

Sveučilište u Zagrebu
Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

IVANA ĐURIĆ

***IZBOR NEPOKRETNE FAZE ZA ODREĐIVANJE VETERINARSKIH
FARMACEUTIKA HPLC-DAD METODOM***

Zagreb, 2010.

Ovaj rad je izrađen na Fakultetu kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zavodu za analitičku kemiju pod vodstvom dr. sc. Danijele Ašperger, doc. i predan je na natječaj za dodjelu Rektorove nagrade u akademskoj godini 2009./2010.

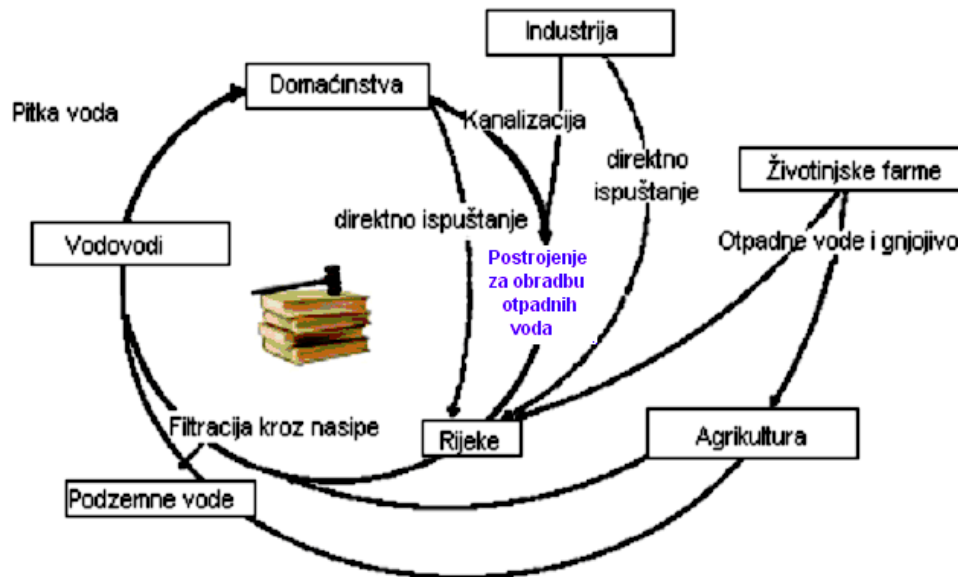
SADRŽAJ

| | |
|--|----|
| 1. UVOD | 1 |
| 2. OPĆI DIO | 3 |
| 2.1. KROMATOGRAFIJA | 4 |
| 2.1.1. TEKUĆINSKA KROMATOGRAFIJA | 5 |
| 2.1.1.1. NEPOKRETNNA FAZA | 8 |
| 2.1.1.2. KROMATOGRAFSKI PARAMETRI | 12 |
| 3. EKSPERIMENTALNI DIO | 14 |
| 3.1. MATERIJALI | 15 |
| 3.1.1. <i>Kemikalije</i> | 15 |
| 3.1.2. <i>Farmaceutici</i> | 15 |
| 3.1.3. <i>Pokretna faza korištena u kromatografskom sustavu</i> | 17 |
| 3.1.4. <i>Nepokretne faze (kolone) korištene u kromatografskom sustavu</i> | 18 |
| 3.2. INSTRUMENT | 19 |
| 3.3. METODA RADA | 20 |
| 3.3.1. <i>Priprava standardnih otopina farmaceutika</i> | 20 |
| 4. REZULTATI I RASPRAVA | 21 |
| 5. ZAKLJUČCI | 36 |
| 6. ZAHVALE | 38 |
| 7. LITERATURA | 41 |
| 8. SAŽETAK | 43 |
| 9. SUMMARY | 45 |
| 10. ŽIVOTOPIS | 47 |

1. UVOD

Jedan od vrlo velikih ekoloških problema današnjice je i zagađivanje okoliša farmaceuticima, koji se iz godine u godinu sve više proizvode za razno razne namjene, a od toga se 2/3 farmaceutika koristi u veterinarske svrhe i to u vidu promotora rasta, antibiotika i antiparazitika.

U okolišu završavaju iz industrijskih postrojenja: zbog neadekvatne obradbe otpadnih voda i iz životinjskih farmi, putem životinjskih izlučevina koje raspršivanjem gnojiva po poljoprivrednim površinama u konačnici završavaju u vodotocima (slika 1.).



Slika 1. Izvori zagađivanja okoliša farmaceuticima

Da bi se navedeni farmaceutici odredili u okolišu, dakle bilo u vodama, sedimentu ili tlu, koriste se u 90% slučajeva kromatografske metode - plinska, ionska, no od svega najčešća je tekućinska kromatografija sa razdjelnim ili adsorpcijskim mehanizmom separacije. Pri čemu se sve kromatografske tehnike sastoje od pokretne faze, nepokretne faze i ispitivanog spoja.

Cilj navedene metode je optimirati obzirom na izbor nepokretne faze. Na tržištu postoji niz proizvođača nepokretne faze - HPLC kolona (Agilent, Merck, Shimadzu, Varian, Waters) i svaki od njih tvrdi da je upravo njihov proizvod rješenje naših problema. U ovom radu će se ispitati kolone navedenih proizvođača uz definiranje nekih vrlo bitnih kromatografskih parametara s obzirom na veterinarske farmaceutike. Ispituju se i farmaceutici koji imaju široku proizvodnju i uporabu i u Hrvatskoj i u svijetu, a to su fluorokinolonski antibiotik ciprofloksacin, antiparazitik febantel, sulfonamidni antibiotik i njegov sinergist trimetoprim.

[1]

2. OPĆI DIO

2.1. KROMATOGRAFIJA

Kromatografiju je izumio ruski botaničar Tswett početkom 20. stoljeća. Primijenio je kromatografsku tehniku za odjeljivanje otopine biljnih pigmenata klorofila i ksantofila prolaskom kroz staklenu kolonu napunjenu usitnjenim Ca-karbonatom. Odjeljeni sastojci vide se na koloni kao obojene vrpce po kojima je ta tehnika dobila ime (grč. *chroma* = boja).

Kromatografske metode služe za odjeljivanje, identifikaciju i kvantitativno određivanje kemijskih sastojaka u složenim smjesama. Svim kromatografskim tehnikama zajedničko je postojanje nepokretne (stacionarne) i pokretne (mobilne) faze. Plinovita ili tekuća pokretnu fazu nosi komponente uzorka kroz stacionarnu fazu, a odjeljivanje se temelji na razlikama u brzini kretanja komponenti kroz stacionarnu fazu.

Nepokretna faza se mora odabrati tako da zadržavanje molekula u njoj bude selektivno, odnosno da različiti sastojci smjese budu uz nju različito dugo vezani, što uzrokuje razdvajanje smjese.

Kromatografske tehnike je uobičajeno nazivati prema sastavu pokretne faze pa govorimo o plinskoj i tekućinskoj kromatografiji te o fluidnoj kromatografiji u superkritičnim uvjetima.

2.1.1. TEKUĆINSKA KROMATOGRAFIJA [1-2]

U tekućinskoj kromatografiji pokretna faza je kapljevina, a nepokretnu fazu mogu činiti različiti sorbensi. Izbor pogodnog otapala, odnosno smjese otapala, provodi se s obzirom na sposobnost otapala da stvaraju vodikove veze (odjeljivanje hidrofilnih, odnosno hidrofobnih spojeva). Otapala moraju biti kromatografski čista, šta znači da ne smiju sadržavati nečistoće koje mogu smetati kromatografskom određivanju.

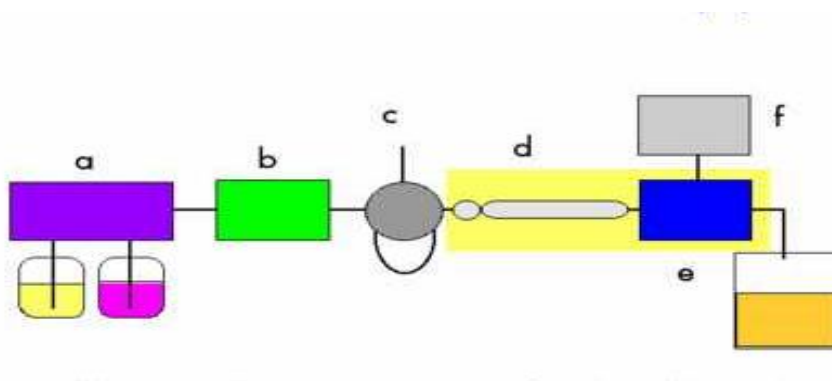
Može se podijeliti na:

- adsorpcijsku kromatografiju pri kojoj je nepokretna faza adsorbens
- razdijelnu kromatografiju pri kojoj je nepokretna faza kapljevina nanosena na čvrsti inertni nosač.

Tekućinska kromatografija visoke učinkovitosti (HPLC-DAD) uglavnom se koristi za neionske i teško hlapive spojeve, kao što su i navedeni ispitivani veterinarski farmaceutici.

Kod tekućinske kromatografije visoke učinkovitosti kao detektori koriste se detektori s nizom dioda (DAD), fluorescentni detektor (FLD), UV-VIS detektor te sve više maseni detektori (MS) (slika 2.). Maseni detektori omogućavaju identifikaciju i detekciju, ali i određivanje farmaceutika u vrlo niskim koncentracijama u ppb, pa i manjim. Svi laboratoriji nemaju pristup tako sofisticiranim i vrlo skupim detektorima, već se uglavnom koriste detektori poput detektora s nizom dioda, pri čemu se mjeri apsorbancija analita.

Da bi se postiglo što učinkovitija kromatografska separacija analita, osobito analita u tragovima često se mijenja pokretna faza, no u ovom radu se mijenjala nepokretna faza koja se nalazi u koloni. Kolona je srce kromatografskog sustava jer se upravo u njoj odvija sam proces kromatografije.



Slika 2. Shematski prikaz osnovnog uređaja za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti: a - kontrola udjela komponenti pokretne faze; b – pumpa; c - uređaj za unošenje uzorka; d - kolona; f - detektor (DAD, FLD, UV/VIS, MS)

Uz pretpostavku da je pokretna faza konstantnog sastava i brzine, učinkovitost kromatografskog stupca ovisi o duljini stupca, promjeru čestica punjenja i radnom tlaku.

Na odjeljivanje pri tekućinskoj kromatografiji utječe temperatura, posebice kad je riječ o otopinama male molekulske mase. Povišena temperatura poboljšava difuznost uzorka i reducira viskoznost pokretne faze, pa se time poboljšavaju kinetički parametri. S povišenjem temperature mijenja se i selektivnost stupca. Maksimalna dopuštena temperatura pri tekućinskoj kromatografiji je niža je oko 20 °C od temperature vrelišta pokretne faze. Umjesto temperature bolje je programirati protok, čime se poboljšava razdvajanje i smanjuje vrijeme zadržavanja.

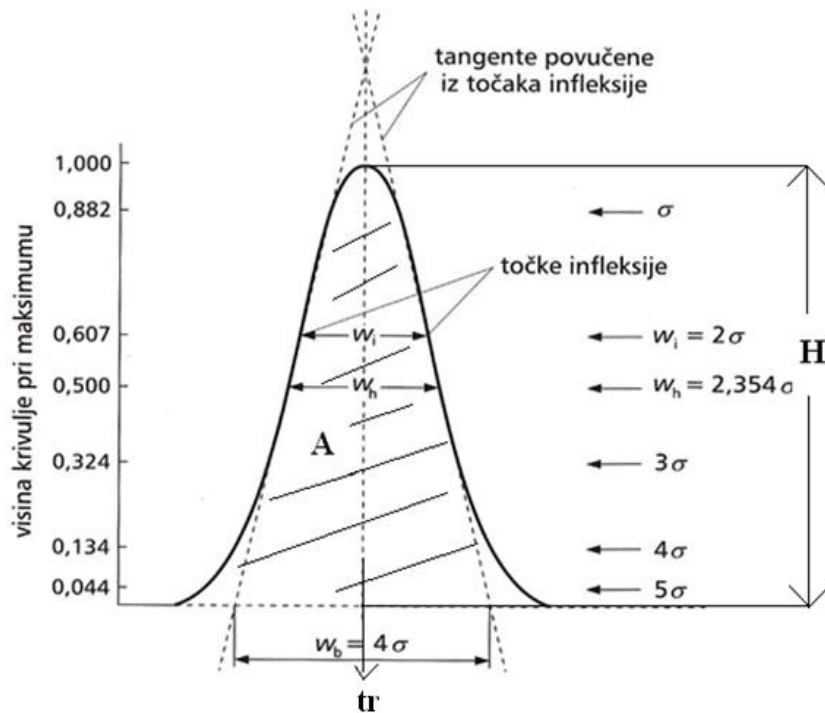
Prema kromatografskom sastavu pri tekućinskoj kromatografiji je moguća upotreba normalnih i obratnih faza.

Kromatografija normalnih faza pretpostavlja da je nepokretna faza polarna (silikagel, te neutralni aluminijski oksid), a pokretna faza nepolarna (organska otapala). Odjeljivanje smjese spojeva ovisi o interakciji polarnog analita s polarnom nepokretnom fazom. Napolarni spojevi bez polarnih funkcionalnih skupina slabo reagiraju s nepokretnom fazom.

U kromatografiji obratnih faza, pri kojoj je nepokretna faza nepolarna (modificirani silikagel), a pokretna faza polarna (smjesa vode i polarnog organskog otapala), mehanizam razdvajanja temelji se na hidrofobnosti analita.

Čimbenici koji utječu na kromatografski proces i širenje kromatografske zone su energijska barijera, veličina i geometrijski oblik zrna sorbensa koji tvori nepokretnu fazu, temperatura sustava, brzina pokretne faze, priroda veze i količina ispitivanog spoja.

Kromatografska zona se širi proporcionalno duljini putovanja ili vremena. Širenje površine zone pokazuje učinkovitost kromatografske separacije. Označuje se ili kao broj teoretskih tavana n ili kao visina tavana H (Slika 3).



Slika 3. Karakteristična svojstva kromatografske krivulje

Uzroci širenja kromatografske vrpce jesu otpor prijenosu mase u obje faze, brzina protoka kroz nepokretnu fazu, uzdužna difuzija te nasumična sorpcija i desorpcija molekula tijekom kromatografskog procesa.

Kao što je već spomenuto, kromatografski sustav čine ispitivani uzorak, te pokretna i nepokretna faza. O njihovom optimalnom izboru ovisi učinkovitost kromatografskog razdvajanja.

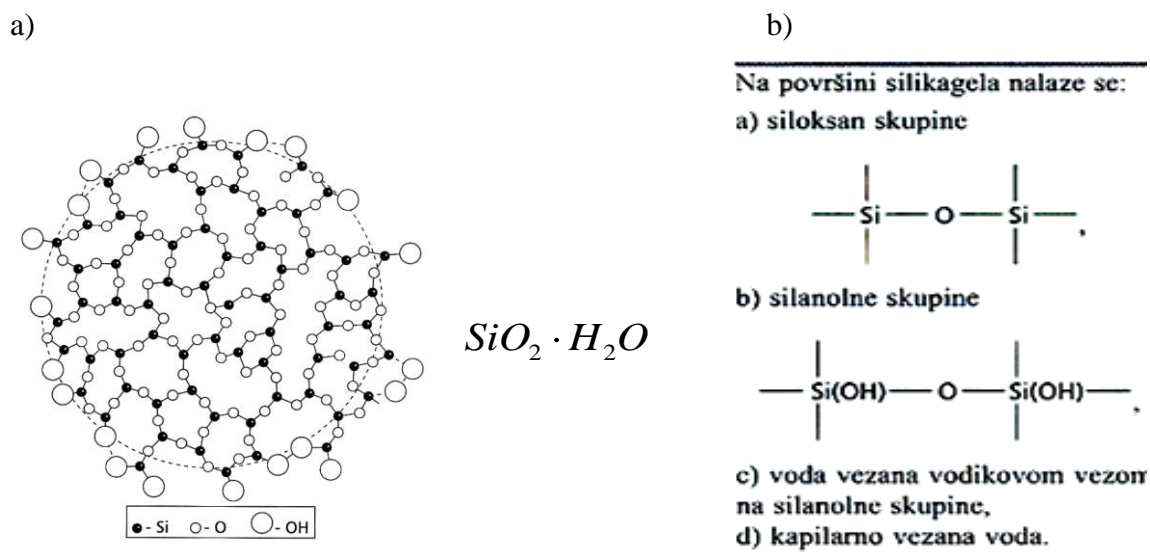
2.1.1.1. NEPOKRETNNA FAZA

Nepokretna faza je čvrsta tvar ili kapljevinna na inertnom nosaču. S obzirom na kemijsku strukturu i polarnost, sorbensi se dijele na:

- polarne anorganske sorbense (hidrofilni-silikagel, Al_2O_3 i Mg-silikat)
- nepolarne anorganske sorbense (aktivni ugljen i grafit)
- polarne vezane faze (aminopropil, cijanopropil, diol)
- nepolarne vezane faze (alkani, C_8 i C_{18} ugljikovodici)
- polarne organske sorbense (celuloza, hitin, poliamid).

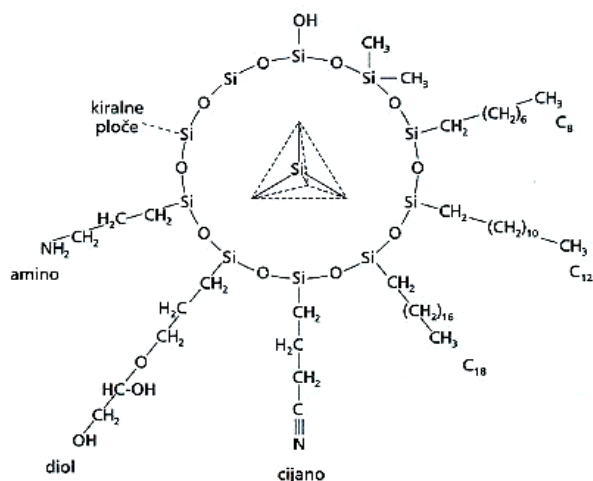
Izbor nepokretne faze ovisi o prirodi ispitivanog spoja, prirodi ravnoteže kromatografskog procesa i vrsti veze koja nastaje između ispitivanog spoja i kromatografske podloge.

Općenito je poznato da se kao najčešće upotrebljavana nepokretna faza koristi silikagel opće formule $\text{SiO}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, a strukturno predstavlja nepravilnu prostornu rešetku SiO_4 - tetraedara (Slika 4.a). Na površini silikagela nalaze se siloksan i silanolne skupine, te voda vezana vodikovom vezom na silanolne skupine i kapilarno vezana voda (Slika 4.b).



Slika 4. a) Struktura silikagela i b) skupine vezane na silikagel

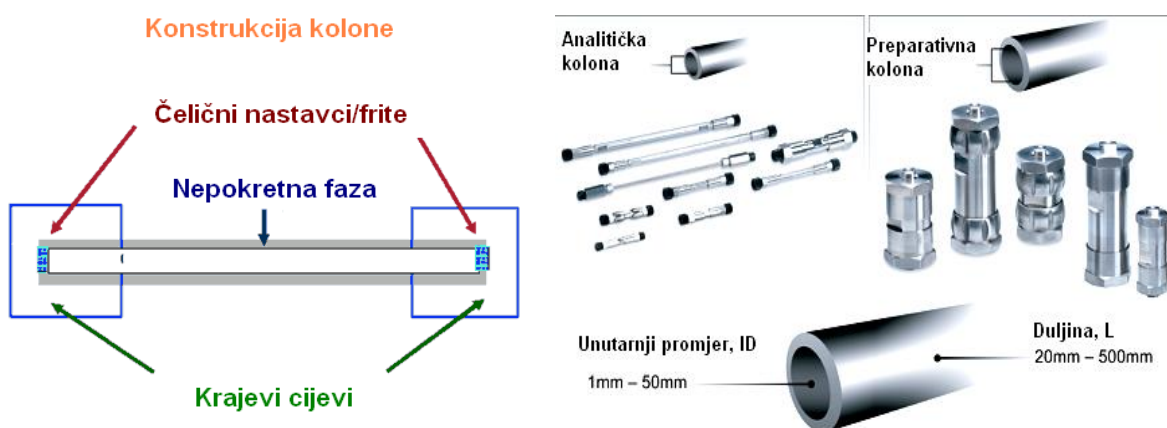
Modificirane silikagelne podloge ili sorbensi podrazumijevaju zamjenu hidroksilnih skupina silikagela polarnim funkcionalnim skupinama kao što su cijano ili diolna skupina, te nepolarnim lancima ugljikovodika, pri čemu svojstva nepokretne tako modificirane faze ovise o vrsti i duljini vezanih lanaca ugljikovodika, pokrivenosti površine vezanom skupinom, vrsti intermolekulskih interakcija organskog otapala te o funkcionalnim skupinama na površini adsorbensa (Slika 5.).



Slika 5. Shematski prikaz modificiranih silikagelnih podloga

Kod karakterizacije kolone bitno je poznavati njenu duljinu, unutarnji promjer i veličinu zrnaca jer sve to utječe na širenje kromatografskih krivulja odnosno na separaciju.

Od sedamdesetih godina prošlog stoljeća pa sve do danas proizvedeno je niz modifikacija sorbensa, osobito na bazi silikagela, pri čemu se mijenjala duljina kolona, njihov unutarnji promjer, a najviše se nastojalo smanjiti veličinu čestica sorbensa - nekada od 100 mikronskih pa do današnjih sorbensa sa česticama manjim od 2 mikrona. Doduše, kolone koje se koriste za preparativnu kromatografiju i dalje se izrađuju sa zrcima od oko 10 mikrona, no analitičke kolone se izrađuju sa sve manjim i manjim zrcima, jer to omogućava bolju separaciju ispitivanih sastojaka uzorku (slika 6.).



Slika 6. Konstrukcija kolone te prikaz kolona za preparativnu i analitičku kromatografiju

Separacija uzorka je učinkovitija ako kolona ma više efektivnih tavana, a broj tavana se povećava smanjenjem veličine čestica samog punila (tablica 1.). [1]

Tablica 1. Povijesni razvoj povećanja separacijske učinkovitosti HPLC kolona

| Godina prihvaćanja | Veličina čestica | Nominalna veličina | Broj tavana (N) / 5 cm |
|--------------------|---|--------------------|------------------------|
| 1969. |  | 100µm | 170 |
| 1973. |  | 57µm (poput opne) | 350 |
| 1975. |  | 10µm | 2 000 |
| 1985. |  | 5µm | 4 000 |
| 1992. |  | 3,5µm | 7 500 |
| 2003 |  | 1,8 µm | 12 000 |

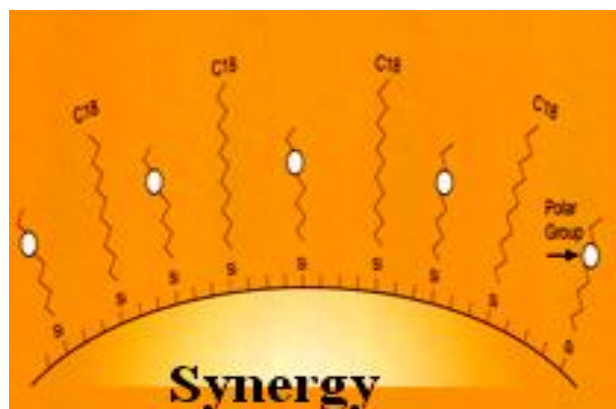
Danas postoji na svjetskom tržištu na desetke različitih proizvođača kolona za kromatografiju visoke učinkovitosti, no unatoč tome cijene kolona nisu niske, često puta kromatografičari su prinuđeni izabirati kolone prema literaturnim podacima, obzirom na prikazana svojstva sorbensa od strane proizvođača, te ih primijeniti na svoj analit/analite, naravno poznavajući dobro i fizikalno-kemijska svojstva analita.

Iako danas postoji niz programa koji olakšavaju izbor kolona obzirom na analit koji ispituje, ti programi su vrlo skupi i često nedostižni.

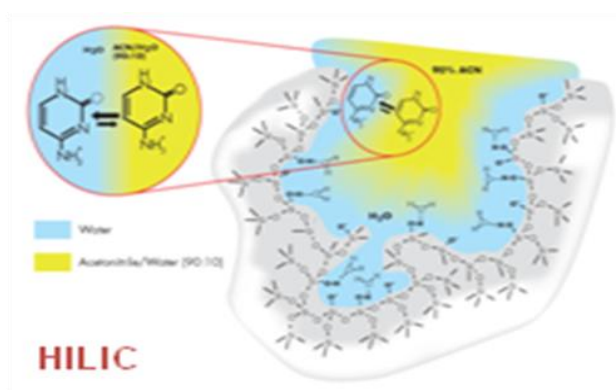
U ovom radu za ispitivane farmaceutike ispituje se dvanaest kolona od šest različitih proizvođača, različitih dimenzija, a izbor će se temeljiti na eksperimentalno dobivenim podacima.

Od svih navedenih kolona koje su korištene tijekom ispitivanja, dimenzije kolona se kreću od 50 do 150 mm, promjer od 2 do 4,6 mm i veličina zrnaca punila od 2,6 do 5 µm.

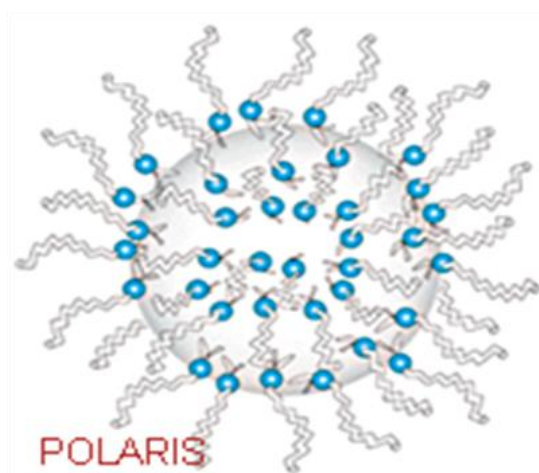
Punila sorbensa su od vrlo polarnih HILIC kolona od Agilenta i Watersa, preko nepolarnih C18 sorbensa od Mercka, Phenomenexa i Variana pa do Merckove CN kolone koja može biti polarnog i nepolarnog karaktera ovisno o sastavu pokretne faze.



Slika 7. Kolona Phenomenex, Synergi 4u Fusion-RP 80 Å



Slika 8. Kolona Agilent, Zorbax HILIC PLUS



Slika 9. Kolona Varian, Polaris 5u C18-A

2.1.1.2. KROMATOGRAFSKI PARAMETRI [3]

Za svaki analit na svakoj koloni očitavani su karakteristični parametri kromatografske krivulje. Kao kvalitativne parametre za pojedini analit, prate se vrijeme zadržavanja, t_R i apsorpcijski spektri, a kao kvantitativni parametre površina i visina kromatografske krivulje te bazna širina.

Tablica 2. Karakteristični kromatografski parametri

| PARAMETRI | JEDINICA | SIMBOLI Kirkland et.al. [4] | ASTME E -19 [5] | KROMATOGRAFSKI [5] |
|---------------------------------------|-------------------|---|--|---|
| Vrijeme zadržavanja nezadržanog spoja | s | t_0 | t'_m | t_m |
| Vrijeme zadržavanja | s | t_R | t_R | t_{m+s} |
| Prilagođeno vrijeme zadržavanja | s | $t'_R = t_R - t_0$ | $t'_R = t_R - t_m$ | $t_s = t_{m+s} - t_m$ |
| Bazna širina | s | w | y_1 | w_b |
| Faktor zadržavanja | - | $k = \frac{t'_R}{t_0}$ | $k = \frac{t'_R}{t_m}$ | $k = \frac{t_s}{t_m}$ |
| Faktor razdvajanja | - | $\alpha = \frac{k_2}{k_1} = \frac{t'_{R2}}{t'_{R1}}$ | $r = \frac{t'_R}{y_1}$ | $r = \frac{t'_s}{t'_s}$ |
| Razlučivanje | - | $R_s = 2\left(\frac{t'_{R2} - t'_{R1}}{w_1 + w_2}\right)$ | $R_s = 2\left(\frac{t_R - t_{R1}}{y_1 + y_2}\right)$ | $R_s = 2\left(\frac{t'_{m+s} - t'_{m+s}}{w'_b + w'_b}\right)$ |
| Broj teoretskih tavana | - | $N = 16 \left(\frac{t_R}{w}\right)^2$ | $n = 16 \left(\frac{t_R}{y_1}\right)^2$ | $n = 16 \left(\frac{t_{m+s}}{w_b}\right)^2$ |
| Broj efektivnih tavana | - | $N_{ef} = 16 \left(\frac{t'_R}{w}\right)^2$ | $n_{ef} = 16 \left(\frac{t'_R}{y_1}\right)^2$ | $n_{ef} = 16 \left(\frac{t_s}{w_b}\right)^2$ |
| Duljina kolone | cm | L | L | L |
| Visina tavana | cm | $H = \frac{L}{N}$ | $H = \frac{L}{n}$ | $H = \frac{L}{n}$ |
| Visina efektivnog tavana | cm | $H_{ef} = \frac{L}{N_{ef}}$ | $H_{ef} = \frac{L}{n_{ef}}$ | $H_{ef} = \frac{L}{n_{ef}}$ |
| Linearna brzina pokretne faze | cms ⁻¹ | $u = \frac{L}{t_0}$ | $\bar{u} = \frac{L}{t_m}$ | $\bar{u} = \frac{L}{t_m}$ |
| Pad tlaka u koloni | bar | | | |

Vrijeme zadržavanja nezadržanog spoja (t_0) je volumen zadržavanja sastojaka uzorka čije su molekule već od najvećih pora čestica gela. One će prve eluirati s kolone i odgovarajuće vrijeme zadržavanja je t_0 .

Vrijeme zadržavanja (t_R) je vrijeme zadržavanja sastojaka uzorka čije su molekule manje od najvećih pora čestica gela, ali su veće od najmanjih pora.

Prilagođeno vrijeme zadržavanja (t_R') je ukupno vrijeme zadržavanja umanjeno za vrijeme zadržavanja nezadržanog sastojka.

Širina kromatografske krivulje (w) je vrijeme zadržavanja paralelno s osnovicom. Ako osnovica nije paralelna s osi koja predstavlja vrijeme, tada se širina krivulje crta paralelno s tom osi.

Faktor zadržavanja (k) je omjer vremena koje sastojak provede u nepokretnoj fazi i vremena koje provede u pokretnoj fazi. On izražava koliko duže sastojak putuje kroz kolonu zbog zadržavanja u nepokretnoj fazi nego što bi putovao brzinom pokretne faze.

Faktor razdvajanja (α) je vrijednost relativnog zadržavanja izračunatog za dvije susjedne kromatografske krivulje.

Razlučivanje kromatografskih krivulja (R_s) izraženo je pomoću prosjeka širina njihovih osnovica ($t_{R2} > t_{R1}$).

Broj tavana (N) je broj koji označava djelotvornost kolone, a izračunava se pomoću gore navedene jednadžbe.

Broj efektivnih tavana (N_{ef}) je broj koji označava djelotvornost kolone, a izračunava se pomoću prilagođenih vremena zadržavanja.

Visina tavana (H) je duljina kolone podijeljena s brojem tavana.

Linearna brzina pokretne faze (u) se izračunava dijeljenjem duljine kolone (L) s vremenom zadržavanja spoja koji kroz kolonu prolazi bez zadržavanja (t_m).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1. MATERIJALI

3.1.1. *Kemikalije*

Kemikalije koje su korištene tijekom provođenja eksperimenta te čistoća i proizvođač kemikalija su prikazani u tablici 3.

Tablica 3. Popis korištenih kemikalija

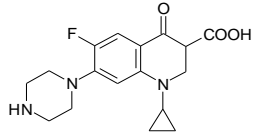
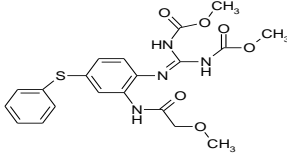
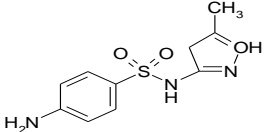
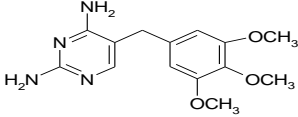
| NAZIV | MOLEKULSKA FORMULA | ČISTOĆA |
|-------------------------|-----------------------|---------|
| metanol | CH ₃ OH | HPLC |
| mravlja kiselina | HCOOH | p.a. |
| acetonitril | CH ₃ CN | HPLC |

Za pripravu otopina korištena je dvostruko deionizirana voda. [1]

3.1.2. *Farmaceutici*

Fizikalno-kemijska svojstva farmaceutika korištenih u ovom radu su prikazana u tablici 4.

Tablica 4. Fizikalno-kemijska svojstva ispitivanih farmaceutika

| FARMACEUTIK | IME PO IUPAC-u | GRUPA FARMACEUTIKA | MOLEKULARNA STRUKTURA | CAS BROJ | MOLARNA MASA | PROIZVOĐAČ | KONSTANTE |
|---|--|---|--|------------|--------------|--------------------|---|
| Ciprofloksacin [C ₁₇ H ₁₈ N ₃ O ₃ F] | 1-ciklopropil-6-fluoro-4-okso-7-piperazin-1-il-kinolin-3-karboksilna kiselina | Antibiotik (fluorkinolonski) |  | 85721-33-1 | 331,35 | PLIVA 93,6 % | Log K _{ow} = 0,28 S _w = 3e + 0,04 mg/L Log K _{oc} = - 0,004 K _{oc} = 0,9919 L/kg |
| Febantel (mikronizirani) [C ₂₀ H ₂₂ N ₄ O ₆ S] | N-[-[2,3-bis-(metoksikarbonil)-gvanido]-5-(feniltio)-fenil]-2-metoksiacetamid | Antihelmntik (antiparazitik) |  | 58306-30-2 | 446,48 | Veterina ≥ 99 % | Log K _{ow} = 1,53 S _w = 76,92 mg/L Log K _{oc} = 1,4468 K _{oc} = 27,98 L/kg |
| Sulfametoksazol [C ₁₀ H ₁₁ N ₃ O ₃ S] | N-[-[2,3-bis-(metoksikarbonil)-gvanido]-5-(feniltio)-fenil]-2-metoksiacetamid | Antibiotik (sulfonamidni) |  | 723-46-6 | 253,28 | Sigma ≥ 99 % | Log K _{ow} = 0,89 S _w = 3942 mg/L Log K _{oc} = 1,5356 K _{oc} = 34,33 L/kg |
| Trimetoprim [C ₁₄ H ₁₈ N ₄ O ₃] | Dimetil [2-[2-(2-metoksiacetamido)-4-(feniltio)fenil]imidokarbanil] dikarbamat 4-amino-N-(5-metilizoksazol-3-il) benzenesulfonamid | Sinergist sulfonamidnih antibiotika |  | 738-70-5 | 290,32 | Veterina ≥ 99 % | Log K _{ow} = 0,91 S _w = 2334 mg/L Log K _{oc} = 1,8955 K _{oc} = 78,61 L/kg |

3.1.3. Pokretna faza korištena u kromatografskom sustavu

Kao pokretna faza korištena je 0,01% mravlja kiselina u MilliQ vodi (A*) i 0,01% mravlja kiselina u acetonitrilu (B**). Gradijent protoka pokretne faze se mijenjao tijekom kromatografskog procesa (tablica 5.) uz protok od 0,5 mL/min.

Tablica 5. Gradijent pokretne faze

| t / min | A* | B** |
|----------------|-----------|------------|
| 0 | 100 | 0 |
| 2,30 | 92 | 8 |
| 6,00 | 90 | 10 |
| 11,00 | 70 | 30 |
| 15,00 | 40 | 60 |
| 18,20 | 5 | 95 |
| 28,00 | 5 | 95 |
| 28,06 | 100 | 0 |
| 30,00 | 100 | 0 |

3.1.4. Nepokretne faze (kolone) korištene u kromatografskom sustavu

HPLC kolone koje su korištene u ovom radu su prikazane u tablici 6.

Tablica 6. HPLC kolone na kojima su provedena ispitivanja

| PROIZVODAČ | VRSTA SORBENSA | DIMENZIJE KOLONE (L x ID mm; vč μm)* |
|-------------------------|---------------------------|---|
| <i>AGILENT (Ag1)</i> | Zorbax HILIC PLUS | 100 x 2,1 mm; 3,5 μm |
| <i>MERCK (Mk2)</i> | Purospher Star RP-18e | 125 x 2,0 mm; 5,0 μm |
| <i>MERCK (Mk1)</i> | Licrospher 100 CN | 125 x 4,0 mm; 5,0 μm |
| <i>PHENOMENEX (Ph1)</i> | Synergi 4u Fusion-RP 80 Å | 150 x 4,6 mm; 4,0 μm |
| <i>PHENOMENEX (Ph2)</i> | Synergi 4u Fusion-RP 80 Å | 150 x 2,0 mm; 4,0 μm |
| <i>PHENOMENEX (Ph3)</i> | Kinetex 2,6 u C18 100 Å | 150 x 3,0 mm; 2,6 μm |
| <i>SHIMADZU (Sh1)</i> | Patfinder AS C18 | 150 x 4,6 mm; 5,0 μm |
| <i>VARIAN (Va2)</i> | Omnispher 3 C18 | 100 x 4,6 mm; 3,0 μm |
| <i>VARIAN (Va3)</i> | Omnispher 5 C18 | 100 x 4,6 mm; 5,0 μm |
| <i>VARIAN (Va1)</i> | Microsorb-MV 100-5 C18 | 150 x 4,6 mm; 4,0 μm |
| <i>VARIAN (Va4)</i> | Polaris 5u C18-A | 50 x 2,0 mm; 5,0 μm |
| <i>WATERS (Wt1)</i> | XBridge HILIC | 150 x 4,6 mm; 3,5 μm |

* L = duljina kolone u mm, ID = unutarnji promjer u mm; vč = veličina čestica u μm

3.2. INSTRUMENT

Tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti izvedena je na Varian ProStar 500 (Walnut Creek, California, USA) sustavu koji se sastoji od ProStar 410 uređaja za automatsko dodavanje uzorka, ProStar 230 tercijarne pumpe, ProStar 330 detektora s nizom dioda (DAD), i termostatisane komore za kromatografsku kolonu (slika 10.). Za obradu kromatograma koristio se Varianov računalni program STAR 5.2 koji upravlja radom cijelog sustava, prikupljanjem i obradom podataka.



Slika 10. Uređaj za tekućinsku kromatografiju visoke djelotvornosti (Varian ProStar 500) korišten u laboratorijskom radu

Snimanje kromatograma provodilo se pri valnim duljinama od 254 i 280 nm. Volumen injektiranih pojedinačnih uzoraka farmaceutika i njihove smjese je 30 μL . Svaki uzorak injektiran je tri puta nakon čega je kolona isprana propuštanjem acetonitrila.

3.3. METODA RADA

3.3.1. Priprava standardnih otopina farmaceutika

Odvage svakog farmaceutika na analitičkoj vagi:

$$m(\text{ciprofloksacin}) = 0,0100 \text{ g}$$

$$m(\text{febantel}) = 0,0101 \text{ g}$$

$$m(\text{sulfametoksazol}) = 0,0100 \text{ g}$$

$$m(\text{trimetoprim}) = 0,0101 \text{ g}$$

Standardna otopina smjese farmaceutika: ciprofloksacina, febantela, sulfametoksazola i trimetoprime pripremljena je otapanjem točno poznate mase svakog farmaceutika u metanolu HPLC čistoće tako da su dobivene sljedeće masene koncentracije:

$$\gamma(\text{ciprofloksacin}) = 20 \text{ mg/L}$$

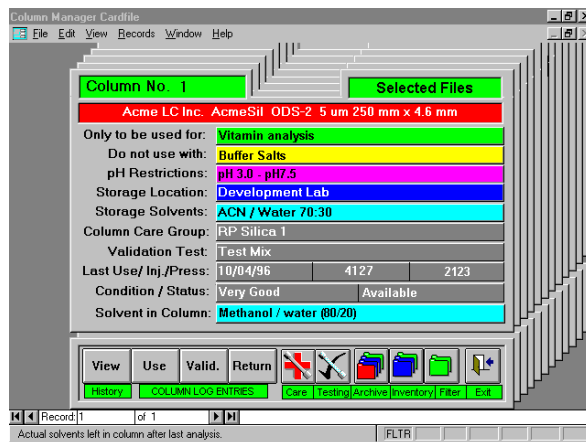
$$\gamma(\text{febantel}) = 12 \text{ mg/L}$$

$$\gamma(\text{sulfametoksazol}) = 15 \text{ mg/L}$$

$$\gamma(\text{trimetoprim}) = 30 \text{ mg/L}$$

4. REZULTATI I RASPRAVA

Danas postoje različiti programi koji omogućavaju lakši odabir nepokretne faze za pojedini analit.



Slika 11. Programi

Međutim, za takve programe treba poznavati fizikalno-kemijska svojstva nepokretne faze odnosno kolona koje su uglavnom patenti pojedinih proizvođača i mnogi parametri nisu dostupni. Ukoliko se žele pripremiti kolone sličnih specifikacija različitih proizvođača, tada se takvi programi uglavnom ne mogu primjeniti. U tom slučaju, najbolja metoda je uspoređivanje eksperimentalnim putem, a to znači snimanje kromatograma i njihova obrada obzirom na ispitivane analite.

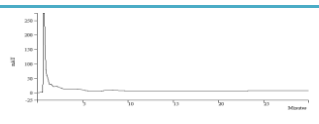
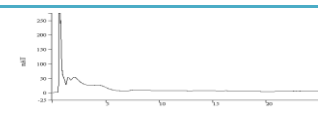
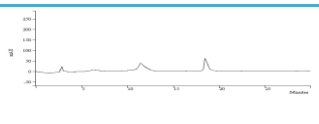
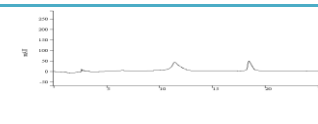
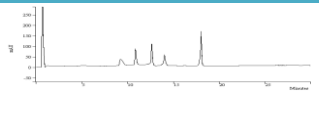
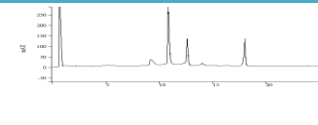
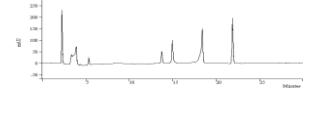
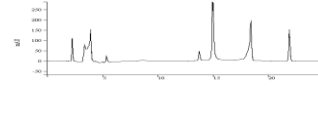
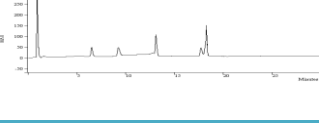
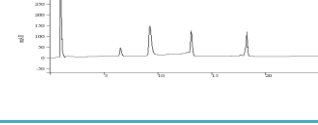
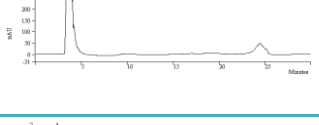
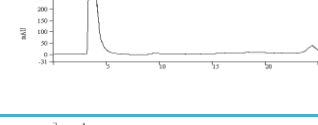
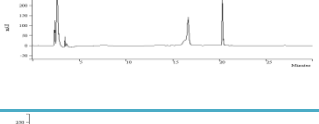
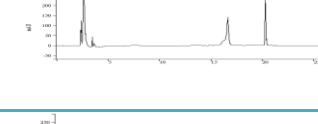
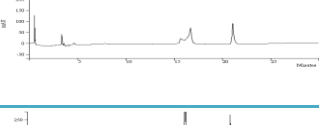
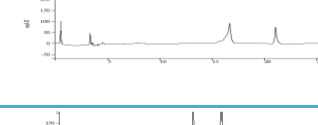
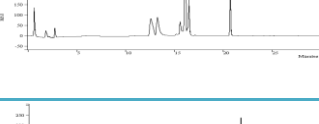
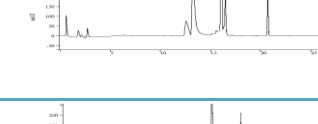
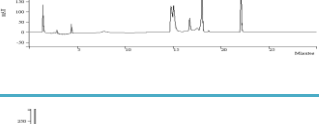
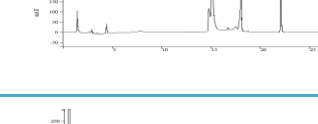
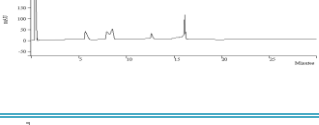
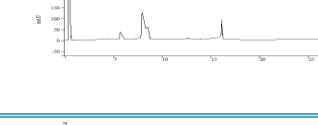
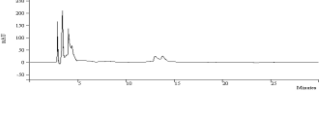
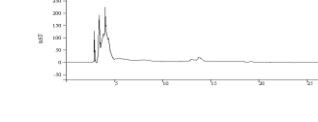
Dakle, da bi se uopće mogla izabrati odgovarajuća kolona, moraju se snimiti kromatogrami i očitati karakteristični parametri kromatografske krivulje za svaki analit na svakoj koloni. Snimanje kromatograma provodilo se pri valnim duljinama od 254 i 280 nm jer na 254 nm apsorbiraju i otapala, što utječe na baznu liniju. Bazna linija je puno lošija na 254 nego na 280 nm. Na 280 nm ciprofloksacin ima puno veći odziv nego na 254 nm, febantel na 254 nm, dok trimetoprim i sulfametoksazol imaju podjednak odziv na obje valne duljine.

Kolone istih dimenzija i približno istih veličina čestica sorbensa kao što su Xbridge HILIC (Waters), Microsorb-MV (Varian), Patfinder (Shimadzu), te Sinergy Fusion (Phenomenex) kolone, ukazuju da se kromatogrami značajno razlikuju zbog različitih fizikalno-kemijskih svojstava sorbensa, odnosno različitog načina pripreme od proizvođača do proizvođača.

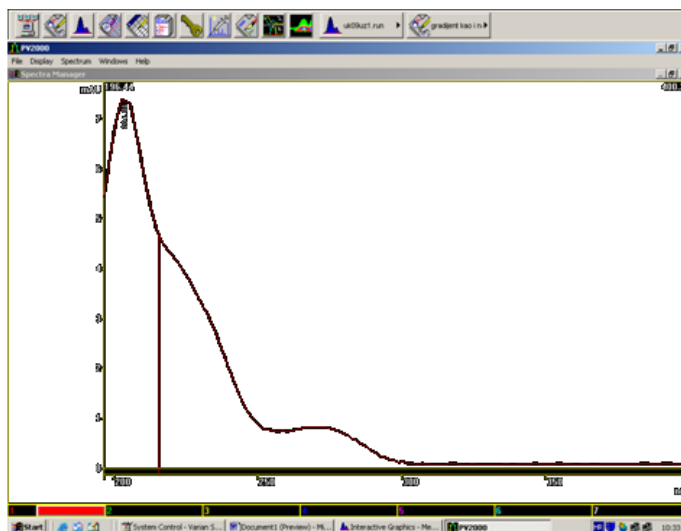
Primjerice kod Xbridge HILIC kolone nije došlo do separacije pa je sve pomaknuto na početak kromatograma.

Dobiveni kromatogrami su prikazani u tablici 7.

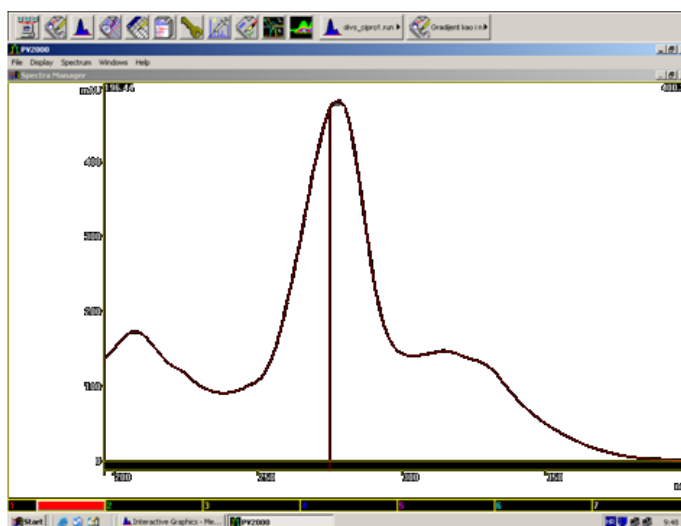
Tablica 7. Dobiveni kromatogrami snimani na 254 i 280 nm

| Kolona | Valna duljina, nm | |
|---|---|---|
| | 254 | 280 |
| <i>Zorbax HILIC PLUS,</i> 100 x 2,1 mm; 3,5 μm |  |  |
| <i>Purospher Star RP-18e,</i> 125 x 2,0 mm; 5,0 μm |  |  |
| <i>Licrospher 100 CN,</i> 125 x 4,0 mm; 5,0 μm |  |  |
| <i>Synergi 4u Fusion-RP 80 Å,</i> 150 x 4,6 mm; 4,0 μm |  |  |
| <i>Synergi 4u Fusion-RP 80 Å,</i> 150 x 2,0 mm; 4,0 μm |  |  |
| <i>Kinetex 2,6 u C18 100 Å,</i> 150 x 3,0 mm; 2,6 μm |  |  |
| <i>Patfinder AS C18,</i> 150 x 4,6 mm; 5,0 μm |  |  |
| <i>Omnispher 3 C18,</i> 100 x 4,6 mm; 3,0 μm |  |  |
| <i>Omnispher 5 C18,</i> 100 x 4,6 mm; 5,0 μm |  |  |
| <i>Microsorb-MV 100-5 C18,</i> 150 x 4,6 mm; 4,0 μm |  |  |
| <i>Polaris 5u C18-A,</i> 50 x 2,0 mm; 5,0 μm |  |  |
| <i>XBridge HILIC</i> 150 x 4,6 mm; 3,5 μm |  |  |

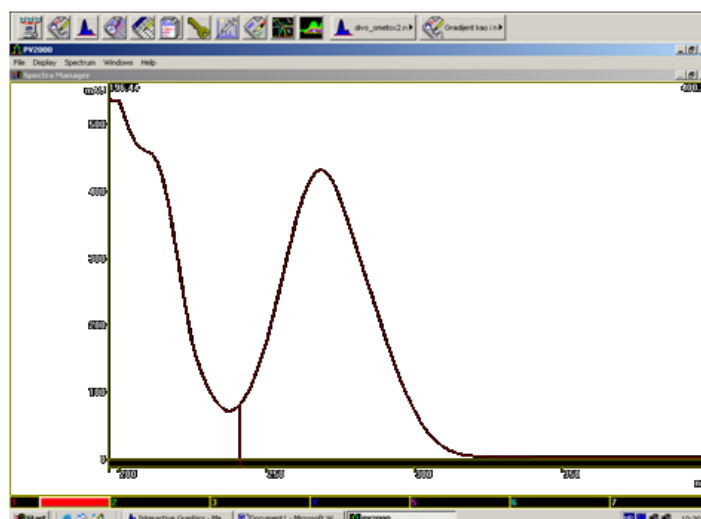
Obzirom da se vrijeme zadržavanja tijekom eksperimenata mijenjalo od kolone do kolone, bilo je nužno uspoređivati apsorpcijske spektre ispitivanih analita dobivenih eksperimentom sa spektrima iz baze podataka. Apсорpcijski spektri ispitivanih analita prikazani su na slikama 12., 13., 14. i 15.



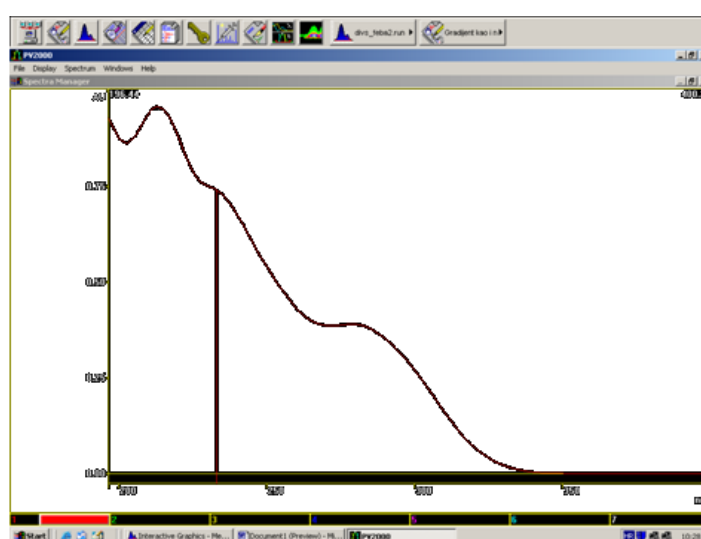
Slika 12. Apсорpcijski spektar iz baze podataka za trimetoprim



Slika 13. Apсорpcijski spektar iz baze podataka za ciprofloksacin

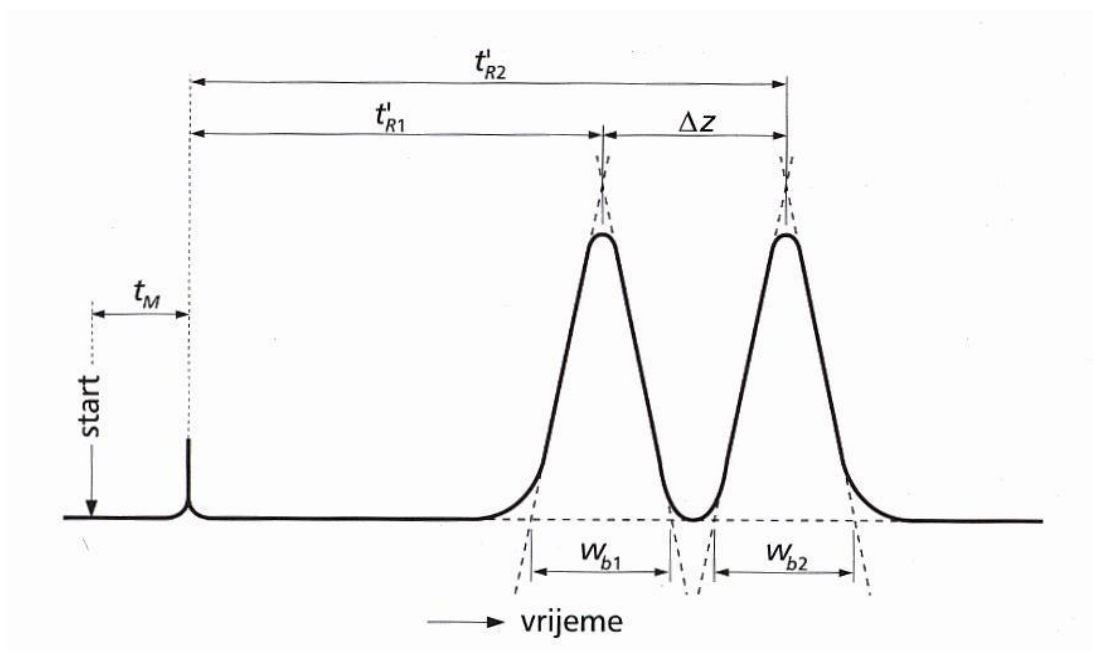


Slika 14. Apsorpcijski spektar iz baze podataka za sulfametoksazol



Slika 15. Apsorpcijski spektar iz baze podataka za febantel

Kao što je već spomenuto kod parametara kromatografske krivulje, kao kvalitativni parametri za pojedini analit prati se vrijeme zadržavanja, t_R i apsorpcijski spektri, a kao kvantitativni parametri površina kromatografske krivulje i bazna širina.



Slika 16. Određivanje razlučivanja dviju susjednih kromatografskih krivulja

Navedeni parametri korišteni su za određivanje R_S vrijednosti, odnosno određivanje razlučivanja dviju susjednih kromatografskih krivulja pri čemu ta vrijednost treba biti što bliža jedinici ili još bolje što veća od jedan, no to nije uvijek moguće, osobito kod višekomponentnih analiza kao što je to u ovom slučaju (slika 16.).

$$R_S = \frac{2(t_{R1} - t_{R2})}{w_{b1} + w_{b2}} \quad (1)$$

R_S vrijednosti su izračunate pomoću jednadžbe (1) koja predstavlja omjer razlike vremena zadržavanja između dviju susjednih kromatografskih krivulja (u ovom slučaju između trimetoprima i ciprofloksacina, ciprofloksacina i sulfametoksazola te između sulfametoksazola i febantela) i zbroja širina tih dviju kromatografskih krivulja.

Na različitim valnim duljinama, analit se ne vidi na svim kolonama. Iz tablice 8. se može vidjeti da je najbolja separacija postignuta na Va2, a najlošija na kolonama Va3 jer su R_S vrijednosti dosta niske. Iz tablice 9. se vidi da je do najbolje separacije došlo na koloni Va2, a do najlošije na kolonama Wt1.

Tablica 8. R_s vrijednosti izračunate za 254 nm

| *NAZIV KOLONE | R_s vrijednosti | | |
|------------------|-------------------|--------------|-------------|
| | TMP-CIPRO | CIPRO-SMETOX | SMETOX-FEBA |
| Mk2 | 0,080337 | 0,179311 | 0,65305 |
| Ph1 | 0,16863 | 0,424219 | 0,439018 |
| Va2 | 0,040009 | 0,373105 | 0,845612 |
| Va3 | 0,023253 | 0,452055 | 0,662425 |

Tablica 9. R_s vrijednosti izračunate za 280nm

| *NAZIV KOLONE | R_s vrijednosti | | |
|------------------|-------------------|--------------|-------------|
| | TMP-CIPRO | CIPRO-SMETOX | SMETOX-FEBA |
| Mk2 | 0,080332 | 0,180099 | 0,654479 |
| Ph2 | 0,170788 | 0,309447 | 0,728711 |
| Ph3 | 0,143903 | 0,423719 | 0,441635 |
| Va2 | 0,039295 | 0,358912 | 0,827721 |
| Wt1 | 0,023315 | 0,377679 | 0,661899 |

***NAZIV KOLONE**

Mk 2- MERCK, Purospher Star RP-18e, 125 x 2,0 mm; 5,0 μ m

Ph1- PHENOMENEX, Synergi 4u Fusion-RP 80 Å, 150 x 4,6 mm; 4,0 μ m

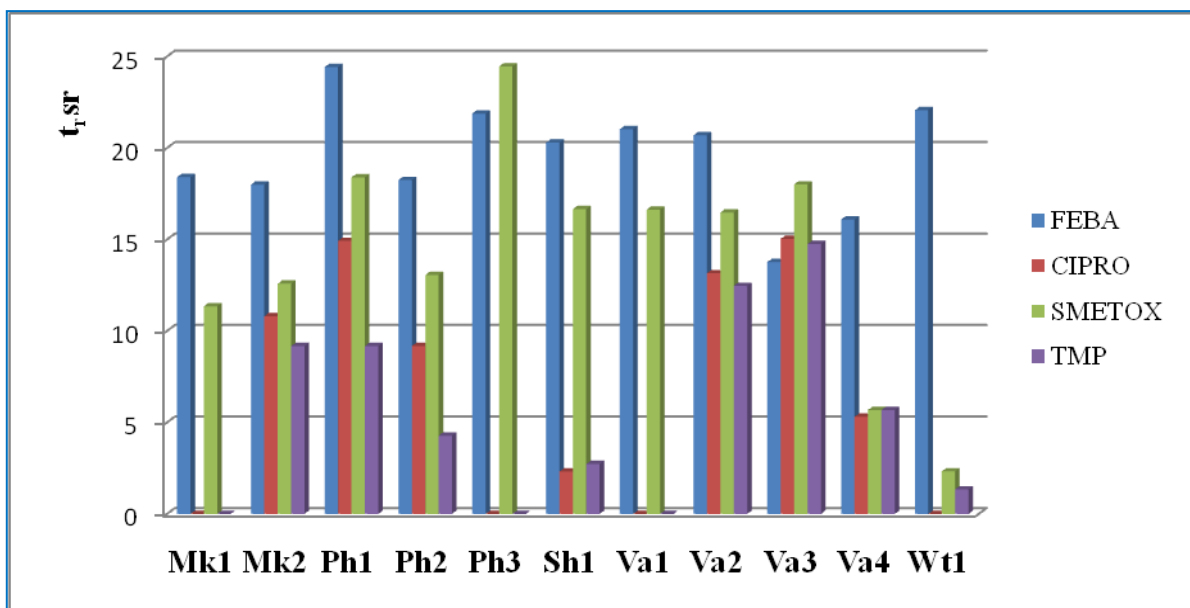
Ph2- PHENOMENEX, Synergi 4u Fusion-RP 80 Å, 150 x 2,0 mm; 4,0 μ m

Ph3- PHENOMENEX, Kinetex 2,6 u C18 100 Å, 150 x 3,0 mm; 2,6 μ m

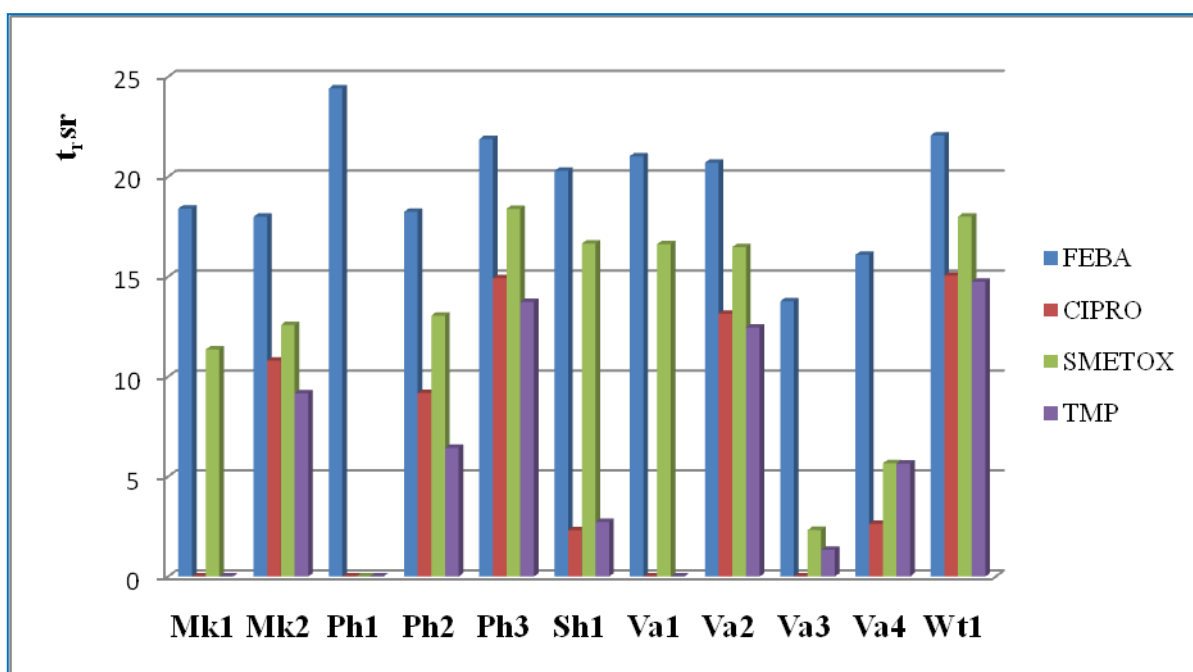
Va2- VARIAN, Omnispher 3 C18, 100 x 4,6 mm; 3,0 μ m

Va3- VARIAN, Omnispher 5 C18, 100 x 4,6 mm; 5,0 μ m

Wt1- WATERS, XBridge HILIC, 150 x 4,6 mm; 3,5 μ m



Slika 17. t_R vrijednosti za sva četiri uzorka na 254 nm



Slika 18. t_R vrijednosti za sva četiri uzorka na 280 nm

S obzirom na promjenu vremena zadržavanja od kolone do kolone, dokazivanje pojedinog analita provodilo se putem apsorpcijskih spektara koje daje detektor sa nizom dioda.

Proučavajući t_R vrijednosti za sva četiri uzorka uočava se sljedeće (slike 17. i 18.):

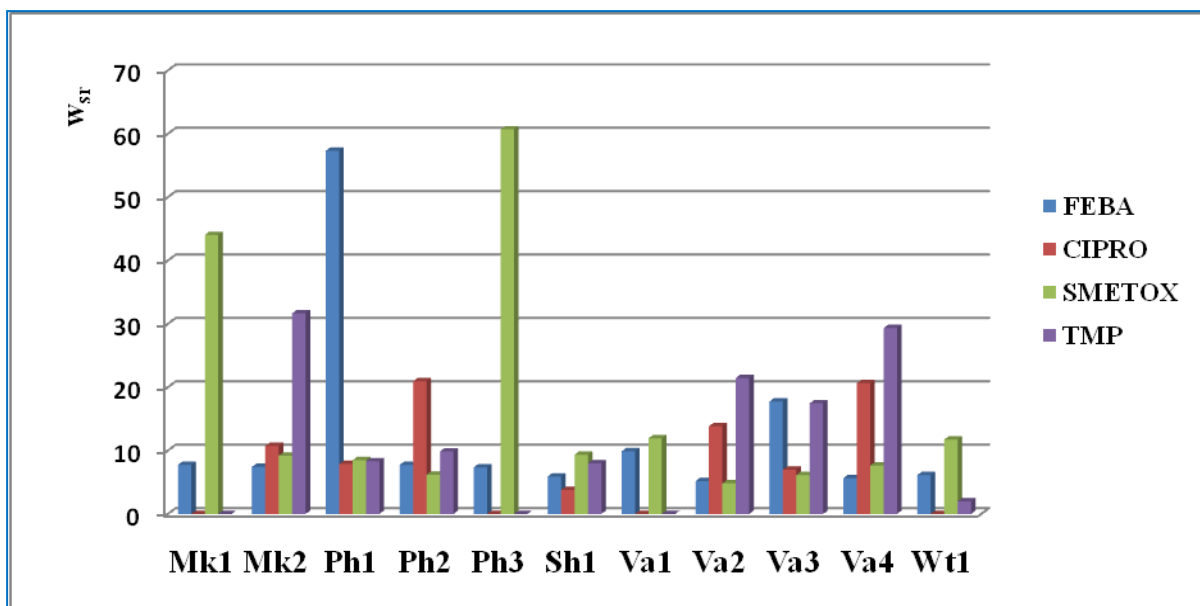
-Vrijeme zadržavanja za febantel mijenja se od kolone do kolone u rasponu od približno 14 min za kolonu Va3 pa do približno 24 min za kolonu Ph1 što se može vidjeti na obje valne duljine.

-Vrijeme zadržavanja za ciprofloksacin kod valne duljine 254 nm mijenja se u rasponu od približno 1 min za kolonu Mk1, Ph3, Va1, Wt1 pa do približno 14 min za kolonu Ph1 i Va3, a kod 280 nm u rasponu od približno 1 min za kolonu Mk1, Ph1, Va1, Va3 pa do 14 min za kolonu Ph3 i Wt1.

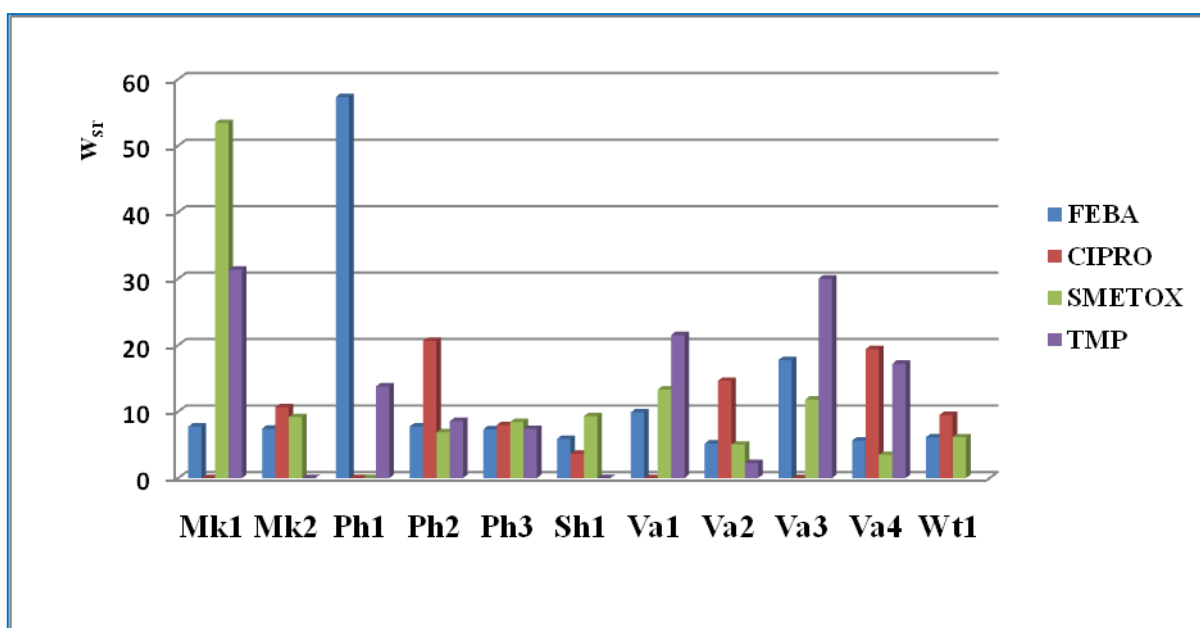
-Vrijeme zadržavanja za sulfametoksazol kod valne duljine 254 nm mijenja se u rasponu od približno 3 min za kolonu Wt1 pa do približno 24 min za kolonu Ph3, a kod valne duljine 280 nm mijenja se u rasponu od približno 3 min za kolonu Ph1 pa do približno 18 za kolonu Ph3.

-Vrijeme zadržavanja za trimetoprim kod valne duljine 254 nm mijenja se u rasponu od približno 1 min za kolonu Mk1, Ph3, Va1 pa do približno 14 min za kolonu Va3, a kod valne duljine 280 nm mijenja se u rasponu od približno 1 min za kolonu Mk1, Ph1, Va1 pa do približno 14 min za kolonu Wt1.

Iz ovih vrijednosti za vrijeme zadržavanja, može se zaključiti da se može skratiti vrijeme analize.



Slika 19. w_{sr} vrijednosti za sva četiri uzorka na 254 nm



Slika 20. w_{sr} vrijednosti za sva četiri uzorka na 280 nm

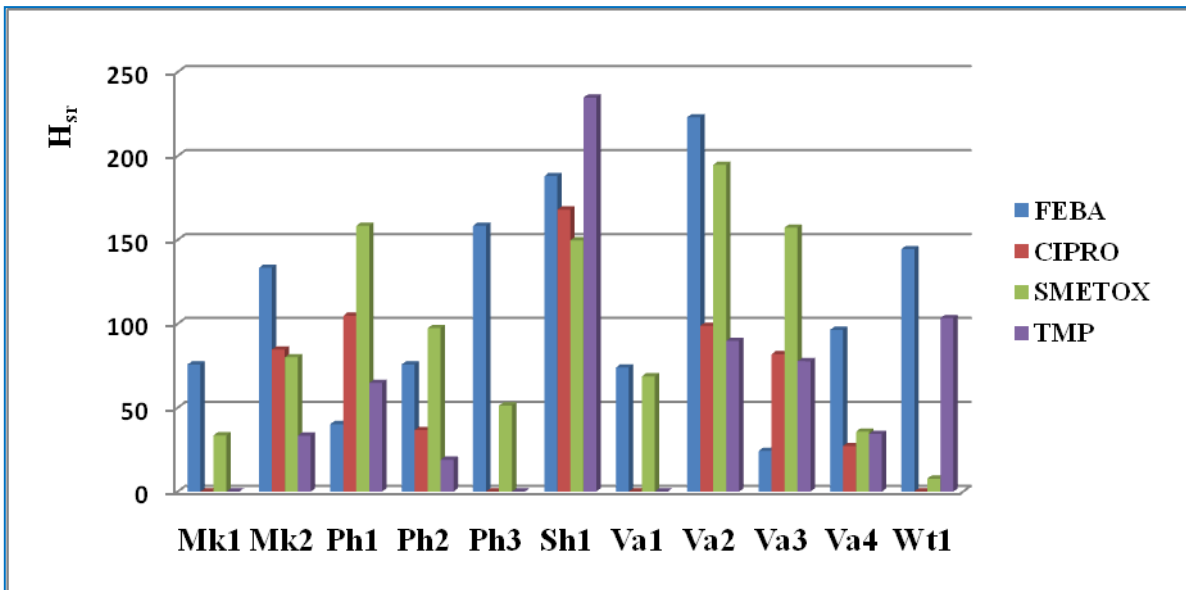
Što je veća širina krivulje, lošije je razlučivanje i odziv tj. manji je signal, a samim time se povećavaju granice detekcije i kvantifikacije (slike 19. i 20.).

Raspon širina za febantel je bio od približno 5 s za kolonu Va2 pa do približno 55 s za kolonu Ph1 kod obje valne duljine.

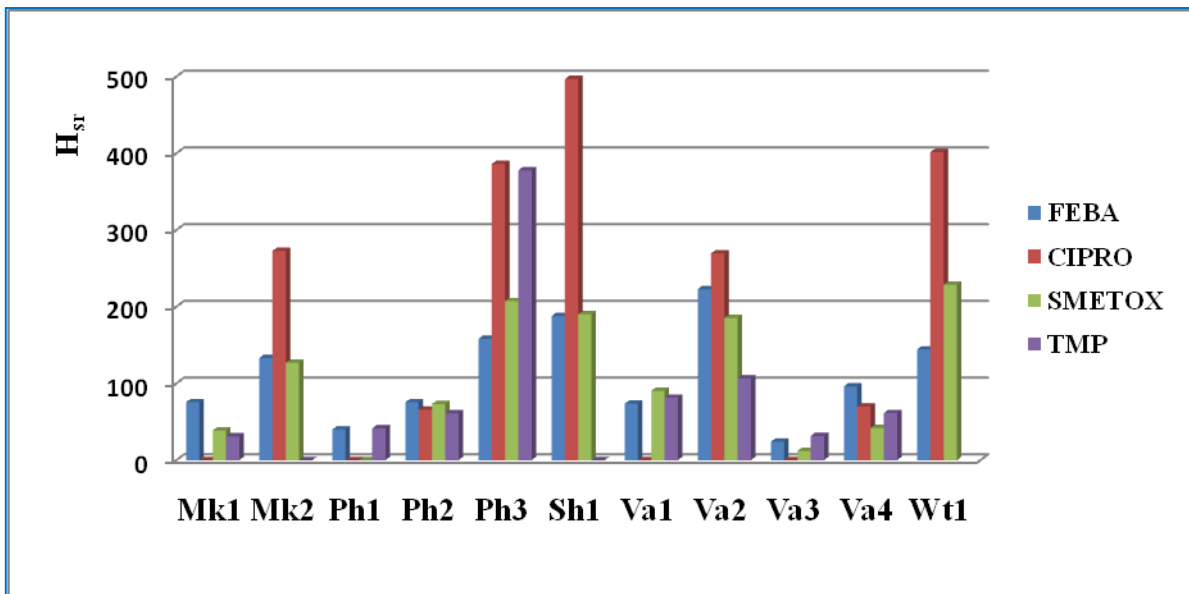
Raspon širina za ciprofloksacin kod valne duljine 254 nm je bio od približno 1 s za kolone Mk1, Ph3, Va1, Wt1 pa do približno 20 s za kolone Ph2 i Va4, a kod valne duljine 280 nm je bio od približno 1 s za kolone Mk1, Ph1, Va1 pa do približno 20 s za kolonu Ph2.

Raspon širina za sulfametoksazol kod valne duljine 254 nm je bio od približno 5 s za kolonu Va2 pa do približno 60 s za kolonu Ph3, a kod valne duljine 280 nm je bio od približno 1 s za kolonu Ph1 pa do približno 53 s za kolonu Mk1.

Raspon širina za trimetoprim kod valne duljine 254 nm je bio od približno 1 s za kolone Mk1, Ph3, Va1 pa do približno 30 s za kolonu Mk2, a kod valne duljine 280 nm je bio od približno 1 s za kolone Mk2, Sh1, Wt1 pa do približno 31 s za kolonu Mk1.



Slika 21. H_{sr} vrijednosti za sva četiri uzorka na 254 nm



Slika 22. H_{sr} vrijednosti za sva četiri uzorka na 280 nm

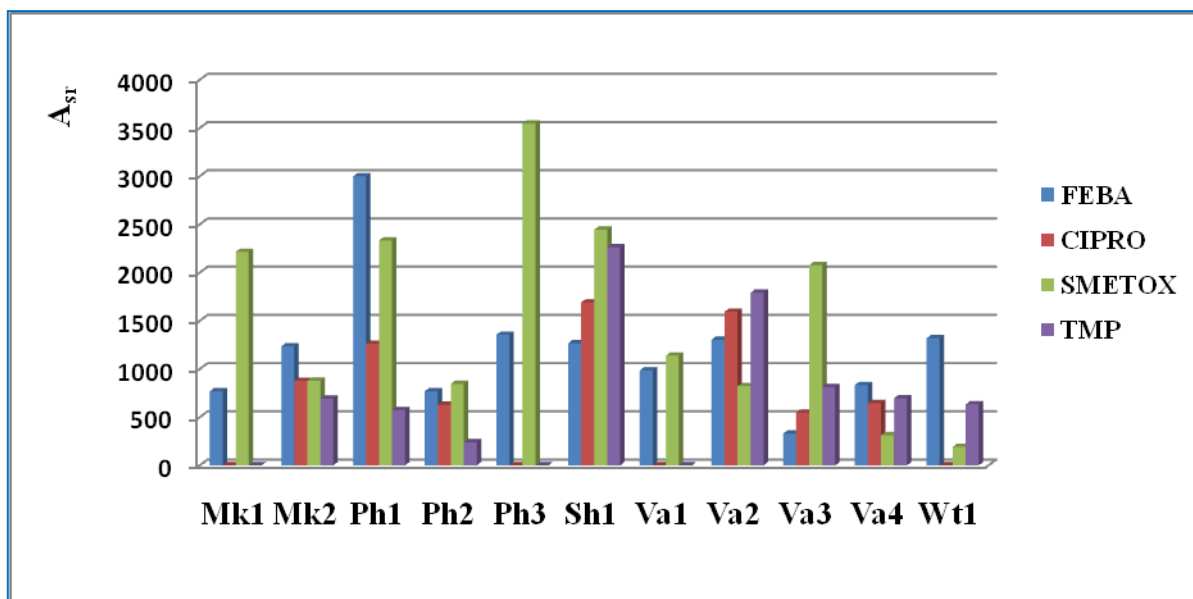
Kod HPLC-DAD kromatografije, s obzirom na širinu kromatografske krivulje, kao parametar za kvantifikaciju površine kromatografske krivulje ne uzima se visina. Visina se mijenja od kolone do kolone značajnije od površine, ponovljivost mjerenja je manja, te se uglavnom kao parametar za kvantifikaciju uzima površina (slike 21. i 22.).

Raspon visina za febantel je bio od približno 25 mA jedinica za kolonu Va3 do približno 230 mA jedinica za kolonu Va2 kod obje valne duljine.

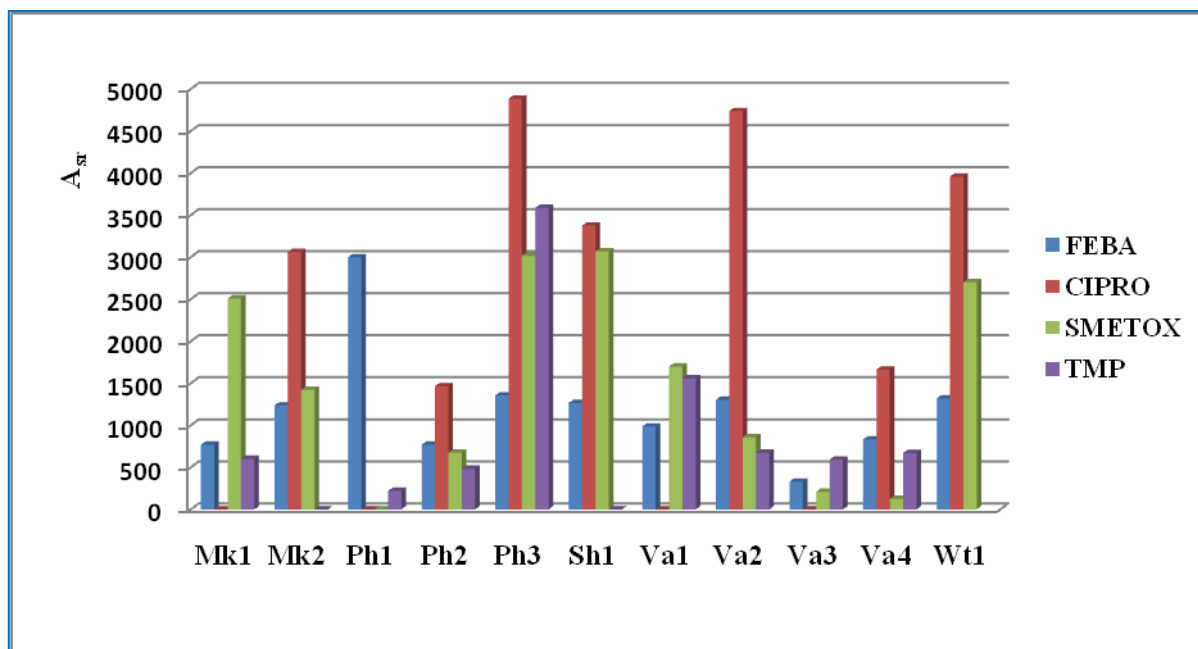
Raspon visina za ciprofloksacin kod valne duljine 254 nm je bio od približno 1 mA jedinica za kolone Mk1, Ph3, Va1, Wt1 do približno 160 mA jedinica za kolonu Sh1, a kod valne duljine 280 nm od približno 1 mA za kolonu Mk1, Ph1, Va1, Va3 pa do približno 490 mA jedinica za kolonu Sh1.

Raspon visina za sulfametoksazol kod valne duljine 254 nm je bio od približno 10 mA jedinica za kolonu Wt1 do približno 190 mA jedinica za kolonu Va2, a kod valne duljine 280 nm od približno 1 mA jedinica za kolonu Ph1 pa do približno 225 mA jedinica za kolonu Wt1.

Raspon visina za trimetoprim kod valne duljine 254 nm je bio od približno 1 mA jedinica za kolone Mk1, Ph3, Va1 pa do približno 225 mA jedinica za kolonu Sh1, a kod valne duljine 280 nm od približno 1 mA jedinica za kolonu Mk2, Sh1, Wt1 pa do približno 370 mA jedinica za kolonu Ph3.



Slika 23. A_{SR} vrijednosti za sva četiri uzorka na 254 nm



Slika 24. A_{SR} vrijednosti za sva četiri uzorka na 280 nm

Promatrajući vrijednosti površine koje se mijenjaju od kolone do kolone, za sva četiri uzorka uočava se sljedeće (slike 23. i 24.):

-Kod obje valne duljine, za febantel, najveću površinu je dala kolona Ph1, a najmanju kolona Va3.

-Kod valne duljine 254 nm, za ciprofloksacin, najveću površinu je dala kolona Sh1, a najmanju su dale kolone Mk1, Ph3, Va1 i Wt1, a kod valne duljine 280 nm, najveću površinu je dala kolona Ph3, a najmanju su dale kolone Mk1, Ph1, Va1 i Va3.

-Kod valne duljine 254 nm, za sulfametoksazol, najveću površinu je dala kolona Ph3, a najmanju kolona Wt1, a kod valne duljine 280 nm, najveću površinu je dala kolona Ph3, a najmanju kolona Wt1.

-Kod valne duljine 254 nm, za trimetoprim, najveću površinu je dala kolona Sh1, a najmanju kolona Mk1, Ph3 i Va1, a kod valne duljine 280 nm, najveću površinu je dala kolona Ph3, a najmanju kolona Mk2, Sh1 i Wt1.

5. ZAKLJUČCI

1. R_S vrijednosti su se mogle računati samo za kolone: MERCK, Purospher Star RP-18e, 125 x 2,0 mm; 5,0 μ m, PHENOMENEX, Synergi 4u Fusion-RP 80 Å, 150 x 4,6 mm; 4,0 μ m, VARIAN, Omnispher C18, 100 x 4,6 mm; 3,0 μ m, VARIAN, Omnispher C18, 100 x 4,6 mm; 5,0 μ m pri 254 nm i za kolone: MERCK, Purospher Star RP-18e, 125 x 2,0 mm; 5,0 μ m, PHENOMENEX, Synergi 4u Fusion-RP 80 Å, 150 x 2,0 mm; 4,0 μ m, PHENOMENEX, Kinetex C18 100 Å, 150 x 3,0 mm; 2,6 μ m, VARIAN, Omnispher 3 C18, 100 x 4,6 mm; 3,0 μ m, WATERS, XBridge HILIC, 150 x 4,6 mm; 3,5 μ m pri 280 nm.
2. Merckova kolona Licrospher 100 CN, dimenzija 125 x 4,0 mm; 5,0 μ m i Phenomenexova kolona Synergy 4u Fusion-RP 80 Å, dimenzija 150 x 4,6mm; 4 μ m pokazuju kraće vrijeme analize.
3. Najbolja kolona je Phenomenexova kolona, Synergy 4u Fusion-RP 80 Å, dimenzija 150 x 4,6 mm; 4 μ m.

6. ZAHVALE

*Zahvaljujem se dr. sc. Danijeli Ašperger na pruženoj
pomoći i poticanju na rad.*

*Zahvaljujem se dečku i roditeljima koji su bili cijelo
vrijeme uz mene i pružili mi veliku potporu
pri izradi ovoga rada.*

„ Budite radosni kad god vam se za to pruža mogućnost, i kad god za to nalazite snage u sebi, jer trenutci čiste radosti vrijede i znače više nego čitavi dani i mjeseci našeg života provedeni u mutnoj igri naših sitnih i krupnih strasti i prohtjeva. A minut čiste radosti ostaje u nama zauvijek, kao sjaj koji ništa ne može zamračiti.“ (Ivo Andrić)

7. LITERATURA

- [1] D. Ašperger,
Razvoj kromatografskih metoda za određivanje veterinarskih antibiotika u okolišu,
Disertacija, Zagreb 2007.
- [2] M. Kaštelan-Macan,
Kemijaska analiza u sustavu kvalitete, Školska knjiga, Zagreb 2003.
- [3] Š. Cerjan-Stefanović i dr.,
Kromatografsko nazivlje, IUPAC Preporuke 1993. i 1998., HINOS d.o.o., Zagreb 1999.
- [4] Ed. J. J. Kirkland,
Modern Practicle of Liquid Chromatography, Wiley, New York 1971.
- [5] Z. Hao, B. Xiao, N. Weng,
J. Sep. Sci. **31** (2008) 1449-1464

8. SAŽETAK

Veterinarski farmaceutici podrazumijevaju vrlo široki spektar spojeva različitih fizikalno–kemijskih svojstava. Dolaze u okoliš različitim putovima i potrebno ih je odrediti u okolišu, a u tu svrhu se najčešće koriste kromatografske metode. Jedna od metoda je i tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti s detektorom s nizom dioda (HPLC-DAD) koja je korištena u ovom radu. Cilj ovog rada je izabrati najbolju nepokretnu fazu, odnosno kolonu za kromatografsku separaciju ispitivanih farmaceutika (fluorokinolonski antibiotik ciprofloksacin, antiparazitik febantel, sulfonamidni antibiotik sulfametoksazol i njegov sinergist trimetoprim), koja će dati najbolju separaciju i najveći odziv signala za svaki farmaceutik.

Na tržištu postoji niz proizvođača HPLC kolona različitih nepokretnih faza (Agilent, Merck, Shimadzu, Varian, Waters) i svaki od njih tvrdi da je njihov proizvod upravo rješenje analitičkih problema. U ovom radu korištene su kolone navedenih proizvođača definiranjem nekih bitnih kromatografskih parametara za kromatografske kolone primjenom na ispitivane farmaceutike.

Najbolji eksperimentalni rezultati i separacija ispitivanih farmaceutika postignuta je na koloni Synergy 4 μ Fusion-RP 80 Å (150 x 4,6 mm; 4 μ m) iz Phenomenexa (SAD).

Ključne riječi: *veterinarski farmaceutici, tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti (HPLC), detektor s nizom dioda (DAD), HPLC kolone, nepokretna faza*

9. SUMMARY

Veterinary pharmaceuticals include a wide range of compounds of different physico-chemical properties. They come into the environment with different ways and need to be determined in the environment, and for this purpose are commonly used chromatographic methods. One of these methods is the high performance liquid chromatography with diode array detector (HPLC-DAD), used in this experimental work. The aim of this work was to find optimal stationary phase and HPLC column for chromatographic separation of investigated pharmaceuticals (fluoroquinolone antibiotic ciprofloxacin, antiparasitic febantel, sulphonamide antibiotic sulfamethoxazole and his synergist trimethoprim) which will gave the best separation and maximum signal response for each pharmaceutical.

On the market there are many manufacturers of HPLC columns with different stationary phase (Agilent, Merck, Shimadzu, Varian, Waters) and each of them claimed that their product is exactly the solution of analytical problems. In this work were used HPLC columns of mentioned manufacturers, and for each column were defined important chromatographic parameters implemented on investigated pharmaceuticals.

The best experimental results and separation of investigated pharmaceuticals are achieved on Synergy 4u Fusion-RP 80 Å column (150 x 4.6 mm, 4 µm) from Phenomenex (USA).

KeyWords: *veterinary pharmaceuticals, high performance liquid chromatography (HPLC), diode array detector (DAD), HPLC columns, stationary phase*

10. ŽIVOTOPIS

IVANA ĐURIĆ je rođena 14. rujna 1986. godine u Novoj Gradiški. U rodnom gradu je završila osnovnu školu Ljudevita Gaja i srednju školu, Opća gimnazija Nova Gradiška. Maturirala je 2005. godine i iste godine upisala Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije u Zagrebu kao redovna studentica na sveučilišnom preddiplomskom studiju Kemije i inženjerstva materijala. Završni rad pod naslovom: „*Ekološki prihvatljivi inhibitori korozije metala*“ je radila na Zavodu za elektrokemiju pod vodstvom mentorice dr. sc. Emi Stupnišek-Lisac. Nakon završenog sveučilišnog preddiplomskog studija kemije i inženjerstva materijala 2008. godine, upisala je sveučilišni diplomski studij Kemije i inženjerstva materijala. Sudjelovala je posterskim izlaganjem na VIII. Susretu mladih kemijskih inženjera s temom: „*Značaj polimerne ambalaže za pakiranje hrane*“ pod mentorstvom profesorice Zlate Hrnjak-Murgić. Trenutno radi diplomski rad pod naslovom „*Uklanjanje veterinarskih farmaceutika naprednim oksidacijskim metodama*“ pod mentorstvom dr. sc. Danijele Ašperger, doc. Poznaje engleski jezik i računalno je pismena.