,84
		0,50	4,5	60,77	3,09	5,08	64,03	3,38	5,28	59,23	55,97	49,36	46,64
			6,8	60,68	3,15	5,20	64,89	3,65	5,63	59,32	55,11	49,43	45,93
			7,9	63,21	2,70	4,27	63,39	2,91	4,59	56,79	56,61	47,32	47,17
		1,00	4,5	63,96	3,93	6,15	62,13	4,39	7,06	56,04	57,87	46,70	48,22
			6,8	61,50	4,78	7,77	62,28	2,41	3,86	58,50	57,72	48,75	48,10
			7,9	62,00	4,59	7,40	62,84	3,37	5,37	58,00	57,16	48,33	47,63
		2,00	4,5	61,67	3,74	6,06	64,19	2,90	4,52	58,33	55,81	48,61	46,51
			6,8	63,53	2,72	4,28	62,91	4,28	6,80	56,47	57,09	47,06	47,57
			7,9	61,99	3,95	6,37	63,22	4,23	6,70	58,01	56,78	48,35	47,31
		4,00	4,5	62,61	3,33	5,31	62,13	4,68	7,53	57,39	57,87	47,82	48,22
			6,8	60,88	5,09	8,36	60,95	3,78	6,20	59,12	59,05	49,27	49,20
			7,9	61,22	3,35	5,47	63,26	3,54	5,59	58,78	56,74	48,99	47,28
		8,00	4,5	62,61	3,54	5,66	64,12	2,46	3,84	57,39	55,88	47,82	46,57
			6,8	62,28	3,26	5,23	62,41	4,09	6,56	57,72	57,59	48,10	47,99
			7,9	62,72	3,59	5,72	62,79	4,87	7,76	57,28	57,21	47,73	47,68
		24,00	4,5	62,04	3,43	5,52	64,12	3,33	5,19	57,96	55,88	48,30	46,57
			6,8	62,26	3,93	6,31	62,69	3,99	6,37	57,74	57,31	48,12	47,76
			7,9	60,90	4,42	7,26	62,18	3,26	5,24	59,10	57,82	49,25	48,18

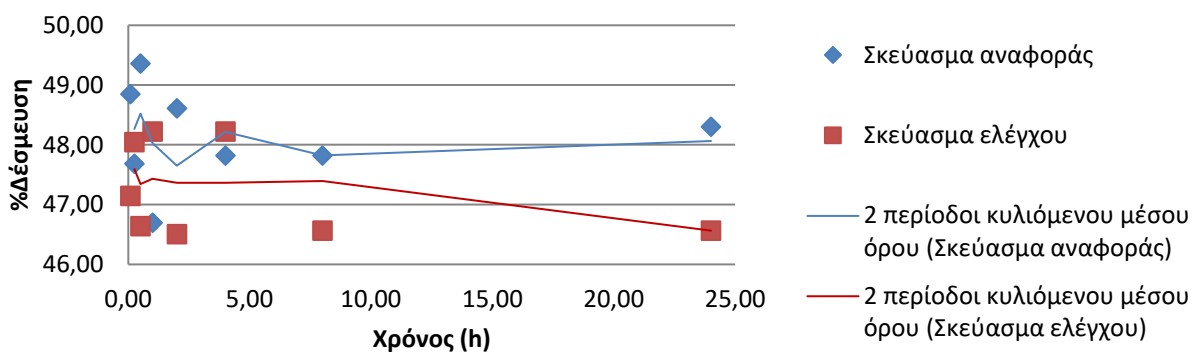
Ο παράγοντας f_2 και για τα τρία pH βρέθηκε ανάμεσα στο διάστημα 50 και 100 με αποτέλεσμα να τεκμηριώνεται η ομοιότητα και η ισοδυναμία της κινητικής των δύο ρητινών, για αυτό το επίπεδο συγκέντρωσης καλίου παρουσία 0,3 mM Ca²⁺.

Παράγοντας Ομοιότητας (f_2)	
$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}}$	
f_2 (pH 4,5)	86,8
f_2 (pH 6,8)	83,5
f_2 (pH 7,9)	89,7

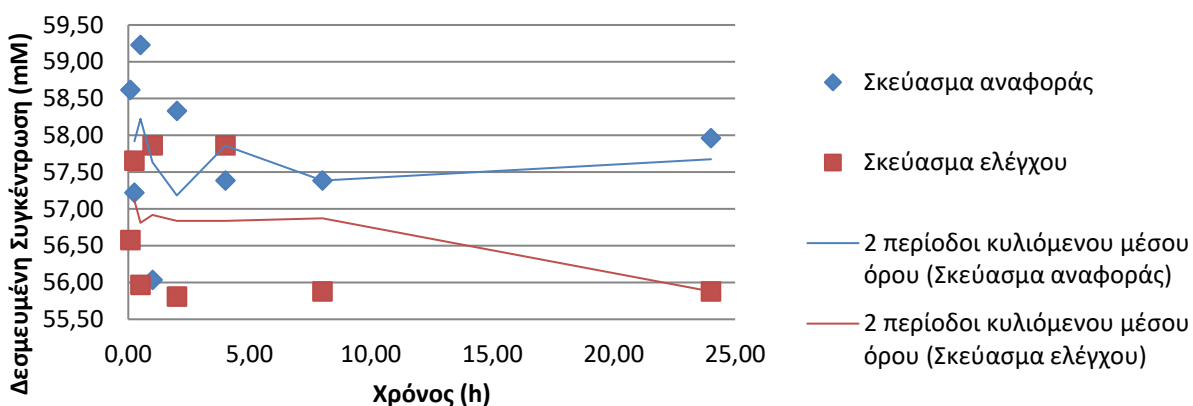
Το τελικό ποσοστό δέσμευσης K⁺ μειώθηκε στο 49%, λόγω της παρουσίας αυξημένης συγκέντρωσης K⁺ και η %RSD σε κάθε χρονικό σημείο, για όλες τις τιμές pH, είναι μικρότερη του 10%.

Ακολουθούν γραφήματα ποσοστιαίας δέσμευσης και συγκέντρωσης δεσμευμένου καλίου συναρτήσει του χρόνου, για τα τρία pH. Για τη χάραξη των γραφικών τάσεων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυλιόμενου μέσου δύο περιόδων (ο μέσος όρος των δύο πρώτων σημείων δεδομένων χρησιμοποιείται ως πρώτο σημείο στη γραμμή).

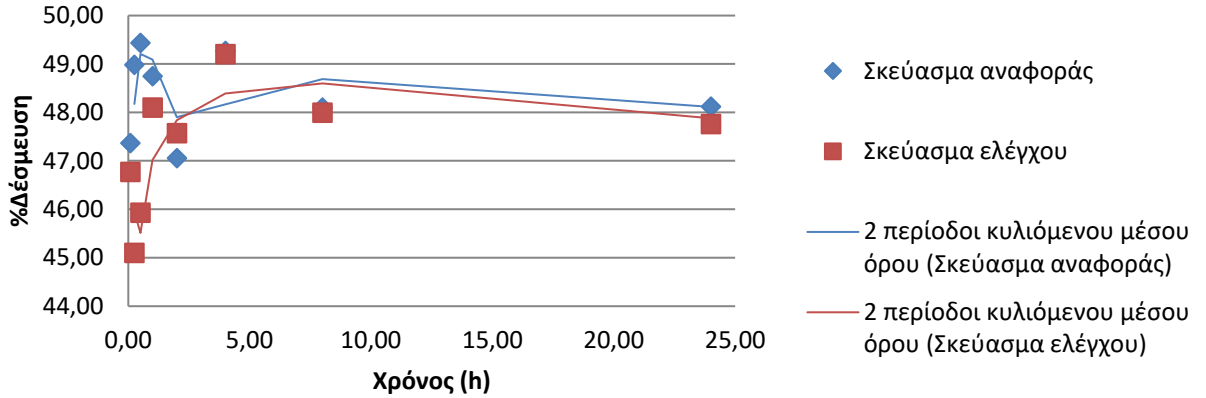
%Δέσμευση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 4,5



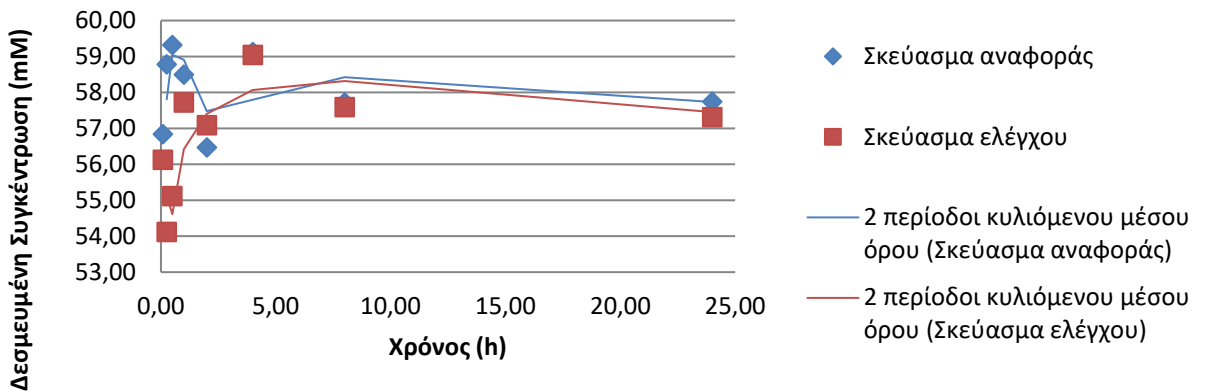
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 4,5



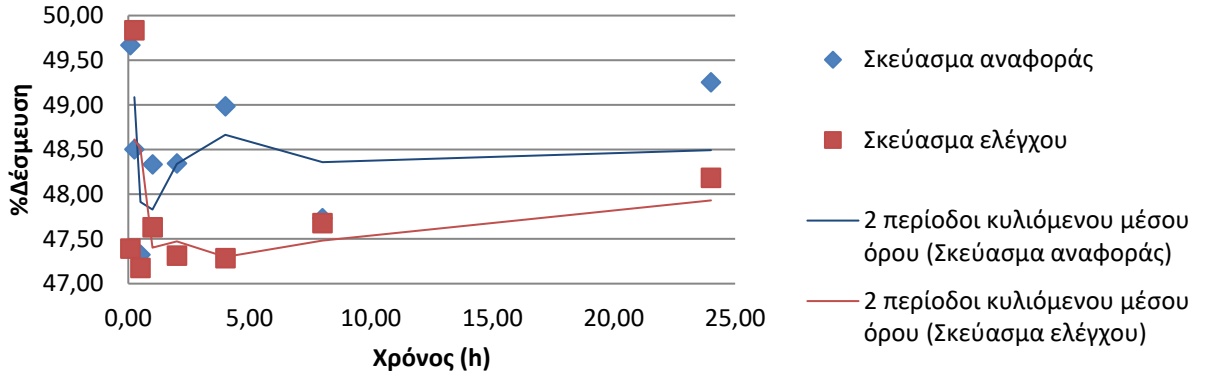
%Δέσμευση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 6,8



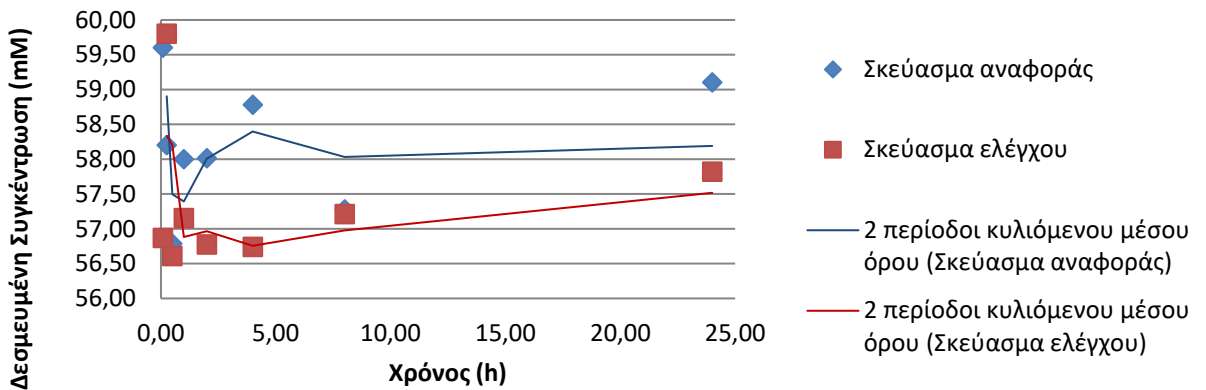
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 6,8



%Δέσμευση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 7,9



Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (0,3 mM)]
pH 7,9



4.5.4.6 120 mM Καλίου παρουσία 10 mM Ασβεστίου

Πίνακας 4.13: Συνολική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ⁺² (mM)	Χρονικό σημείο	pH	Αριθμός πειράματος-σκευάσματος	Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα αναφοράς			Ελεύθερο K ⁺ (mM), σκεύασμα ελέγχου		
120	10	5 min	4,5	1-3	74,85	75,21	71,97	77,90	74,40	79,07
			4,5	4-6	77,84	76,65	65,00	77,39	65,10	78,98
			4,5	7-9	66,47	70,63	70,94	67,31	66,19	69,98
			4,5	10-12	76,19	78,43	70,32	78,21	70,16	75,95
			6,8	1-3	69,15	68,76	76,07	78,23	78,15	72,96
			6,8	4-6	74,02	69,63	74,86	78,67	73,97	64,74
			6,8	7-9	73,36	78,63	73,38	69,78	66,09	74,44
			6,8	10-12	72,37	67,74	71,94	67,00	71,95	75,60
			7,9	1-3	80,26	77,55	72,32	71,28	70,82	67,20
			7,9	4-6	66,56	72,91	76,04	68,29	68,72	67,45
			7,9	7-9	64,32	69,94	68,30	76,05	64,22	72,56
			7,9	10-12	67,46	65,75	75,43	70,12	72,08	74,15
		4,5	1-3	72,63	72,47	70,32	73,51	74,17	75,61	
		4,5	4-6	79,39	74,06	74,29	68,60	78,95	71,72	
		4,5	7-9	65,57	64,96	72,82	65,12	64,01	77,29	
		4,5	10-12	64,56	69,69	70,71	73,43	74,27	73,76	
		6,8	1-3	65,40	64,99	75,01	79,40	79,16	57,95	
		6,8	4-6	79,46	68,26	65,00	75,65	64,20	71,73	
		6,8	7-9	70,41	71,01	75,77	74,29	75,42	71,55	
		6,8	10-12	75,39	66,22	67,75	69,93	69,55	72,19	
		7,9	1-3	78,84	78,01	70,23	68,40	68,66	54,20	
		7,9	4-6	69,13	73,13	67,75	64,46	70,46	69,78	
		7,9	7-9	64,64	67,26	78,23	78,14	77,22	66,90	
		7,9	10-12	76,67	66,55	65,58	69,57	74,70	79,95	
		4,5	1-3	77,80	77,48	70,59	73,94	73,95	76,79	
		4,5	4-6	73,04	64,89	65,46	77,41	64,30	74,74	
		4,5	7-9	70,41	67,26	76,96	67,65	65,33	67,70	
		4,5	10-12	69,69	76,16	73,43	76,08	78,24	69,67	
		6,8	1-3	68,01	67,93	73,34	77,87	77,27	73,91	
		6,8	4-6	78,67	65,53	73,86	77,54	72,86	78,79	
		6,8	7-9	74,16	64,17	68,04	78,13	78,73	77,75	
		6,8	10-12	70,49	64,96	73,92	68,24	71,20	66,41	
		7,9	1-3	77,71	76,62	70,27	69,77	69,69	71,16	
		7,9	4-6	72,68	70,72	79,61	65,33	67,76	78,88	
		7,9	7-9	79,94	77,53	74,80	68,16	78,78	70,66	
		7,9	10-12	67,16	76,25	68,23	73,13	73,79	72,66	
		4,5	1-3	74,21	74,39	71,41	72,81	72,79	75,52	
		4,5	4-6	73,61	66,49	68,91	68,47	64,38	67,80	
		4,5	7-9	79,79	64,53	76,25	64,05	69,32	74,21	
		4,5	10-12	67,42	70,62	74,06	65,70	79,67	65,96	
		6,8	1-3	62,13	62,46	74,91	78,01	78,35	77,68	
		6,8	4-6	76,66	71,15	68,37	71,97	65,69	74,71	
		6,8	7-9	79,48	65,05	69,85	72,50	78,24	67,08	
		6,8	10-12	64,77	74,17	70,79	69,36	69,50	65,90	
		7,9	1-3	77,95	78,76	70,79	73,10	70,43	73,62	
		7,9	4-6	70,55	77,56	74,82	68,84	69,75	77,90	
		7,9	7-9	68,37	73,04	73,57	71,84	68,34	74,22	
		7,9	10-12	65,29	71,75	78,20	78,83	72,13	78,25	
		4,5	1-3	74,21	73,93	72,91	71,90	69,22	79,29	
		4,5	4-6	73,54	77,90	79,83	75,28	64,27	65,34	
		4,5	7-9	68,67	76,97	79,43	67,26	70,45	64,94	
		4,5	10-12	65,05	66,38	77,87	69,45	75,15	64,21	
		6,8	1-3	67,15	67,36	71,99	80,66	79,09	71,65	
		6,8	4-6	68,94	72,29	76,29	69,33	64,69	68,72	
		6,8	7-9	74,37	75,84	78,57	72,47	75,28	76,84	
		6,8	10-12	64,63	64,46	76,07	68,96	65,86	65,45	
		7,9	1-3	78,18	79,48	75,07	70,36	70,14	64,45	
		7,9	4-6	70,73	73,78	75,63	78,91	64,82	75,00	
		7,9	7-9	68,74	71,87	73,15	65,24	66,85	69,73	
		7,9	10-12	74,16	77,87	68,37	78,46	67,94	78,90	
		4,5	1-3	72,15	72,26	71,22	71,70	71,59	76,61	
		4,5	4-6	75,02	78,96	69,79	75,85	65,51	68,43	
		4,5	7-9	75,43	69,04	69,08	78,84	72,50	77,07	
		4,5	10-12	64,81	77,70	78,53	74,15	75,16	72,72	
		6,8	1-3	67,76	67,91	75,46	77,75	78,04	72,56	
		6,8	4-6	68,50	64,25	76,45	79,36	70,59	70,42	
		6,8	7-9	76,49	72,11	76,56	74,66	66,52	67,03	
		6,8	10-12	77,00	67,33	67,63	72,09	74,94	69,03	
		7,9	1-3	78,73	79,85	65,95	76,34	68,33	73,66	
		7,9	4-6	73,98	66,78	72,10	78,21	68,10	72,69	
		7,9	7-9	66,61	66,51	76,66	79,01	70,37	79,63	
		7,9	10-12	77,68	66,23	68,52	65,73	77,80	77,84	
		4,5	1-3	73,78	74,19	68,14	72,92	72,93	76,86	
		4,5	4-6	71,55	72,31	76,78	67,21	73,42	72,83	
		4,5	7-9	69,06	67,83	74,43	70,09	75,80	71,94	
		4,5	10-12	67,81	73,97	75,21	73,79	64,15	67,66	
		6,8	1-3	66,41	66,35	70,26	73,02	70,75	71,94	
		6,8	4-6	68,10	77,11	65,46	77,41	69,83	75,37	
		6,8	7-9	77,48	65,27	67,17	70,46	66,86	70,49	
		6,8	10-12	71,89	70,48	68,40	76,44	75,61	70,61	
		7,9	1-3	77,96	77,92	60,15	68,91	69,17	70,28	
		7,9	4-6	73,35	65,43	75,40	67,96	64,26	74,94	
		7,9	7-9	74,64	77,99	74,36	66,38	78,48	72,60	
		7,9	10-12	78,31	65,26	77,55	78,22	65,87	64,37	
		4,5	1-3	73,45	73,55	70,98	73,01	73,37	75,89	
		4,5	4-6	77,85	66,65	75,65	76,94	66,93	79,52	
		4,5	7-9	77,48	75,74	77,40	79,44	69,20	76,39	
		4,5	10-12	67,99	65,62	76,98	67,88	72,33	72,53	
		6,8	1-3	67,86	67,78	70,98	77,72	75,61	72,12	
		6,8	4-6	65,60	67,61	78,50	68,90	73,53	71,33	
		6,8	7-9	71,35	64,08	73,25	76,86	78,96	70,14	
		6,8	10-12	66,69	74,91	75,91	69,88	65,89	79,54	
		7,9	1-3	77,12	77,40	70,29	65,74	65,85	70,98	
		7,9	4-6	77,22	74,85	78,80	74,54	65,77	70,06	
		7,9	7-9	73,91	68,61	69,60	74,66	65,30	77,21	
		7,9	10-12	77,34	64,34	66,34	74,44	70,21	74,24	

Πίνακας 4.14: Συνοπτική παρουσίαση αποτελεσμάτων των μετρήσεων για 120 mM καλίου παρουσία 10 mM ασβεστίου

K ⁺ (mM)	Ca ²⁺ (mM)	Χρονικό σημείο (h)	pH	Μέση συγκέντρωση ελεύθερου Καλίου						Συγκέντρωση Δεσμευμένου		Ποσοστό Δέσμευσης	
				Σκεύασμα αναφοράς			Σκεύασμα ελέγχου			Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου	Σκεύασμα αναφοράς	Σκεύασμα ελέγχου
				SD	%RSD	SD	%RSD						
120	10	0,08	4,5	72,87	4,36	5,98	73,39	5,31	7,24	47,13	46,61	39,27	38,84
			6,8	72,49	3,25	4,48	72,63	4,84	6,67	47,51	47,37	39,59	39,47
			7,9	71,40	5,14	7,19	70,25	3,28	4,68	48,60	49,75	40,50	41,46
		0,25	4,5	70,96	4,35	6,13	72,54	4,53	6,25	49,04	47,46	40,87	39,55
			6,8	70,39	4,95	7,04	71,75	6,06	8,45	49,61	48,25	41,34	40,21
			7,9	71,34	5,36	7,52	70,20	6,97	9,92	48,66	49,80	40,55	41,50
		0,50	4,5	71,93	4,62	6,42	72,15	4,95	6,85	48,07	47,85	40,06	39,87
			6,8	70,26	4,52	6,43	74,89	4,32	5,76	49,74	45,11	41,45	37,59
			7,9	74,29	4,38	5,89	71,65	4,12	5,75	45,71	48,35	38,09	40,29
		1,00	4,5	71,81	4,42	6,15	70,06	4,93	7,03	48,19	49,94	40,16	41,62
			6,8	69,98	5,65	8,07	72,42	4,93	6,81	50,02	47,58	41,68	39,65
			7,9	73,39	4,27	5,82	73,10	3,64	4,98	46,61	46,90	38,84	39,08
		2,00	4,5	73,89	4,96	6,71	69,73	4,92	7,05	46,11	50,27	38,42	41,89
			6,8	71,50	4,87	6,82	71,58	5,38	7,52	48,50	48,42	40,42	40,35
			7,9	73,92	3,59	4,85	70,90	5,56	7,84	46,08	49,10	38,40	40,92
		4,00	4,5	72,09	4,38	6,07	70,06	3,78	5,40	47,91	49,94	39,93	41,62
			6,8	71,45	4,69	6,57	72,75	4,28	5,88	48,55	47,25	40,45	39,38
			7,9	71,63	5,49	7,67	73,98	4,86	6,57	48,37	46,02	40,31	38,35
		8,00	4,5	72,09	3,16	4,38	71,64	3,71	5,18	47,91	48,36	39,93	40,30
			6,8	69,53	4,17	5,99	72,40	3,19	4,40	50,47	47,60	42,06	39,67
			7,9	73,19	6,14	8,39	70,12	4,97	7,08	46,81	49,88	39,01	41,57
		24,00	4,5	73,28	4,44	6,06	71,64	4,19	5,85	46,72	48,36	38,93	40,30
			6,8	70,38	4,60	6,54	73,37	4,37	5,95	49,62	46,63	41,35	38,86
			7,9	72,98	4,94	6,77	70,75	4,28	6,05	47,02	49,25	39,18	41,04

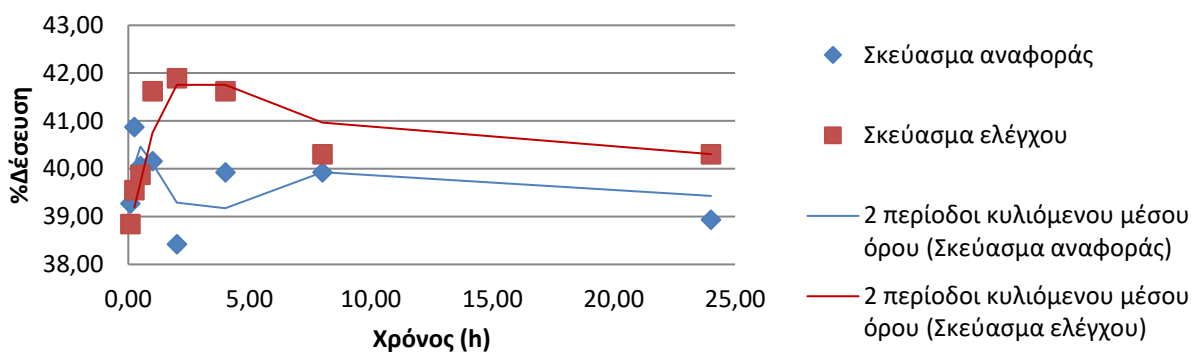
Ο παράγοντας f_2 και για τα τρία pH βρέθηκε ανάμεσα στο διάστημα 50 και 100 με αποτέλεσμα να τεκμηριώνεται η ομοιότητα και η ισοδυναμία της κινητικής των δύο ρητινών, για αυτό το επίπεδο συγκέντρωσης καλίου παρουσία 10 mM Ca²⁺.

Παράγοντας Ομοιότητας (f_2)	
$f_2 = 50 * \log \frac{100}{\sqrt{1 + \frac{\sum_1^n [R(t) - T(t)]^2}{n}}}$	
f_2 (pH 4,5)	86,7
f_2 (pH 6,8)	82,1
f_2 (pH 7,9)	84,0

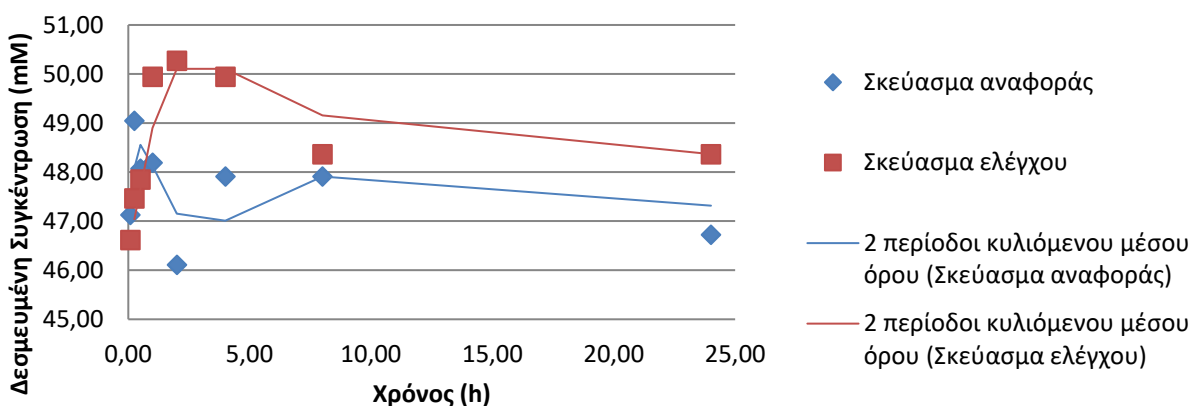
Το ποσοστό δέσμευσης μειώθηκε στο 42% λόγω της παρουσίας Ca²⁺, σε σύγκριση με τα αποτελέσματα απουσίας ασβεστίου, και η %RSD σε κάθε χρονικό σημείο, για όλες τις τιμές pH, είναι μικρότερη του 10%.

Ακολουθούν γραφήματα ποσοστιαίας δέσμευσης και συγκέντρωσης δεσμευμένου καλίου συναρτήσει του χρόνου, για τα τρία pH. Για τη χάραξη των γραφικών τάσεων χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος του κυλιόμενου μέσου δύο περιόδων (ο μέσος όρος των δύο πρώτων σημείων δεδομένων χρησιμοποιείται ως πρώτο σημείο στη γραμμή).

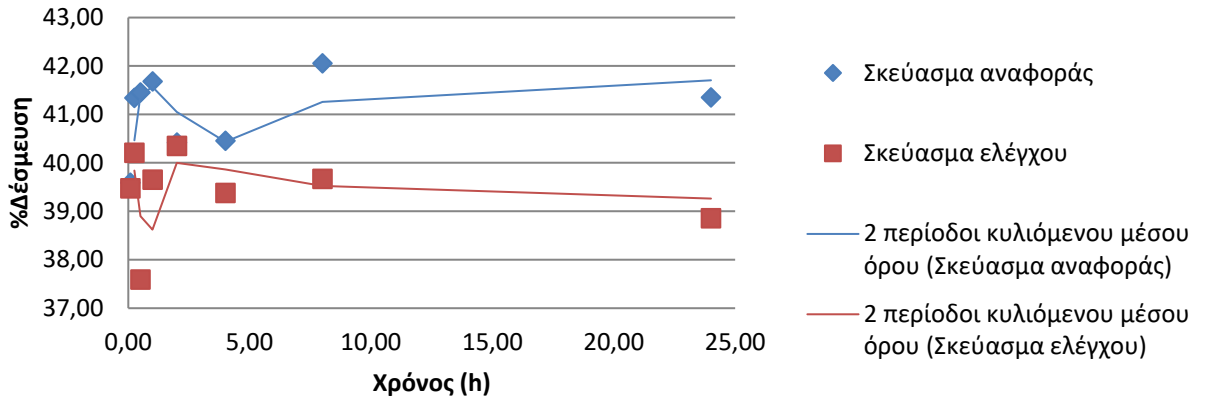
%Δέσμευση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 4,5



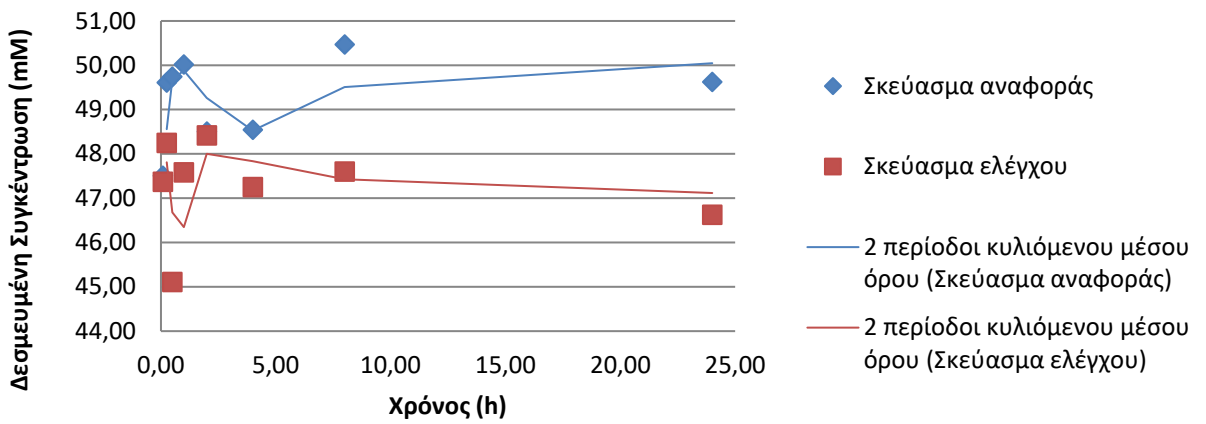
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 4,5



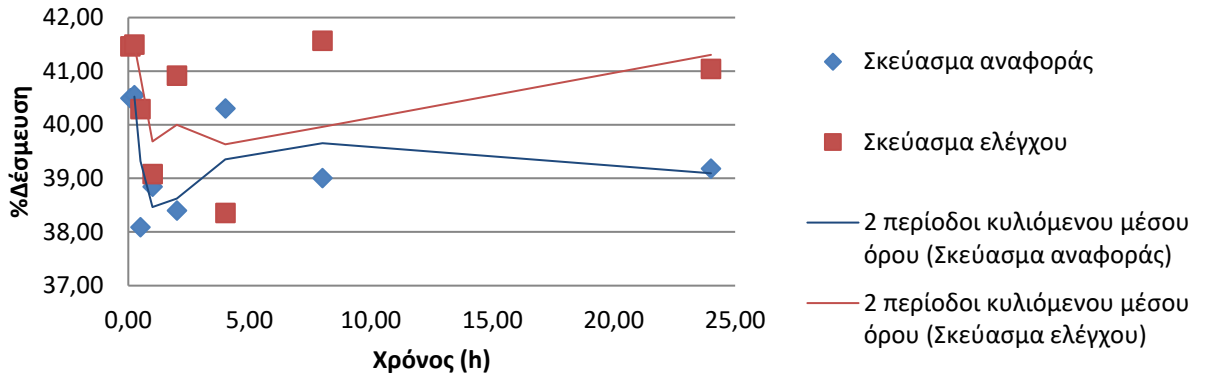
%Δέσμευση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 6,8



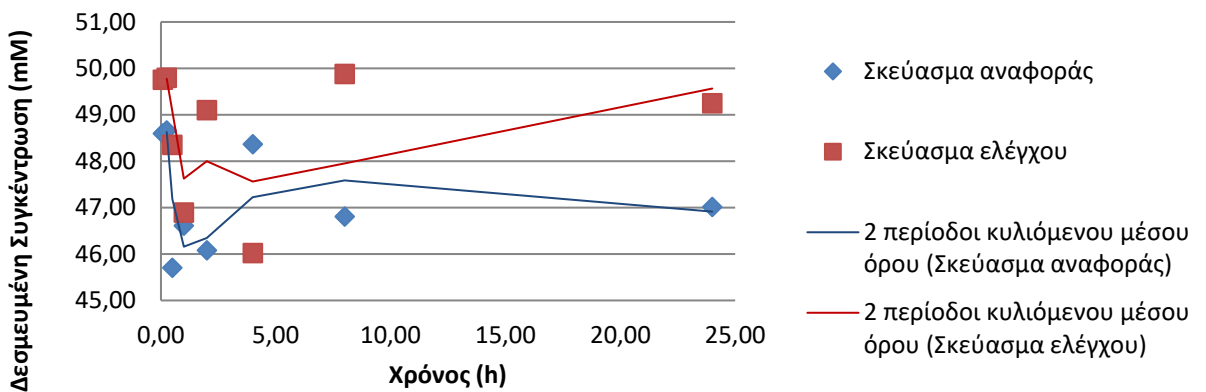
Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 6,8



%Δέσμευση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 7,9



Δεσμευμένη συγκέντρωση K⁺
[K⁺(120 mM) παρουσία Ca²⁺ (10 mM)]
pH 7,9



4.5.5 Τελικά συμπεράσματα

Στα πειράματα δέσμευσης χρησιμοποιήθηκε ποσότητα ρητίνης 5 g, που σύμφωνα με τις προδιαγραφές της φαρμακοποιίας έχει χωρητικότητα ιονανταλλαγής (exchange capacity), 2,8-3,4 mmol K⁺ ανά g ξηράς ρητίνης, δηλαδή συνολικά 14-17 mmol K⁺. Η ποσότητα που χρησιμοποιήθηκε ήταν 250 mL συγκέντρωσης 6 mM και 120 mM, δηλαδή 1,5 mmol και 30 mmol. Επομένως στις πρώτες περιπτώσεις ήταν δυνατή η πλήρης δέσμευση του K⁺ και στις άλλες το 50% της ποσότητας. Κατά τις μελέτες επίδρασης Ca²⁺ προστέθηκαν επιπλέον 0,075 mmol (0,150 meq) Ca²⁺ και 2,5 mmol (5,0 meq) Ca²⁺, αντίστοιχα.

Από τα αποτελέσματα καταδεικνύεται ότι η ταχύτητα ανταλλαγής είναι γρήγορη και από τα 5 min έχει φθάσει στο plateau της κινητικής καμπύλης.

Σε όλες τις περιπτώσεις το pH δεν επηρεάζει το προφίλ δέσμευσης.

Στον πίνακα 4.15 που ακολουθεί παρουσιάζονται τα συγκριτικά αποτελέσματα ποσοστού δέσμευσης του σκευάσματος ελέγχου που είναι ισοδύναμα με αυτά του σκευάσματος αναφοράς.

Πίνακας 4.15: Συνοπτικά ποσοστά δέσμευσης K⁺ σκευάσματος ελέγχου

Ποσότητα		%Ποσοστό δέσμευσης	Παράγοντας ομοιομορφίας
K ⁺	1,5 mmol	95	≥99,2
Ca ²⁺	-		
K ⁺	30 mmol	46	≥82
Ca ²⁺	-		
K ⁺	1,5 mmol	95	99,8
Ca ²⁺	0,075 mmol (0,15 meq)		
K ⁺	1,5 mmol	86	≥97,7
Ca ²⁺	2,5 mmol (5,0 meq)		
K ⁺	30 mmol	48	≥83,5
Ca ²⁺	0,075 mmol (0,15 meq)		
K ⁺	30 mmol	42	≥82
Ca ²⁺	2,5 mmol (5,0 meq)		

Φαίνεται ότι τα δύο σκευάσματα αποδεικνύουν ομοιομορφία όσον αφορά το κινητικό προφίλ δέσμευσης του K⁺ και στα τρία pH και στις διάφορες αναλογίες ποσοτήτων. Το Ca²⁺ επίσης επηρεάζει (μειώνει) το ποσοστό δέσμευσης του K⁺.

Από τα αποτελέσματα του πειράματος με K^+ στα 30 mmol απουσία Ca^{2+} μπορεί να υπολογισθεί και η “ιονανταλλακτική χωρητικότητα” (I.C.) των σκευασμάτων.

$$I.C. = \frac{(30 \text{ mmol} \times 0,46)}{5 \text{ g}} = 2,8 \text{ mmol } K^+ / \text{g ρητίνης}$$

Η “ιονανταλλακτική χωρητικότητα” βρίσκεται εντός προδιαγραφών 2,8-3,4 mmol K^+ /g ρητίνης.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

Πίνακας 5.1: Πίνακας ορολογίας με τις αντιστοιχίσεις των ελληνικών και ξενόγλωσσων όρων

Ξενόγλωσσος όρος	Ελληνικός Όρος
In vivo	Δοκιμασία σε ζώντα οργανισμό
In vitro	Δοκιμασία σε δοκιμαστικό σωλήνα
Calcium resonium	Ασβεστιούχο σουλφονικό πολυστυρένιο
Manhattan project	Πρόγραμμα Μανχάταν
Mobile phase	Κινητή φάση
Stationary phase	Στατική φάση
Baseline	Γραμμή βάσης
Dissolution test	Δοκιμασία διάλυσης
Biowaiver	Εμπεριστατωμένη επιστημονική αξιολόγηση
Weighted linear regression	Ζυγισμένη γραφική παλινδρόμηση
Dissolution profile	Προφίλ διάλυσης
Similarity factor	Παράγοντας ομοιότητας
Plateau	Πλατώ

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ – ΑΡΚΤΙΚΟΛΕΞΑ – ΑΚΡΩΝΥΜΙΑ

Ακρωνύμια και ανάπτυξή τους

ΕΚΠΑ	Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
ATP	Adenosine Triphosphate
ADP	Adenosine Diphosphate
Σ.Β.	Σωματικό βάρος
ΜΕΑ	Μετατρεπτικό ένζυμο αγγειοτασίνης
ΗΚΓ	Ηλεκτροκαρδιογράφημα
SPS	Sodium Polystyrene Sulfonate
ASTM	American Society for Testing and Materials
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
RSD	Relative Standard Deviation
SD	Standard Deviation
RPM	Revolutions Per Minute
API	Active Pharmaceutical Ingredient
IR	Infrared Radiation
UV	Ultraviolet
CFU	Colony-Forming Unit
USP- NF	United States Pharmacopeia – National Formulary
Ph. Eur.	European Pharmacopeia
FDA	Food and Drug Administration
I.C.	Ion Exchange Capacity
MSA	Methanesulfonic Acid
EMA	European Medicines Agency
CHMP	Committee for Medicinal Products for Human Use
PEEK	Polyetheretherketone

ΑΝΑΦΟΡΕΣ

-
- ¹ A. Rastergar, M. Soleimani, Hypokalaemia and hyperkalaemia, Postgrad Med J;77:759—64, 2001.
- ² Guidelines 2000 for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular care: International Consensus on Science. Part 8: Advanced Challenges in resuscitation: Section 1: Life-threatening electrolyte abnormalities. Circulation, 102:21-22, 2000.
- ³ C. A. Guyton, E. J. Hall, Φυσιολογία του ανθρώπου και μηχανισμοί των νόσων, 2000, ΠΑΡΙΣΙΑΝΟΥ Α.Ε.
- ⁴ E. P. Widmaier, H. Raff, K. T. Strang, Vander's Human Physiology: The Mechanisms of Body Function, 2007, McGraw-Hill Education.
- ⁵ F. Schiraldi, S. Del Gaudio, E. G. Ruggiero, Fluid and Electrolyte Dynamics in the Body, 2001.
- ⁶ P. K. Moulik, C. Nethaji, A.A. Khaleeli., Misleading electrocardiographic results in patient with hyperkalaemia and diabetic ketoacidosis, Br Med J, 325, 1346—7, 2002.
- ⁷ Importance of magnesium for the electrolyte, homeostasis, Armin Chroll Deutsches Herzzentrum München, Klinik für Herz-und Gefäßchirurgie, Lothstr. 1 1, D-80335.
- ⁸ https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sodium-potassium_pump.svg, 2015.
- ⁹ A. V.M. Alfonso, C. Isles, C. Geddes, C. Deighan, Potassium disorders--clinical spectrum and emergency management, Resuscitation 70, 10-25, 2006.
- ¹⁰ <http://jasn.asnjournals.org/content/18/10/2649/F1.expansion.html>, 2015.
- ¹¹ https://en.wikipedia.org/wiki/File:Renin-angiotensin_system_in_man_shadow.svg, 2015.
- ¹² B. A. Mahoney, W. A. D. Smith, Lo D, K. Tsoi, M. Tonelli, C. Clase,. Emergency intervention for hyperkalaemia, Cochrane Database System Rev 2005, 2 Art. No.: CD003235.pub2. DOI:10.1002/14651858.

-
- ¹³ B. D. Gogas, K. E. Iliodromitis, D. I. Leftheriotis, P. G. Flevari, L. S. Rallidis, D. T. Kremastinos, Instantaneous electrocardiographic changes and transient sinus rhythm restoration in severe hyperkalaemia, *International Journal of Cardiology*, 148, 40–42, 2011.
- ¹⁴ H. M. Szerlip, J. Weiss, I. Singer, Profound hyperkalaemia without electrocardiographic manifestations, *Am J Kidney Dis*, 7, 461–5, 1986.
- ¹⁵ C. Slovis, R. Jenkins, Conditions not primarily affecting the heart, *Br Med J*, 324, 1320-4, 2002.
- ¹⁶ R. M. Heguilen, C. Scirano, A. D. Bellusci, P. Fried, R. G. Diez, A. R. Bernasconi, The faster potassium-lowering effect of high dialysate bicarbonate concentrations in chronic haemodialysis patients, *Nephrol Dial Transplant*, 20, 591–7, 2005.
- ¹⁷ J. P. Gutzwiller, D. Schneditz, A. R. Huber, C. Schindler, E. Garbani, C. E. Zehnder, Increasing blood flow increases kt/V (urea) and potassium removal but fails to improve phosphate removal, *Clin Nephrol*, 59, 130–6, 2003.
- ¹⁸ C. Zehnder, J. P. Gutzwiller, A. Huber, C. Schindler, D. Schneditz, Low-potassium and glucose-free dialysis maintains urea but enhances potassium removal, *Nephrol Dial Transplant*, 16, 78–84, 2001.
- ¹⁹ M. Emmett, R. E. Hootkins, K. D. Fine, Effect of three laxatives and a cation exchange resin on faecal sodium and potassium excretion, *Gastroenterology*, 108, 752–60, 1995.
- ²⁰ C. Gruy-Kapral, M. Emmett, C. A. Santa Ana, J. L. Porter, J. S. Fordtran, K. Fine, Effect of single dose resin-cathartic therapy on serum potassium concentration in patients with end-stage renal failure, *J Am Soc Nephrol*, 10, 1924–30, 1998.
- ²¹ <http://www.drugs.com/pro/kayexalate.html>, 2015.
- ²² Sanofi-Aventis Canada Inc, prescribing information, prkayexalate®, 2014.
- ²³ Z. Harel, S. Harel, P. S. Shah, R. Wald, J. Perl, C. M. Bell, Adverse events with sodium polystyrene sulfonate (Kayexalate) use: a systematic review, *The American Journal of Medicine*, 126, 3, 264 10-24, 2013.

-
- ²⁴ F. B. Rogers, S. C. Li, Acute colonic necrosis associated with sodium polystyrene sulfonate (Kayexalate) enemas in a critically ill patient: case report and review of the literature, *J Trauma* 51 (2), 395-7, 2001.
- ²⁵ A. Rashid, S. R. Hamilton, Necrosis of the gastrointestinal tract in uremic patients as a result of sodium polystyrene sulfonate (Kayexalate) in sorbitol: an underrecognized condition, *Am J Surg Pathol*, 21, 1, 60-9, 1997.
- ²⁶ M. McCarty, A. Jagoda, P. Fairweather, Hyperkalemic ascending paralysis, *Ann Emerg Med*, 32, 104-107, 1998.
- ²⁷ D. S. Fleisher, Cation exchange resin therapy for hyperkalemaea in infants and children, *The journal of pediatrics*, 486, 1961.
- ²⁸ K. D. Lillemoe, J. L. Romolo, S. R. Hamilton, L. R. Pennington, J. F. Burdick, G. M. Williams, Intestinal necrosis due to sodium polystyrene (Kayexalate) in sorbitol enemas: clinical and experimental support for the hypothesis, 101, 267-72, 1987.
- ²⁹ AHFS Drug Information 2005. McEvoy, GK, ed. Sodium Polystyrene Sulfonate. Bethesda, MD: American Society of Health-System Pharmacists, 2550-1, 2005.
- ³⁰ Sanofi-Synthelabo, Kayexalate (sodium polystyrene sulfonate) prescribing information, New York, NY: 2003.
- ³¹ K. V. Shepard, Cleansing enemas after sodium polystyrene sulfonate enemas, *Ann Intern Med*, 112, 711, 1990.
- ³² Skoog, Holler, Nieman, Αρχές της Ενόργανης Ανάλυσης, 2005, ελληνική μετάφραση Κωσταράκης.
- ³³ L. Bhattacharyya, J.S. Rohrer, Applications of Ion Chromatography for Pharmaceutical and Biological Products, Wiley, First Edition, 2012.
- ³⁴ E. A. Peterson, H A. Sober, Chromatography of proteins: I. Cellulose ion exchange adsorbents, *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 751–755, 1956.
- ³⁵ H. Small, T. S. Stevens, W. C. Bauman, Novel ion-exchange chromatographic method using conductometric detection, *Anal. Chem*, 47, 1801–1809, 1975.

-
- ³⁶ L. Bhattacharyya, Ion chromatography in biological and pharmaceutical drug analysis: USP perspectives, presented at the Intl. IC Symp. Baltimore: September 29–October 2, 2002.
- ³⁷ USP 41-NF 36 <1065>, Ion Chromatography.
- ³⁸ S. R. Himmelhoch, Chromatography of proteins on ion-exchange adsorbents, *Methods Enzymol*, 22, 273–286, 1971.
- ³⁹ Dionex Corporation, Application Note 116: Quantification of anions in pharmaceuticals.
- ⁴⁰ B. M. DeBorba, J. S. Rohrer, L. Bhattacharyya, Development and validation of an assay for citric acid/citrate and phosphate in pharmaceutical dosage forms using ion chromatography with suppressed conductivity detection, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 36, 517–524, 2004.
- ⁴¹ J. Weiss, *Handbook of ion chromatography*, Wiley-VCH, 461–547, 2005.
- ⁴² P. K. Dasgupta, Ion chromatography, the state of the art., *Anal. Chem.*, 64, 775A–783A, 1992.
- ⁴³ D. T. Gjerde, J. S. Fritz, G. Schmuckler, Anion chromatography with low-conductivity eluents., *J. Chromatogr.*, 186, 509–519, 1979.
- ⁴⁴ T. S. Stevens, J. C. Davis, H. Small, Hollow fiber ion-exchange suppressor for ion chromatography, *Anal. Chem.*, 53, 1488–1492, 1981.
- ⁴⁵ J. R. Stillian, An improved suppressor for ion chromatography., *LC Liq. Chromatogr.*, 3, 802–806, 1985.
- ⁴⁶ K. Srinivasan, C. Pohl, inventors, Dionex Corporation, assignee, Chemical suppressors and method of use, US patent 7517696, 2009.
- ⁴⁷ A. Henshall, S. Rabin, J. Statler, J. Stillian, Recent development in ion chromatography detection: the self-regenerating suppressor, *Am. Lab.*, 24:20R, 1992.
- ⁴⁸ C. Pohl, R. W. Slingsby, J. R. Stillian, R. Gajek, inventors, Dionex Corporation, assignee, modified membrane suppressor and method for use, US patent 4999098, 1991.

-
- ⁴⁹ Y. C. Lee, High performance anion-exchange chromatography for carbohydrate analysis, *Anal. Biochem.*, 189, 151–162, 1990.
- ⁵⁰ J. J. Conboy, J. D. Henion, M. W. Martin, J. A. Zweigenbaum, Ion chromatography/mass spectrometry for the determination of organic ammonium and sulfate compounds., *Anal. Chem.*, 62, 800–807, 1990.
- ⁵¹ D. Jenke, Application of ion chromatography in pharmaceutical and drug analysis, *Journal of chromatographic science*, 49, 524-538, 2011.
- ⁵² FDA, “Guidance for industry, Dissolution Testing of immediate release solid oral dosage forms”, 1997.
- ⁵³ CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1, Guidance on the investigation of bioequivalence, EMA.
- ⁵⁴ V.P. Shah, Y. Tsong, P. Sathe, In vitro dissolution profile comparison-statistics and analysis of the similarity factor, *f2*, *Pharm. Res.* 15, 889-890, 1998.
- ⁵⁵ J.W. Moore and H.H. Flannes Mathematical Comparison of Curves with emphasis on in vitro dissolution profiles, *Pharm. Tech* 20, 6, 64-74, 1996.