

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ALENKA GJURAN

***IN VITRO* SIMULACIJA pH PROFILA IN PUFRSKIH KAPACITET MEDIJEV
PREBAVNEGA TRAKTA**

***IN VITRO* SIMULATION OF pH PROFILE AND BUFFER CAPACITIES OF THE GIT
MEDIA**

ENOVITI MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM FARMACIJA

Ljubljana, 2016

Magistrsko nalogo sem opravljala na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se prof. dr. Mariji Bogataj, mag. farm. za strokovno vodenje in usmerjanje pri izdelavi magistrske naloge, prav tako se zahvaljujem Tjaši Felicijan, mag. farm. za vso pomoč in nasvete. Hvala Greti Cof, dipl. ing. kem. tehn. za prijetno vzdušje in pomoč v laboratoriju.

Še posebej se zahvaljujem staršem in fantu za vso potrpežljivost in podporo tekom študija, da so zmeraj verjeli vame in nad mano niso obupali.

Najlepša hvala mojim puncam, za vse spodbudne besede ter za polepšane študentske dni. Še posebej hvala Evi, zaradi katere je bilo pisanje naloge lažje. Hvala za vse nasvete in pomoč.

Izjava

Izjavljam, da sem magistrsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Marije Bogataj, mag. farm.

Alenka Gjuran

Predsednik komisije: izr. prof. dr. Matjaž Jeras

Član komisije: asist. dr. Stane Pajk

VSEBINA

POVZETEK	III
ABSTRACT	V
SEZNAM OKRAJŠAV	VII
1 UVOD.....	1
1.1 PUFRSKA KAPACITETA	1
1.2 LITERATURNI PODATKI O VREDNOSTIH PUFRSKIH KAPACITET PREBAVNEGA TRAKTA	3
1.2.1 PREISKOVANCI, POGOJI IN METODE MERJENJA	3
1.2.2 REZULTATI ŠTUDIJ	6
2 NAMEN DELA	9
3 MATERIALI IN METODE	10
3.1 MATERIALI IN APARATURE	10
3.2 PRIPRAVA RAZTOPIN.....	11
3.2.1 KISLINE IN BAZE	11
3.2.2 PUFRI.....	12
3.3 METODE	14
3.3.1 URAVNAVANJE PRETOKA NA PRETOČNEM SISTEMU	14
3.3.2 NASTAVITEV PRETOČNEGA SISTEMA	15
3.3.2.1 PRIMERJAVA OBEH SISTEMOV IN VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA <i>pH</i> PROFILE.....	16
3.3.2.2 SIMULACIJA <i>pH</i> PROFILOV Z REDČENIMI MCILVAINOVIMI PUFRI....	17
3.3.2.3 UPORABA DODATNE CEVKE V DOVODNI CEVKI	19
3.3.3 DOLOČANJE PUFRSKIH KAPACITET REDČENIH MCILVAINOVIH PUFROV	20
3.3.4 DOLOČANJE PUFRSKIH KAPACITET MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE <i>pH</i> PROFILOV IN KONČNI <i>pH</i> PROFILI.....	21
4 REZULTATI	24
4.1 URAVNAVANJE PRETOKA NA PRETOČNEM SISTEMU	24
4.2 PRIMERJAVA SISTEMOV IN VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA <i>pH</i> PROFILE	24
4.3 SIMULACIJA <i>pH</i> PROFILOV Z REDČENIMI MCILVAINOVIMI PUFRI.....	27
4.4 PUFRSKE KAPACITETE REDČENIH MCILVANOVIH PUFROV	29

4.5 pH PROFILI IN PUFRSKE KAPACITETE MEDIJEV, DOLOČENE V VMESNIH ČASIH POSKUSOV KONČNE SIMULACIJE pH PROFILOV	33
4.6 KONČNI pH PROFILI.....	39
5 RAZPRAVA.....	42
5.1 OPTIMIZACIJA TEHNIČNIH PARAMETROV	43
5.1.1 URAVNAVANJE PRETOKA NA PRETOČNEM SISTEMU.....	43
5.1.2 PRIMERJAVA SISTEMOV IN VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA pH PROFILE.....	44
5.1.3 UPORABA DODATNE CEVKE V DOVODNI CEVKI.....	46
5.2 SIMULACIJA pH PROFILOV Z MCILVAINOVIMI PUFRI	49
5.2.1 SIMULACIJA PREHODA IZ ŽELODCA V DUODENUM.....	49
5.2.2 SIMULACIJA NARAŠČANJA pH V JEJUNUMU DO ILEUMA	50
5.3 PUFRSKE KAPACITETE REDČENIH MCILVAINOVIH PUFROV (rMP)	50
5.4 PUFRSKE KAPACITETE MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV.....	52
5.4.1 PRIMERJAVA PUFRSKIH KAPACITET MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV S PUFRSKIMI KAPACITETAMI SVEŽE PRIPRAVLJENEGA PUFRA.....	52
5.4.2 PRIMERJAVA PUFRSKIH KAPACITET MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV Z VREDNOSTMI <i>IN VIVO</i>	54
5.5 KONČNI pH PROFILI.....	57
6 SKLEP	59
7 VIRI IN LITERATURA.....	61

POVZETEK

Do sedaj je bilo narejenih le nekaj raziskav o človeških vrednostih puferskih kapacitet tekočin prebavnega trakta *in vivo*. V okviru magistrske naloge smo poiskali ustrezno literaturo o raziskavah, v katerih so preiskovancem v teščem stanju odvzeli tekočine iz lumna prebavnega trakta in jim določili pufersko kapaciteto. Naš cilj je bil na podlagi pridobljenih literaturnih podatkov o vrednostih puferskih kapacitet *in vivo* izdelati celoten pH profil, ki bi ponazarjal pH vrednosti tekočin vzdolž prebavnega trakta, in sicer s takimi koncentracijami pufrov, da bi se med poskusi simulacije pH profilov puferske kapacitete medijev čim bolj približale vrednostim *in vivo*. Simulirali smo dva pH profila, nižji ($1 \rightarrow 5,5 \rightarrow 6,8 \rightarrow 7-7,5$) in višji ($3 \rightarrow 6,5 \rightarrow 6,8 \rightarrow 7,5-8$), ki ponazarjata fiziološke vrednosti pH za želodec $\rightarrow$ duodenum $\rightarrow$ jejunum $\rightarrow$ ileum na spodnjih in zgornjih fizioloških mejah. Poskuse simulacije pH profilov smo izvajali na pretočnem sistemu, pri pretoku 2 mL/min, pri temperaturi 37°C, z vrtljaji 80 RPM in s konstantnim volumnom medija (40 mL) v delovni čaši. Za poskuse simulacije nižjih in višjih pH profilov smo poleg raztopine HCl, ki je služila za simulacijo želodčnega medija, ter raztopine trinatrijevega fosfata dodekahidrata (TNAF), s katero smo simulirali dvig pH, ki ponazarja prehod v duodenum, za nadaljnjo simulacijo pH profilov izbrali takšne koncentracije redčenih McIlvainovih pufrov (rMP), da so bile njihove puferske kapacitete primerljive z vrednostmi v prebavnem traktu (GIT) *in vivo*. Ugotovili smo, da so se puferske kapacitete medijev med poskusi od kapacitet sveže pripravljenih pufrov najbolj razlikovale v začetnih časih poskusov, po menjavi raztopine TNAF z rMP s pH 6,8. Na osnovi višjega pH profila smo nato prilagajali koncentracije rMP tako, da so bile puferske kapacitete medijev med simulacijo višjih pH profilov čim bolj podobne vrednostim v posameznih področjih GIT *in vivo*. Z izbranimi pufri smo izvedli oba končna pH profila. Pri nižjem pH profilu smo uporabili 0,1 M raztopino HCl in 0,61 M raztopino TNAF, pri višjem pa 1,25 mM raztopino HCl ter 5 mM raztopino TNAF. Pri obeh profilih smo raztopino TNAF dovajali 100 sekund, do desete minute smo nadaljevali z dovajanjem 2-krat rMP s pH 6,8, nato pa tega zamenjali s 100-krat rMP s pH 6,8 do 180. minute, da smo dosegli plato pri pH 6,8. Pri nižjem pH profilu smo prehod v ileum ponazorili z dovajanjem 9,1-krat rMP (pH 7,3), pri višjem pa z 10-krat rMP (pH 7,7). Z ustreznimi menjavami medijev med poskusi simulacije, smo postavili dva končna pH profila, pri čemer smo pri višjem med poskusi simulacije preverili puferske kapacitete medijev, tako da so bile te v območju puferskih kapacitet *in vivo*.

Ključne besede: vrednosti puferskih kapacitet tekočin prebavnega trakta *in vivo*, McIlvainov pufer, pretočni sistem, simulacija pH profilov

ABSTRACT

To our knowledge there have not been many studies that have focused on human *in vivo* values of buffer capacities of the digestive tract fluids so far. Therefore, to explore this area more, we searched the literature to identify studies, in which the buffer capacities of the digestive tract fluids were only determined from fasted subjects. The work described in this thesis aimed to create the entire pH profile, representing the pH values along digestive tract. More specifically, we aimed to obtain concentrations of buffers, which result in pH and buffer capacities as close as possible to the reported literature *in vivo* values. We simulated the lower (1→5.5→6.8→7-7.5) and higher (3→6.5→6.8→7.5-8) pH profiles, simulating the physiological pH values of the stomach→duodenum→jejunum→ileum on both the lower and upper physiological ranges. The tests simulating the pH profiles were performed on a flow-through system with a flow rate of 2 mL/min, at a temperature of 37 °C, at the stirring rate of 80 RPM and with a constant volume of 40 mL medium in a working beaker. For the tests simulating the lower and the higher pH profiles, the HCl solution was used to simulate the gastric media and a solution of trisodium phosphate dodecahydrate (TNAF) to simulate the increase of pH in the duodenum. Further in the same tests, a diluted McIlvaine buffers (dMB) that resulted in their buffer capacities the closest to the *in vivo* values of the digestive tract were used. We found that the buffer capacities of the media during tests varied the most from the capacities of freshly prepared buffers at the early stage of a test, after replacing a solution of TNAF with dMB (pH 6.8). We then adjusted the concentrations of dMB based on the higher pH profile so that the buffer capacities of the media during the simulation of higher pH profiles were as close as possible to the *in vivo* values of the specific areas of the gastrointestinal tract. We performed both pH profiles simulating the final pH profiles with selected buffers. At a lower pH profile, a 0.1 M HCl solution and 0.61 M solution of TNAF were used; and at the higher pH profile, a 1.25 mM solution of HCl and 5 mM solution of TNAF were used. In both pH profiles, the TNAF solution was introduced for 100 seconds, and then replaced with a 2-fold dMB (pH 6,8) up to 10 minutes, when it was replaced with a 100-fold dMB (pH=6.8) up to 180th minute, to reach a plateau at pH 6.8. For the lower pH profile, we simulated the transition to the ileum by introducing 9.1-fold dMB (pH 7.3), and at higher pH profile with 10-fold dMB (pH 7.7). To conclude, we managed to set up two final pH profiles with appropriate replacements of media during simulation of pH profiles. At the higher pH profile, we were able to verify the buffer

capacities of the media during the test, so that they were in the range of reported *in vivo* buffer capacities.

Key words: *in vivo* values, buffer capacity, intestinal fluids, digestive tract, McIlvaine buffer, flow-through system, simulation of pH profiles

SEZNAM OKRAJŠAV

HIF – *ang. Human Intestinal Fluids* – človeške črevesne tekočine

GIT – *ang. GastroIntestinal Tract* - gastrointestinalni trakt

TNAF – TriNAtrijev Fosfat dodekahidrat – $\text{Na}_3\text{PO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$

rMP – redčen McIlvainov Pufer

RPM – *ang. Revolutions Per Minute* – število obratov na minuto

1 UVOD

1.1 PUFRSKA KAPACITETA

Pufri so raztopine, ki se upirajo spremembi pH po dodatku majhnih količin močnih kislin, močnih baz ali drugih spojin. Sestavljeni so iz kombinacije šibkih kislin (protonski donorji) in njihovih konjugiranih baz (protonski akceptorji) ali iz šibkih baz in njihovih konjugiranih kislin. Obseg odpornosti pufra na spremembe pH se imenuje **pufrska kapaciteta** (β). Znana je tudi pod drugimi angleškimi izrazi, kot so *buffer efficiency*, *buffer index* in *buffer value*. Pojem pufrske kapacitete (β) so uvedli Koppel, Spiro in Van Slyke. Opredelili so jo kot razmerje med dodatkom močne baze (ali močne kisline) (ΔB) in spremembo v pH (ΔpH), ki jo povzroči ta dodatek:

$$\beta = \frac{\Delta B}{\Delta pH} \quad (\text{Enačba 1})$$

ΔBdodatek močne baze (ali močne kisline) (mol/L)

ΔpHsprememba pH

V skladu z *Enačbo 1* ima pufrska kapaciteta raztopine vrednost 1 takrat, ko dodatek enega mola močne baze (ali močne kisline) na liter pufrske raztopine povzroči spremembo pH za eno enoto.

Vrednost pH pufrske raztopine in spremembo pH po dodatku kisline ali baze lahko izračunamo z uporabo Henderson-Hasselbalchove enačbe:

- za šibke kisline in njihove soli: $pH = pK_a + \log \frac{[sol]}{[kislina]}$ (Enačba 2)

- za šibke baze in njihove soli: $pH = pK_w - pK_b + \log \frac{[baza]}{[sol]}$ (Enačba 3)

pK_a , pK_b in pK_wnegativni logaritmi disociacijske konstante kisline (K_a), disociacijske konstante baze (K_b) in ionskega produkta vode (K_w)

$[sol]$, $[kislina]$ in $[baza]$ molarne koncentracije soli, kisline in baze

Enačbi 2 in 3 sta pomembni za pripravo pufov in sta primerni za izračune v območju pH od 4 do 10. Če pufru dodamo bazo ali kislino pride do spremembe v koncentracijah, zato sta enačbi modificirani.

Spremembe v koncentracijah soli in kisline v pufrskem sistemu šibke kisline in njenih soli po dodatku baze, prikazuje naslednja enačba:

$$\bullet \quad \text{pH} = \text{pK}_a + \log \frac{[\text{sol}] + [\text{baza}]}{[\text{kislina}] - [\text{baza}]} \quad (\text{Enačba 4})$$

Po dodatku baze (ali kisline) torej pride do spremembe razmerja $\log \frac{[\text{sol}]}{[\text{kislina}]}$ za šibke kisline in njihove soli (ali razmerja $\log \frac{[\text{baza}]}{[\text{sol}]}$ za šibke baze in njihove soli).

Posledično pride zaradi tega do spremembe pH.

Pufrska kapaciteta, izračunana z *Enačbo 1* nam da samo približno vrednost. Koppel, Spiro in Van Slyke so razvili bolj natančno enačbo, ki omogoča izračun pufrske kapacitete pufrov s katero koli koncentracijo vodikovih ionov:

$$\beta = 2,303 C \frac{K_a [\text{H}_3\text{O}^+]}{(K_a + [\text{H}_3\text{O}^+])^2} \quad (\text{Enačba 5})$$

C.....celotna koncentracija pufrske raztopine (vsota vseh molarnih koncentracij kisline (ali baze) in soli, $C = [\text{kislina}] + [\text{sol}]$; $C = [\text{baza}] + [\text{sol}]$)

$[\text{H}_3\text{O}^+]$koncentracija oksonijevih ionov

K_adisociacijska konstanta kisline

Pufrska kapaciteta je torej neposredno odvisna od celotne koncentracije pufrske raztopine (C) ter od disociacijske konstante kisline K_a . Pufri z večjimi koncentracijami imajo večje pufrske kapacitete in so bolj učinkoviti.

Maksimalna pufrska kapaciteta

Pufer ima največjo kapaciteto, ko je razmerje $\frac{[\text{sol}]}{[\text{kislina}]} = 1$ (ali $\frac{[\text{baza}]}{[\text{sol}]} = 1$). To je takrat, ko je $\text{pH} = \text{pK}_a$ oziroma kadar je $[\text{H}_3\text{O}^+] = K_a$. Enačba, ki izraža maksimalno pufersko ($\beta_{\max}$) kapaciteto je:

$$\beta_{\max} = 2,303 C \frac{[\text{H}_3\text{O}^+]^2}{(2[\text{H}_3\text{O}^+])^2} = \frac{2,303}{4} C \quad (\text{Enačba 6})$$

$$\beta_{\max} = 0,576 C \quad (\text{Enačba 7})$$

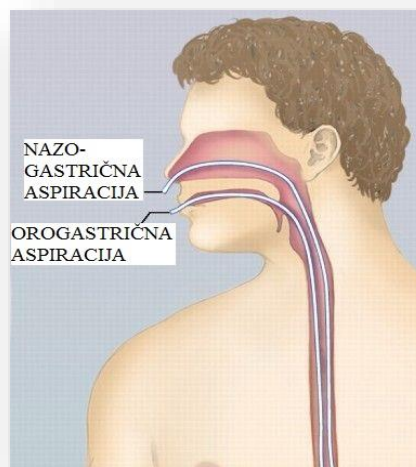
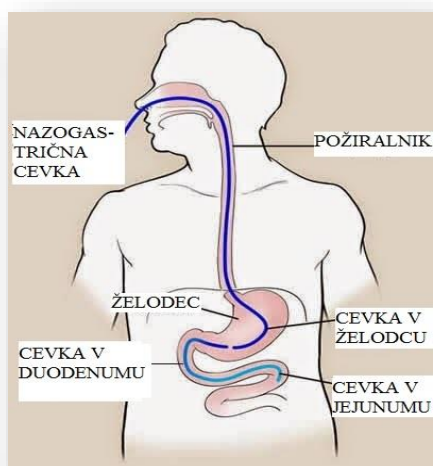
kjer C predstavlja celotno pufersko koncentracijo [1, 2].

1.2 LITERATURNI PODATKI O VREDNOSTIH PUFRSKIH KAPACITET PREBAVNEGA TRAKTA

1.2.1 PREISKOVANCI, POGOJI IN METODE MERJENJA

Raziskovalci so zbirali človeške črevesne tekočine (HIF) preiskovancev, ki so se noč pred izvedbo poskusov postili [3, 4, 5, 6]. Zdravstveno stanje vsakega posameznika v študiji so ugotovili s kliničnim pregledom in presejalnimi testi krvnih parametrov za ledvične in jetrne funkcije [3]. Alkohol in vsa zdravila OTC so bili prepovedani 3 dni pred in med samo študijo, hrano so ukinili vsaj 12 ur pred začetkom vsakega eksperimentalnega dneva, pitje vode pa je bilo prepovedano zjutraj na dan eksperimenta. Tudi v ostalih študijah, kjer so zbirali črevesne tekočine iz duodenuma in jejunuma, so sodelovali zdravi preiskovanci [4, 5, 6]. V raziskavi, ki so jo izvedli Fadda in sodelavci, pa so aspirirali tekočine iz ileuma od bolnika s polipozo (prisotnost številnih polipov v črevesju) med kirurško odstranitvijo debelega črevesa [6]. Preiskovanci so bili v vseh primerih obveščeni o postopku vzorčenja, o namenu raziskave ter o množnih tveganjih in so prostovoljno sodelovali v raziskavi [3, 4, 5, 6]. Ostali podatki o preiskovancih (število, spol, starost in telesna masa) so navedeni v Preglednici I.

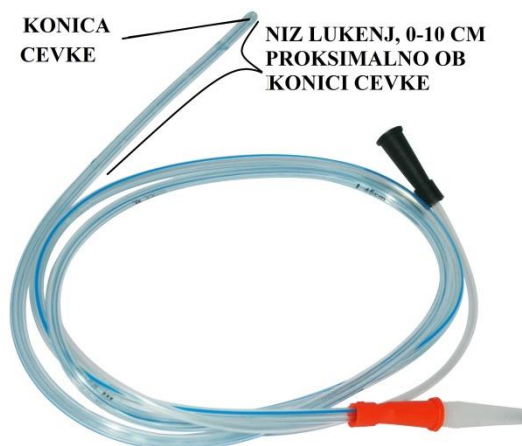
Vzorke HIF so jemali s pomočjo različnih tehnik aspiracij iz različnih delov GIT, in sicer skozi usta ali nos (Sliki 1 in 2). Vstavitev in pozicijo cevke so določili fluoroskopsko, s pomočjo usmerjevalne žice [3, 4, 5, 6].



Slika 1 (levo): Prikaz možnih načinov vzorčenja iz različnih lokacij GIT. Prirejeno po [7].

Slika 2 (desno): Nazogastričen in orogastričen način aspiracije. Prirejeno po [8].

Kalantzi in sodelavci so preučevali vrednosti pufrskih kapacitet in vrednosti pH v zgornjem delu prebavnega trakta [3]. Pri vsakem posamezniku so študijo izvedli v dveh ločenih eksperimentalnih dnevih. Na eksperimentalni dan A so aspirirali želodčne tekočine, na eksperimentalni dan B pa tekočine iz duodenuma. Pred samim postopkom so preiskovancem poškropili zgornji del grla z lidokainom. Posameznega preiskovanca so na dan A nazalno intubirali s cevko, ki je bila dolga približno 120 cm, z zunanjim premerom 4,9 mm in je bila namenjena tako za dovod vode, kot tudi za aspiracijo vzorcev iz antruma želodca. Po začetni aplikaciji 250 mL vode, so vzorce znotraj 60 minut odvezemali vsakih 20 minut (znotraj 60 minut) in jih takoj postavili na led. Na dan B pa so preiskovance nazalno intubirali z dvokanalno cevko, dolgo približno 150 cm, z zunanjim premerom 4,7 mm, in s kovinsko konico. Za aplikacijo vode v antrum želodca so uporabili niz lukenj v cevki, ki so bile od njene konice oddaljene v razdalji 27-36 cm. Za aspiracijo vzorcev iz duodenuma pa so uporabili niz lukenj v razdalji 0-10 cm, proksimalno ob njeni konici (Slika 3). Z injekcijsko iglo so skozi prvi kanal cevke aplicirali 250 mL vode v želodec, nato pa po 30 minutah skozi



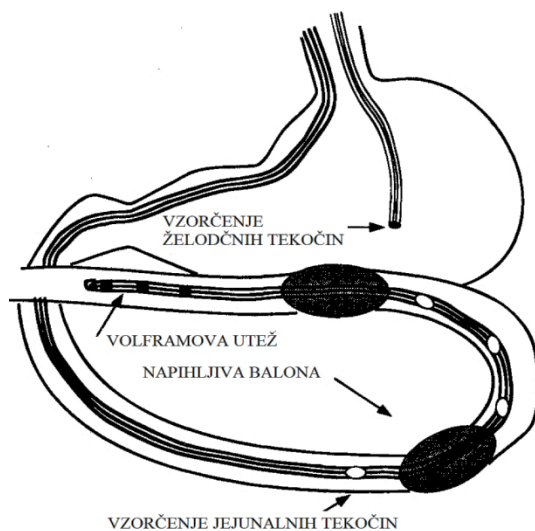
Slika 3: Primer dvokanalne aspiracijske cevke. Prirejeno po [9].

drugi kanal cevke iz duodenuma odsesali 20 mL vzorec in ga dali na led. Meritve pH in pufrske kapacitete so izvajali v prvih odvzetih vzorcih takoj po aspiraciji. Pufrske kapacitete so merili le v eni smeri spremembe pH, in sicer z dodajanjem NaOH (vzorci odvzeti iz želodca) in z dodajanjem HCl (vzorci odvzeti iz duodenuma).

Perez in sodelavci so merili pH in pufrsko kapaciteto HIF iz duodenuma in jejunuma [4]. Dvokanalno cevko so namestili skozi usta tako, da je bil prvi sesalni del cevke nameščen v duodenumu, drugi pa v jejunumu. Na koncu vsakega kanala so bile stranske luknjice, skozi katere so aspirirali HIF. Postopek vzorčenja je trajal 2 h, pri čemer so aspirate zbirali vsakih 30 min. Aspirate so zbirali od šestih preiskovancev. Od preiskovanca 2 so pridobili vzorce

dvakrat, in sicer v enomesečnem razmiku (vzroca 2 in 2b). Preiskovanca 1 in 2 nista zaužila vode med 120 minutnim postopkom aspiracije HIF, preiskovanci 2b, 3, 4, 5 in 6 pa so 60 minut po začetku aspiracije zaužili 220 mL vode, zato je bil volumen zbranih vzorcev zelo različen in sicer v razponu od 40 do 480 mL. Pufrske kapacitete vzorcev prostovoljcev 1, 5 in 6 niso izmerili zaradi premajhnih volumnov aspiratov. Vrednost pH vzorcev so določili takoj po odvzemu. Pufrsko kapaciteto zbranih vzorcev HIF so določili s titracijo z 1M HCl ali z 1M NaOH, z uporabo avtotitratorja.

Persson in sodelavci so zbirali tekočine HIF z **metodo Loc-I-Gut** (Slika 4) [5]. Uporabili so



Slika 4: Shema perfuzijskega sistema Loc-I-Gut za aspiriranje želodčnih in jejunalnih tekočin. Prirejeno po [10].

perfuzijsko cevko, dolgo 175 cm, z zunanjim premerom 5,3 mm. Sestavljena je bila iz večkanalne polivinilne cevi z dvema napihljivima balonoma, ki sta bila 10 cm narazen, ter iz volframove konice. Perfuzijsko cevko so vstavili v proksimalni del jejunuma s peroralno intubacijo. Ko so dosegli željeno lokacijo, so napolnili le nižji balon z 25 do 30 mL zraka. S tem so preprečili prehajanje tekočin navzdol v prebavila in zagotovili popolno vzorčenje jejunalne črevesne vsebine. Jejunalne tekočine so zbirali z neprekinjeno vakuumsko drenažo. Ločeno cev so vstavili v želodec, da bi med poskusom odsesavali želodčne vsebine in s tem preprečili slabost s siljenjem na bruhanje pri preiskovancih.

Fadda in sodelavci so prav tako zbirali tekočine iz jejunuma preko peroralne intubacijske cevke (metoda **Loc-I-Gut**) [6]. Aspirirano jejunalno tekočino so shranili pri $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Preučevali so po 4 različne serije jejunalnih tekočin, ki so bile odvzete na enak način, vsako od teh serij pa so zbrali od 15 različnih prostovoljcev. Tekočine iz ileuma so aspirirali od

bolnika med operacijskim posegom na debelem črevesu. Zbrane vzorce so shranili v tesno zaprte vsebnike. Kjer je bilo možno, so meritve izvedli takoj po vzorčenju.

1.2.2 REZULTATI ŠTUDIJ

V Preglednici I so podani rezultati izračunanih pufrskih kapacitet in vrednosti pH, pri katerih so bile le-te določene, ter ostali podatki o študijah. Preglednica II pa prikazuje vrednosti pH GIT, ki so bile omenjene v študijah, navedenih v Preglednici I.

Ekstremno visoke vrednosti pH v želodcu v študiji Kalantzi-ja in sodelavcev so bile pri nekaterih posameznikih posledica navzoče hipoklorhidrije, v večini primerov pa so odražale redčenje vsebine želodca s slino ali nosnimi izločki [3].

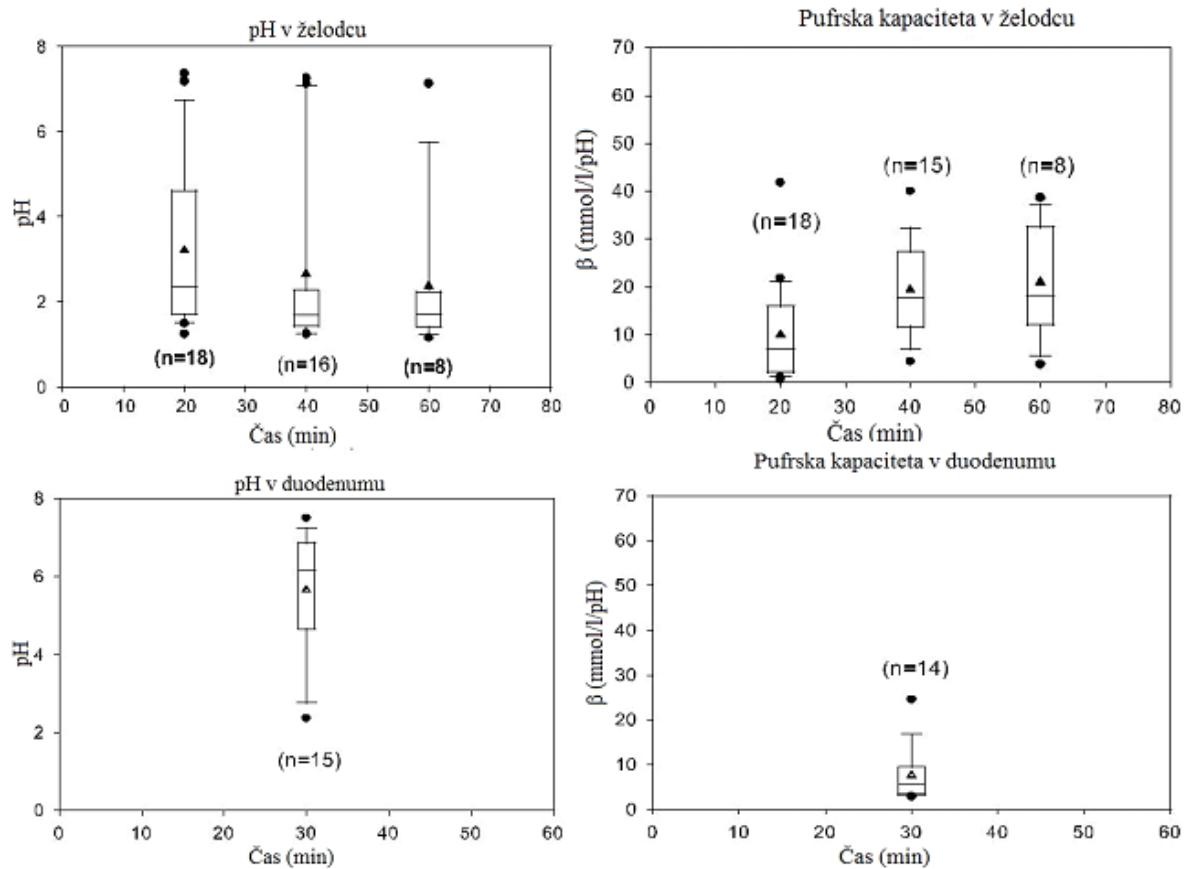
Preglednica I: Literaturni podatki o preiskovancih, metodah aspiracije, pufrskih kapacitetah in vrednostih pH. (*V posamezni seriji je sodelovalo 15 prostovoljcev.)

REFERENCA		Kalantzi [3]	Perez [4]	Persson [5]	Fadda [6]	
PREIS-KO-VANCI	Število	20	6 (preiskovanec 2 dvakrat)	18	15	1
	Spol	M	2	6	/	
		Ž	4	12	/	
	Starost	Povprečna: 25		22 - 35	24 - 40	/
	Telesna masa	1 preiskovanec: odstopanje od ITM za 24% Ostali: odstopanje od ITM za manj kot 10%		/	66 - 86 kg (moški) 50 - 70 kg (ženske)	/
METODA		Aspiracija skozi nos (nazogastrična cevka)		Aspiracija skozi usta (orogastrična cevka)	Loc-I-Gut	Loc-I-Gut
APLIKACIJA VODE, UČINKOVIN		250 mL vode		Preiskovanci 2b, 3, 4, 5 in 6 so zaužili 220 mL vode	/	/
LOKACIJA V GIT		Želodec	Duodenum	Duodenum	Jejunum	Ileum
PUFRSKA KAPACITETA [mM/L/ΔpH]		<u>Mediana:</u> 7 (20 min po aplikaciji H ₂ O); 18 (40 in 60 minut po aplikaciji vode)	<u>Mediana:</u> 5,6	<u>Območje:</u> 4-13	<u>Povprečna vrednost:</u> 2,4 (dodatek kisline); 2,8 (dodatek baze)	<u>Povprečna vrednost 4 serij*:</u> 3,23±1,26 <u>Vrednosti posameznih serij*:</u> 1,7; 4,5; 2,7; 4
pH		<u>Mediana:</u> 2,4 (20 min po aplikaciji H ₂ O); 1,7 (40 in 60 minut po aplikaciji vode) <u>Območje:</u> 1,23-7,36	<u>Mediana:</u> 6,2	<u>Povprečna vrednost:</u> 7,0 ± 0,4 <u>Individualne vrednosti:</u> 7,1; 7,4; (6,8); 7,5; 7,2; 7; 6,3 <u>Območje:</u> 5,3-8,1	<u>Povprečna vrednost 4 serij*:</u> 7,08±0,54 <u>Vrednosti posameznih serij*:</u> 6,3; 7,1; 7,4; 7,5	<u>Individualna vrednost:</u> 7,75

Preglednica II: Literaturne pH vrednosti za želodec, duodenum, jejunum in ileum.

Del GIT	Želodec	Duodenum	Jejunum	Ileum
Referenca	pH			
[11]	Mediana: 1,7 Območje: 1,4-2,1	Območje: 5,8-6,5	Mediana: 7,2 Območje: 5,8-8,1	/
[7]	Povprečna vrednost: 2,9±1,97 Mediana: 1,8 Območje: 1,4-7,5	/	Povprečna vrednost: 7,1±0,6 Mediana: 7,2 Območje: 5,3-8,1	/
[12]	Mediana: 2,4	Mediana: 6,6	/	/
[13]	/	Povprečna vrednost: 7,0±0,4	Povprečna vrednost: 6,8±0,4	
[14]	Območje: 2-5	Povprečna vrednost: 4,9 Območje: 4,00-5,39	/	/
[15]	/	Povprečna vrednost: 6,4±0,6 Območje: 5,17-6,10	/	/
[16]	/	Mediana: 5,63	/	/
[17]	/	/	/	Povprečna vrednost: 6,5±0,2
[18]	/	/	/	Območje: 6,8-8,0
[19]	Mediana: 1,55 Območje: 0,95-2,6	Mediana: 6,72 Območje: 6,15-7,35		Mediana: 7,5 Območje: 6,8-7,88
[20]		Mediana: 6,4		Mediana: 7,3
[21]	/	Povprečna vrednost: 6,6±0,5	Povprečna vrednost: 7,4±0,4	Povprečna vrednost: 7,5±0,5
[22]	/	/	Povprečna vrednost: 6,63±0,53	Povprečna vrednost: 7,49±0,46

Kvantilni diagrami na Sliki 5 prikazujejo vrednosti pH in pufrskih kapacitet vzorcev odvzetih iz želodca in duodenuma v različnih časih vzorčenja po predhodni aplikaciji vode [3].



Slika 5: Kvantilni diagrami, ki prikazujejo vrednosti pH in pufrskih kapacitet aspiriranih vzorcev iz želodca in duodenuma. Prirejeno po [3].

2 NAMEN DELA

V okviru magistrske naloge bomo poskušali posnemati pH profile prebavnega trakta ob hkratnem upoštevanju vrednosti puferskih kapacitet *in vivo*, ki smo jih zbrali iz literature. Simulirali bomo nižji (1→5,5→6,8→7-7,5) in višji (3→6,5→6,8→7,5-8) pH profil, ki bosta ponazarjala fiziološke vrednosti pH za želodec→duodenum→jejunum→ileum, in sicer na spodnjih in zgornjih mejah fizioloških vrednosti.

Poskuse simulacije pH profilov bomo izvajali na pretočnem sistemu za sproščanje, pri temperaturi 37 °C, pretoku 2 mL/min ter s konstantnim volumnom medija 40 mL v delovni čaši. Naredili bomo oba pH profila, nižjega in višjega. Razmere v želodcu bomo simulirali z različnimi koncentracijami HCl, skok pH v duodenum pa z različnimi koncentracijami raztopine TNAF. Nadaljevali bomo z dovajanjem redčenih McIlvainovih pufrov (rMP) z različnimi koncentracijami in vrednostmi pH. Izbrali bomo rMP takšnih koncentracij, da bodo njihove pufrske kapacitete čim bolj podobne vrednostim puferskih kapacitet *in vivo*. Z izbranimi pufri bomo nato simulirali pH profile. Posamezne poskuse bomo ustavili v določenih časih ter medijem določili pufrske kapacitete, ki bodo predstavljale vrednosti v duodenumu, jejunumu in ileumu. Koncentracije pufrov bomo spreminjali, vse dokler se ne bomo približali pogojem *in vivo* in nato z izbranimi pufri izvedli končna pH profila (nižji in višji).

Primerjali bomo literaturne podatke o puferskih kapacitetah določenih *in vivo* in ustreznih vrednostih pH, pri katerih so bile določene pufrske kapacitete, s puferskimi kapacitetami medijev, določenih med poskusi simulacije pH profilov, pri čemer bomo pufrske kapacitete medijev ustrezno prilagajali s spreminjanjem koncentracij pufrov.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI IN APARATURE

Snovi in raztopine, ki smo jih uporabili:

- klorovodikova kislina, Titrisol® za pripravo 1 M HCl, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- natrijev hidroksid, Titrisol® za pripravo 1M NaOH, Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- kalijev dihidrogenfosfat, p.a. Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- citronska kislina monohidrat, p.a., Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- dinatrijev hidrogenfosfat, p.a., Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- trinatrijev fosfat dodekahidrat (TNAF), p.a., Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- pufrska raztopina s pH=2,00 (20 °C), Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- pufrska raztopina s pH=7,00 (20 °C), Merck KgaA, Darmstadt, Nemčija
- demineralizirana voda

Aparature, ki smo jih uporabili:

- pretočni sistem, razvit na FFA:
 - magnetni mešali z grelcem, IKA® Werke GmbH&Co. KG, Staufen, Nemčija (interni oznaki A1-3 in G1);
 - peristaltični črpalki ISMATEC® BVP, ISMATEC® SA, Labortechnik-Analytik, Glattbrugg, Švica (interni oznaki B1 in B2);
 - silikonske pretočne cevke (notranji premer 3,3 mm, zunanji premer 6,7 mm), Carl Roth, GmbH, Karlsruhe, Nemčija;
 - delovni čaši 150 mL, Schott Duran, Nemčija;
 - magnet (dolžina 25 mm, premer 8 mm)
 - pH-meter Mettler Toledo MP 220, Mettler Toledo GmbH, Schwerzenbach, Švica;
 - elektroda Mettler Toledo Inlab® Expert Pro, Mettler Toledo GmbH, Schwerzenbach, Švica.
- digitalna štoparica Hanhart 06A03, Hanhart 1882 GmbH, Gütenbach, Nemčija;
- digitalna tehtnica Exacta 300 EB, Tehtnica, Železniki, Slovenija;
- analizna tehtnica AG245, Mettler Toledo, Schwarzenbach, Švica;

- ultrazvočna kopel Sonis 4, Iskra, Kranj, Slovenija;
- avtomatske pipete (2-20 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL , 500-2500 μL , 500-5000 μL , 5-10 mL) Eppendorf, Hamburg, Nemčija;
- polnilne pipete, Blaubrand, Nemčija;
- pH-meter MA 5750, Iskra, Slovenija;
- čaše (25 mL, 100 mL, 250 mL, 500 mL);
- polnilne bučke (25 mL, 50 mL, 100 mL, 200 mL, 500 mL, 1000 mL, 2000 mL);
- merilni valji (100 mL);
- pinceta;
- žličke, spatule, čolnički.

3.2 PRIPRAVA RAZTOPIN

Pri pripravi raztopin HCl smo imeli pH-meter umerjen na pH vrednost 2, pri pripravi vseh ostalih raztopin (TNAF, fosfatni pufri, McIlvainovi pufri), pa na pH vrednost 7.

3.2.1 KISLINE IN BAZE

- **0,1 M HCl (izmerjen pH=1,13):** s polnilno pipeto smo v 100 mL bučko, v katero smo predhodno nalili nekaj demineralizirane vode, prenesli 10 mL 1 M HCl in vsebino dopolnili z demineralizirano vodo do oznake.
- **0,01 M HCl (izmerjen pH=2,07):** s polnilno pipeto smo v 100 mL bučko, v katero smo predhodno nalili nekaj demineralizirane vode, prenesli 1 mL 1 M HCl in vsebino dopolnili z demineralizirano vodo do oznake.
- **1,25 mM HCl (izmerjen pH=3,00):** z avtomatskima pipetama (100-200 μL in 2-20 μL) smo v 100 mL bučko prenesli 125 μL 1 M HCl in vsebino dopolnili z demineralizirano vodo do oznake.
- **0,61 M TNAF (izmerjen pH=12,6):** zatehtali smo 11,59 g TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.
- **55 mM TNAF (izmerjen pH=11,9):** zatehtali smo 1,05 g TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.

- **7,5 mM TNAF (izmerjen pH=11,5):** zatehtali smo 142,60 mg TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.
- **6,8 mM TNAF (izmerjen pH=11,5):** zatehtali smo 129,25 mg TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.
- **6,3 mM TNAF (izmerjen pH=11,5):** zatehtali smo 119,75 mg TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.
- **6,0 mM TNAF (izmerjen pH=11,5):** zatehtali smo 114,00 mg TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.
- **5,0 mM TNAF (izmerjen pH=11,5):** zatehtali smo 95,00 mg TNAF in ga kvantitativno prenesli v 50 mL bučko, ki smo jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake ter ga raztopili na ultrazvočni kopeli.

3.2.2 PUFRI

- **50 mM fosfatni pufer (pH=6,8):** 6,8 g KH_2PO_4 smo kvantitativno prenesli v 1000 mL bučo. Preden smo bučko dopolnili do oznake, smo vanjo prenesli demineralizirano vodo do dveh tretjin ter dodali toliko 1 M NaOH, da je bil pH=6,8.
- **McIlvainovi pufri [25]:** sestavljeni so iz različnih volumskih razmerij 0,2 M Na_2HPO_4 (raztopina A) in 0,1 M citronske kisline (raztopina B). Uporabljali smo različno redčene pufre, z različnimi vrednostmi pH. Za doseg željenega pH smo si pomagali s podatki Preglednice IV.

Raztopina A (0,2 M Na_2HPO_4): 2,839 g Na_2HPO_4 smo kvantitativno prenesli v 100 mL bučko, ga z dodatkom demineralizirane vode raztopili na ultrazvočni kopeli in jo z istim topilom dopolnili do oznake.

Raztopina B (0,1 M citronska kislina): 2,101 g citronske kisline monohidrat smo kvantitativno prenesli v 100 mL bučko in jo z demineralizirano vodo dopolnili do oznake.

Preglednica III: Za pripravo 20 mL McIlvainovih pufrov z ustreznimi pH vrednostmi smo pomešali raztopino A (0,2 M Na_2HPO_4) (V_A) in raztopino B (0,1 M citronsko kislino) (V_B) v takšnem volumskem razmerju, kot je prikazano v tabeli. V zadnji vrstici je prikazano razmerje koncentracij med Na_2HPO_4 in citronsko kislino v 1 L neredčenega pufrja z ustreznim pH (mM). Prirejeno po [25].

Zahtevan pH	6,8	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8
V_A [mL]	15,45	16,47	17,39	18,17	18,73	19,15
V_B [mL]	4,55	3,53	2,61	1,83	1,27	0,85
Volumsko razmerje med A in B	77,25% A 22,75% B	82,35% A 17,65% B	86,95% A 13,05% B	90,85% A 9,15% B	93,65% A 6,35% B	95,75% A 4,25% B
$C_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$ (mM) / $C_{\text{citr.ksl}}$ (mM)	154,50 / 22,75	164,70 / 17,65	173,90 / 13,05	181,70 / 9,15	187,30 / 6,35	191,50 / 4,25

• Optimizacija koncentracije in vrednosti pH McIlvainovih pufrov

Pufre z različnimi koncentracijami in vrednostmi pH smo pripravili z ustreznimi redčitvami osnovnih McIlvainovih pufrskih raztopin, kot je prikazano v Preglednici IV. Vrednosti pH raztopin smo uravnali z dodatkom kapljic raztopine A (0,2 M Na_2HPO_4) (V_A) ali raztopine B (0,1 M citronske kisline) (V_B), ki smo jih ustrezno preračunali v mL.

Preglednica IV: Prikaz optimizacije koncentracij in vrednosti pH McIlvainovih pufrov. Prikazani so: razmerje koncentracij med Na_2HPO_4 in citronsko kislino v 1 L pufrja, volumni dodanih raztopin V_A in V_B , redčitve pufrja (celotni volumen pufrja (V_C) deljen z vsoto volumnov raztopin A in B) ter vrednosti pH pufrja. Oznaka * pomeni približno oceno volumna po dodatku kapljic.

$C_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$ (mM) / $C_{\text{citr.ksl}}$ (mM)	$V_A + V_B$ [mL]	Redčitev [$V_C / (V_A + V_B)$]	pH
1,5 / 0,3	7,7 + 3,3*	90,9x [1000/11]	6,8
2,1 / 0,4	10,3 + 4,0*	69,9x [1000/14,3]	6,8
3,1 / 0,5	15,5 + 5,2*	48,3x [1000/20,7]	6,8
3,3 / 0,5	16,4* + 4,6	47,6x [1000/21]	6,8
3,9 / 0,8	19,3 + 7,8*	36,9x [1000/27,1]	6,8
6,2 / 1,2	3,1 + 1,2*	23,3x [100/4,3]	6,8
15,8 / 2,3	7,9* + 2,3	9,8x [100/10,2]	6,8
31,0 / 5,6	15,5 + 5,6*	4,7x [100/21,1]	6,8
38,6 / 7,3	19,3 + 7,3*	3,8x [100/26,6]	6,8
11,5 / 0,8	28,8 + 4,0*	15,2x [500/32,8]	7,5
46,00 / 2,00	46,00 + 4,00	4x [200/50]	7,6
46,0 / 2,5	46,0 + 5,0*	3,9x [200/51]	7,5
92,0 / 4,8	46,0 + 4,8*	2,0x [100/50,8]	7,5
6,2 / 1,3	3,1 + 1,3*	22,7x [100/4,4]	6,8
15,6 / 3	7,8 + 3,0*	9,3x [100/10,8]	6,8
17,2 / 3,4	17,2 + 6,8*	8,3x [200/24]	6,8
19,4 / 3,8	19,4 + 7,6*	7,4x [200/27]	6,8
25,8 / 4,8	25,8 + 9,5*	5,7x [200/35,3]	6,8
31,0 / 5,5	15,5 + 5,5*	4,8x [100/21]	6,8
15,4 / 1,7	15,4 + 3,3*	10,7x [200/18,7]	7,2
17,5 / 1,7	17,5* + 3,3	9,6x [200/20,8]	7,3
18,4 / 1,8	18,4 + 3,6*	9,1x [200/22]	7,3

- **Končna sestava redčenih McIlavinovih pufrov (rMP)**

V zadnjem sklopu poskusov, s katerimi smo naredili končne pH profile, pri pripravi pufrov ni bilo potrebno uravnavanje s kapljicami, saj smo imeli že znano volumsko razmerje med raztopinama A in B pri ustrezni vrednosti pH pri določenem redčenju pufra. Preglednica V prikazuje končne sestave rMP, ki smo jih uporabili v poskusih, ki so nam zagotavljali uspešno izvedbo poskusov pH profilov z ustreznimi puforskimi kapacitetami.

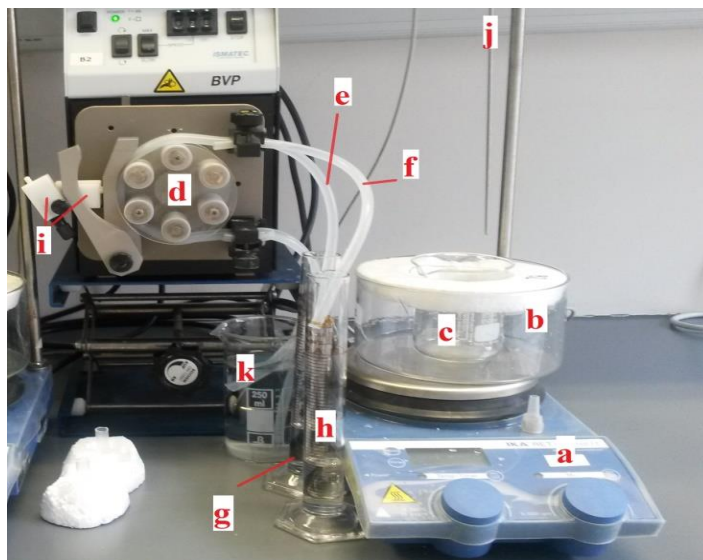
Preglednica V: Prikaz končne sestave rMP. Prikazane so: razmerja koncentracij med Na_2HPO_4 in citronsko kislino v 1 L pufra, volumni dodanih raztopin V_A in V_B , redčitve pufra (celotni volumen pufra (V_C) deljen z vsoto volumnov raztopin A in B) ter vrednosti pH pufra.

$\text{C}_{\text{Na}_2\text{HPO}_4}$ (mM) / $\text{C}_{\text{citr.ksl}}$ (mM)	$V_A + V_B$ [mL]	Redčitev [$V_C / (V_A + V_B)$]	pH
11,50 / 0,50	11,50 + 1,00	16x [200/12,5]	7,7
15,36 / 0,67	15,36 + 1,34	12x [200/16,7]	7,7
18,40 / 0,80	18,40 + 1,60	10x [200/20]	7,7
23,00 / 1,00	23,00 + 2,00	8x [200/25]	7,7
46,00 / 2,00	46,00 + 4,00	4x [200/50]	7,7
70,50 / 14,75	35,25 + 14,75	2x [100/50]	6,6
74,00 / 13,00	92,50 + 32,50	2x [250/125]	6,8
15,46 / 2,27	7,73 + 2,27	10x [100/10]	6,8
2,88 / 0,56	14,41 + 5,59	50x [1000/20]	6,8
1,44 / 0,28	7,20 + 2,80	100x [1000/10]	6,8

3.3 METODE

3.3.1 URAVNAVANJE PRETOKA NA PRETOČNEM SISTEMU

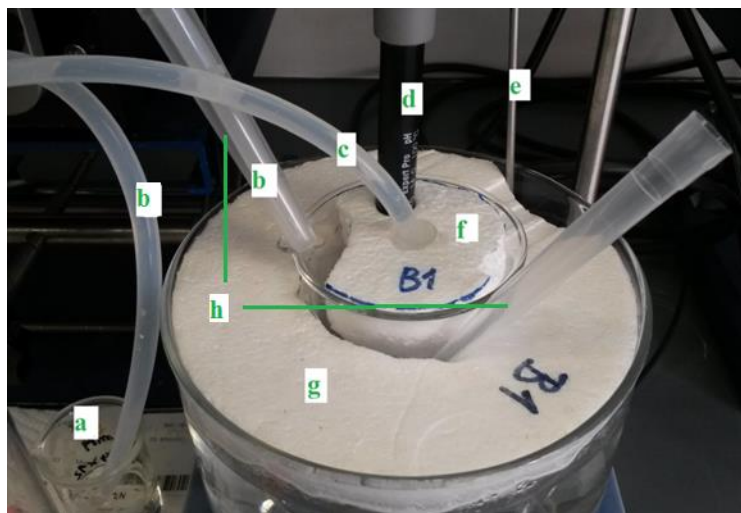
Pretoke smo preverjali na obeh peristaltičnih črpalkah, B1 in B2. Na Sliki 6 je prikazana shema pretočnega sistema. Delovanje in vloga njegovih posameznih delov pa so opisani v poglavju 3.3.2. Pri določanju pretokov skozi cevke smo kot medij uporabili demineralizirano vodo. Svež medij smo črpali iz 250 mL čaše skozi cevki v dva merilna valja, ki smo ju pred poskusi stehali. Ob vklopu peristaltične črpalke smo istočasno vključili štoparico. Po 20-ih minutah poskusa, smo obe črpalki ugasnili in stehali maso obeh merilnih valjev s prečrpanim medijem. Izračunali smo razliko med obema zatehtama. Dobljeno maso smo delili s časom poskusa in tako dobili masni pretok [g/min]. Naš cilj je bil, da bi se čim bolj približali pretoku 2 mL/min in zagotovili podobne pretoke na obeh sistemih. Pretoke smo uravnavali z dvema vpenjalnima vijakoma, ki sta na Sliki 6 označena s črko i. Oba vijaka smo premikali malenkostno, najprej za pol vrtljaja ($1/2$), kasneje, ko smo se že približali želenim vrednostim pa samo za četrtnino ($1/4$) vrtljaja ali pa samo za dve črtici, označeni na vijaku.



Slika 6: Pretočni sistem, ki ponazarja postopek uravnavanja pretokov. Na tem sistemu smo izvajali tudi simulacije pH profilov. Sestava: **a)** magnetno mešalo z električnim grelcem **b)** posoda za vodno kopel **c)** delovna čaša (150 mL) **d)** peristaltična črpalka **e)** dovodna cevka **f)** odvodna cevka **g)** zbirni merilni valj **h)** zbirni merilni valj **i)** vpenjalna vijaka **j)** tipalo termometra **k)** 250 mL čaša

3.3.2 NASTAVITEV PRETOČNEGA SISTEMA

Poskuse smo izvajali na dveh pretočnih sistemih, A1-3/B1 in G1/B2, pri temperaturi 37°C in pretoku 2 mL/min. Sistema sta predstavljena na Slikah 6 in 7. Najprej smo tipalo termometra potopili v vodno kopel, nato pa vključili električni grelec. Medtem smo v 150 mL delovno čašo nalili 40 mL kislega medija. Čašo smo postavili na dno vodne kopeli, jo pokrili s pokrovom iz stiropora z luknjami in jo stabilizirali, kot je prikazano na Sliki 7. Stabilizirali smo tudi dovodno cevko, in sicer tako, da je svež medij kapljal v čašo ob steni in ne neposredno vanjo. S tem smo zagotovili, da so se raztopina TNAF in pufri v delovno čašo dovajali vedno na enak način pri vseh poskusih. Skozi sredinsko luknjo smo namestili odvodno cevko s kovinsko mrežico, skozi katero se je črpal medij v zbirni merilni valj, v stransko luknjo pa pH elektrodo, s katero smo tekom poskusa spremljali pH. Pazili smo, da je bil pH-meter ves čas poskusa, pri vseh izvedenih poskusih, enako oddaljen od mesta kapljanja dovodnega medija. Med poskusom smo pazili, da sta bili tako pH-elektroda kot kovinska mrežica odvodne cevke ves čas poskusa potopljeni v medij. pH-meter smo pred poskusi umerili na pH=7. V čašo smo dali še magnetek in nastavili vrtljaje na magnetnem mešalu. Pred začetkom poskusa smo cevke napolnili s kislino.



Slika 7: Prikaz nastavitve pretočnega sistema. Sestavni deli: **a)** dovodni medij **b)** dovodna cevka **c)** odvodna cevka **d)** pH-elektroda **e)** tipalo termometra **f)** pokrov delovne čaše z luknjami **g)** pokrov vodne kopeli **h)** nastavka za pipete, s katerima smo stabilizirali dovodno cevko in delovno čašo

3.3.2.1 PRIMERJAVA OBEH SISTEMOV IN VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA pH PROFILE

Za primerjavo pH profilov med sistemoma A1-3/B1 in G1/B2 ter primerjavo profilov pri različnih vrtljajih v delovni čaši, smo izvedli poskuse s fosfatnimi pufri. Za simuliranje želodčne vsebine smo uporabljali 0,01 M HCl, s katero smo prav tako napolnili cevke pred izvedbo poskusov. Poskuse smo začeli z različnimi časi dovajanja 55 mM TNAF v 40 mL 0,01 M HCl, s čimer smo želeli simulirati preskok pH, ki ponazarja prehod v duodenumu za nižji in višji pH profil. Izvajali smo jih vse do stabilnega platoja pri pH 6,8, ki smo ga dosegli z dovajanjem 50 mM fosfatnega pufra. Pogoji, ki smo jih uporabili pri poskusih so prikazani v Preglednici VI. Primerljivost med sistemoma smo preverili s paralelkami poskusov na vsakem sistemu posebej. Naredili smo še primerjavo med profili pri različnih vrtljajih v delovni čaši (80 RPM in 140 RPM). Pogoji paralelk vseh teh poskusov so prikazani v Preglednici VII.

Oznake poskusov: **F** - fosfatni pufer, **1** - poskus pri 140 RPM, **2** - poskus pri 80 RPM, **a** - poskus na sistemu A1-3/B1, **b** - poskus na sistemu G1/B2, **xxx** (npr.100) - čas dovajanja TNAF v sekundah (npr. 100 sekund), **/x-x** (npr. 7-11) - število zaporednih poskusov oziroma paralelk (npr. od 7. do 11. poskusa)

Preglednica VI: Seznam poskusov simulacije pH profilov s fosfatnim pufrom in z različnimi časi dovajanja raztopine TNAF. Prikazane so oznake poskusov, oznake uporabljenega sistema, časi dovajanja TNAF, čas dovajanja fosfatnega pufru, zaporedja uporabljenih medijev ter časi trajanja poskusov. Število vrtljajev pri vseh poskusih je bilo 140 RPM.

Oznaka poskusa	Sistem	Uporabljeni mediji			Čas poskusa [min]
		1. 0,01 M HCl	2. 55 mM TNAF	3. 50 mM fosfatni pufer	
F1b90	G1/B2	Napolnjene cevke pred poskusom in na začetku poskusa v delovni čaši (40 mL)	0 min-1 min 30 s	1 min 30 s–30 min	30
F1b95			0 min-1 min 35 s	1 min 35 s–30 min	30
F1b100			0 min- min 40 s	1 min 40 s–30 min	30
F1b105			0 min-1 min 45 s	1 min 45 s-30 min	30
F1b110			0 min-1 min 50 s	1 min 50 s-20 min	20
F1b115			0 min-1 min 55 s	1 min 55 s-20 min	20
F1b120			0 min-2 min	2 min-20 min	20
F1a95	A1-3/B1		0 min-1 min 35 s	1 min 35 s-30 min	30
F1a100			0 min-1 min 40 s	1 min 40 s-30 min	30
F1a105			0 min-1 min 45 s	1 min 45 s-30 min	30
F1a110			0 min-1 min 50 s	1 min 50 s-30 min	20
F1a115			0 min-1 min 55 s	1 min 55 s-20min	20
F1a120			0 min-2 min	2 min-12 min	12

Preglednica VII: Seznam poskusov simulacij pH profilov s fosfatnim pufrom, z namenom primerjave med sistemoma A1-3/B1 in G1/B2 in primerjave med poskusi z različnimi vrtljaji. Prikazane so oznake poskusov, oznaka uporabljenega sistema, število vrtljajev (RPM), čas dovajanja TNAF, časovno zaporedje uporabljenih medijev ter čas trajanja poskusov. Medij 1 je bil na začetku poskusov v delovni čaši (40 mL), prav tako so bile z njim napolnjene tudi cevke pred začetkom vsakega od poskusov.

Oznaka poskusa	Sistem	Število vrtljajev (RPM)	Uporabljeni mediji			Čas poskusa [min]
			1.	2.	3.	
F1a/1-6	A1-3/B1	140	0,01 M HCl	0 min-1 min 40 s: 55mM TNAF	1 min 40 s-30 min: 50 mM fosfatni pufer	30
F2a/1-11		80				
F1b/1-6	G1/B2	140				
F2b/1-11		80				

3.3.2.2 SIMULACIJA pH PROFILOV Z REDČENIMI MCILVAINOVIMI PUFRI

Z redčenimi McIlvainovimi pufrmi (rMP) smo poskušali simulirati nižji (1→5,5→6,8→7-7,5) in višji pH profil (3→6,5→6,8→7,5-8).

- 1) Kislo področje v želodcu smo simulirali s koncentracijama HCl, ki sta predstavljali nižjo in višjo vrednost želodčnega pH, v stanju na tešče. Za simulacijo nižje vrednosti želodčnega pH smo izbrali 0,1 M HCl, za simulacijo višjega profila pa smo izhajali iz 1,25 mM HCl.
- 2) Za dvig pH, ki simulira prehod v duodenum, smo uporabljali različne koncentracije ter različne čase dovajanja raztopine TNAF v 40 mL začetni kisli medij. Pri nižjem pH profilu smo za dvig pH iz kisle raztopine 0,1 M HCl uporabili 0,61 M TNAF. Pri višjem pH profilu pa smo za dvig pH iz 1,25 mM kisle raztopine uporabili precej nižje koncentracije TNAF. Najprej smo poskusili s koncentracijo 7,5 mM TNAF, katero smo tekom poskusov ustrezno prilagajali glede na željeni pH profil. Ustrezni koncentraciji

TNAF smo dobili iz približnega razmerja med HCl in TNAF iz podatkov pretekle diplomske naloge [26].

- 3) Po začetnem dovajanju TNAF, s katerim smo simulirali hiter dvig pH pri prehodu v duodenum, smo nadaljevali z ustreznim rMP, dokler nismo dosegli platoja pri pH 6,8, ki ponazarja stanje v jejunumu.
- 4) V zadnji fazi smo z različnimi koncentracijami rMP simulirali prehod iz platoja pri pH 6,8 do ustreznih vrednosti pH, ki ponazarjajo vrednosti v ileumu za nižji in višji pH profil.

Oznake poskusov: **M** – McIlvainov pufer, **1** – številka zaporednega poskusa, **sc** – nižji celotni profil, **zc** – višji celotni profil, **/x** – številka paralelke (**/a** - paralelka na aparaturi A1-3/B1)

Poskusi **M1-M3**, s katerimi smo želeli ponazoriti različno hiter skok do pH vrednosti 5,5 in nato poskusi **M4-M7**, s katerimi smo želeli doseči plato pri pH 6,8, so prikazani v Preglednici VIII. Nadaljevali smo s simulacijo celotnih nižjih in višjih pH profilov (poskusi **Mzc1-Msc4/a**), s poskušanjem različnih koncentracij rMP, kot je prikazano v Preglednici IX. Vse poskuse z rMP smo izvedli na sistemu G1/B2, razen dveh poskusov (**Mzc2/a in Msc4/a**), ki smo ju izvedli na sistemu A1-3/B1 in z njima preverili primerljivost med obema sistemoma.

Preglednica VIII: Poskusi z različnimi časi dovajanja raztopine TNAF in z različno rMP. Prikazane so oznake poskusov, čas dovajanja TNAF in rMP, zeleni pH profil, zaporedje uporabljenih medijev ter časi trajanja poskusov. Medij 1 je bil na začetku poskusov v delovni čaši (40 mL), prav tako pa so bile z njim napolnjene cevke pred začetkom poskusov.

Oznaka poskusa	Čas dovajanja 0,61 M TNAF [min, s]	Čas dovajanja rMP [min, s]	Želeni del pH profila	Uporabljeni mediji			Čas poskusa [min]	
				1.	2.	3.		
M1	1 min 40 s	1 min 40 s-10 min	Različno hiter skok do 5,5	0,1 M HCl	0,61 M TNAF	3,8x rMP pH 6,8	10	
M2	1 min 55 s	1 min 55 s-10 min					10	
M3	2 min 5 s	2 min 5 s-18 min					18	
M4	1 min 50 s	1 min 50 s-20 min	1→5,5→6,8			36,9x rMP pH 6,8	20	
M5	2 min	2 min-20 min					20	
M6	2 min 5 s	2 min 5 s-12 min					9,8x rMP pH 6,8	12
M7	2 min 5 s	2 min 5 s-20 min					47,6x rMP pH 6,8	20

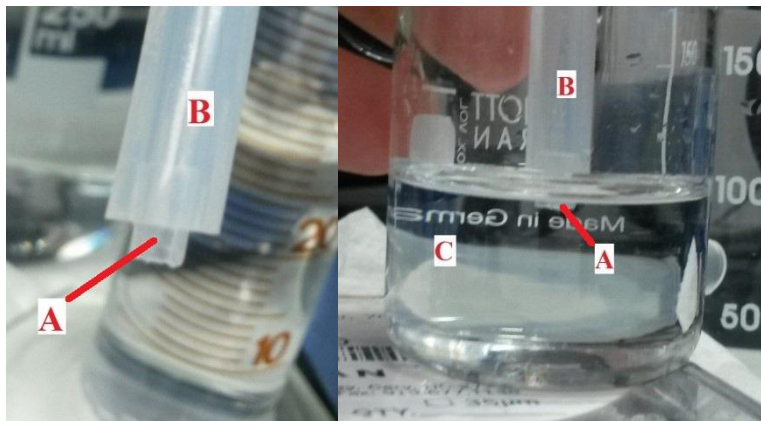
Preglednica IX: Simulacija celotnih pH profilov z uporabo različnih koncentracij rMP. Prikazane so oznake poskusov, zeleni pH profil, časovno zaporedje uporabljenih medijev ter čas trajanja poskusov. Medij 1 je bil na začetku poskusov v delovni čaši (40 mL), prav tako so bile z njim napolnjene cevke pred začetkom poskusov.

Oznaka poskusa	Želeni pH profil	Uporabljeni mediji				Čas poskusa [min]
		1.	2.	3.	4.	
Mzc1	3 → 6,5 → 6,8 → 7,5,8	1,25 mM HCl	0 min-1 min 40 s: 7,50 mM TNAF	1 min 40 s-20 min: 23,3x rMP pH 6,8	20 min-50 min: 4x rMP pH 7,7	50
Mzc2/1				1 min 40 s-20 min: 48,3x rMP pH 6,8	20 min-40 min: 3,9x rMP pH 7,5	40
Mzc2/2				1 min 40 s-20 min: 48,3x rMP pH 6,8	20 min-40 min: 3,9x rMP pH 7,5	40
Mzc2/a				1 min 40 s-15 min: 48,3x rMP pH 6,8	15 min-40 min: 3,9x rMP pH 7,5	40
Mzc3/1				1 min 40 s-20 min: 69,9x rMP pH 6,8	20 min-40 min: 3,9x rMP pH 7,5	40
Mzc3/2				1 min 40 s-20 min: 69,9x rMP pH 6,8	20 min-40 min: 3,9x rMP pH 7,5	40
Mzc4				1 min 40 s-20 min: 90,9x rMP pH 6,8	20 min-30 min: 3,9x rMP pH 7,5	30
Msc1	1 → 5,5 → 6,8 → 7-7,5	0,1 M HCl	0 min-1 min 40 s: 0,61 M TNAF	1 min 40 s-50 min: 4,7x rMP pH 6,8	50 min-100 min: 2,0x rMP pH 7,5	100
Msc2				1 min 40 s-50 min: 9,8x rMP pH 6,8	50 min-120 min: 15,2x rMP pH 7,5	120
Msc3				1 min 40 s-50 min: 23,3x rMP pH 6,8	50 min-90 min: 3,9x rMP pH 7,5	90
Msc4/1				1 min 40 s-60 min: 48,3x rMP pH 6,8	60 min-90 min: 3,9x rMP pH 7,5	90
Msc4/2				1 min 40 s-60 min: 48,3x rMP pH 6,8	60 min-90 min: 3,9x rMP pH 7,5	90
Msc4/a				1 min 40 s-50 min: 48,3x rMP pH 6,8	50 min-90 min: 3,9x rMP pH 7,5	90

3.3.2.3 UPORABA DODATNE CEVKE V DOVODNI CEVKI

Pri simulaciji nižjih pH profilov smo opazili, da se vrednost pH ni ustavila pri platoju pH 6,8, ampak je še naprej naraščala. Predvidevali smo, da je bil za to kriv morebitni ostanek 0,61 M TNAF na dovodni cevki. Kot je prikazano na Sliki 8, smo košček majhne cevke vstavili v dovodno cevko, ki je črpala raztopino TNAF v 40 mL delovno čašo s kislim medijem. Ko smo tako prirejeno cevko potopili v medij, smo morali paziti, da je bila potopljena le vstavljena cevka in da ni prišlo do stika med dovodno cevko in raztopino TNAF. Dovodno cevko smo držali tik nad gladino medija, vstavljena cevka pa je morala biti ves čas pod gladino, da ni prišlo do črpanja zraka. Ko smo imeli to nastavljeno, smo z drugo roko istočasno vklopili štoparico in črpalko, ki je začela črpati raztopino TNAF. Med črpanjem TNAF smo ves čas pazili, da nismo premaknili roke, s katero smo držali dovodno cevko z vstavljeno dodatno cevko in da je črpanje medija potekalo nemoteno. Po 100 sekundah smo medij zamenjali z redčenim McIlvainovim pufrom (rMP) tako, da smo sekundo prej s pinceto potegnili dodatno cevko iz dovodne cevke in dovodno cevko potopili

v rMP. To smo morali storiti zelo hitro in tako, da je bila dovodna cevka že v 100. sekundi potopljena v rMP. Nato smo poskus nadaljevali po normalnem postopku.



Slika 8: Na levi je prikazana vstavitev dodatne cevke (A) v dovodni cevki (B), na desni pa je prikaz izvedbe te metode. Med črpanjem raztopine TNAF (C) je bila potopljena le dodatna cevka (A) in ni smelo priti do dotika dovodne cevke (B) z raztopino TNAF (C).

Naredili smo primerjavo med poskusi, ki smo jih izvajali brez vstavljene dodatne cevke ter tistimi poskusi, katere smo izvajali z vstavljeno dodatno cevko v dovodni cevki (Preglednica X).

Preglednica X: Simulacija nižjih in višjih pH profilov z vstavitvijo dodatne cevke v dovodno cevko in brez vstavitve dodatne cevke. Prikazane so oznake poskusov, želeni pH profil, časovno zaporedje uporabljenih medijev ter čas trajanja poskusov. Medij 1 je bil na začetku poskusov v delovni čaši (40 mL), prav tako so bile z njim napolnjene cevke pred začetkom poskusov.

Oznaka poskusa	Želeni pH profil	Uporabljeni mediji				Čas poskusa [min]
		1.	2.	3.	4.	
Msc brez cevke	1 → 5,5 → 6,8 → 7-7,5	0,1 M HCl	0 min-1 min 40 s: 0,61 M TNAF	1 min 40 s-60 min: 7,4x rMP pH 6,8	60 min-140 min: 10x rMP pH 7,7	140
Msc cevka				1 min 40 s-70 min: 7,4x rMP pH 6,8	70 min-160 min: 10,7x rMP pH 7,2	160
Mz brez cevke	3 → 6,5 → 6,8	1,25 mM HCl	0 min-1 min 40 s: 7,5 mM TNAF	1 min 40 s-10 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	10
Mz cevka				1 min 40 s-14 min: 7,4x rMP pH 6,8		14

3.3.3 DOLOČANJE PUFRSKIH KAPACITET REDČENIH MCILVAINOVIH PUFIROV

Za določanje pufrskih kapacitet smo uporabljali avtomatske merilne pipete različnih velikosti. pH-meter smo umerili na pH=7. V 250 mL čašo smo nalili 40 mL pufera, kateremu smo nameravali meriti pufrsko kapaciteto, ter jo postavili na magnetno mešalo. V pufer smo dodali magnetno mešalo in nastavili vrtljaje na 120 RPM. pH-elektrodo smo potopili v pufer in odčitali začetni pH. Najprej smo začeli postopno dodajati manjše količine 0,1 M HCl (10-20 µL), nato smo pa spreminjali dodane količine kisline glede na velikost sprememb vrednosti pH. Če je bila sprememba pH po majhnem dodatku kisline majhna, smo nadaljevali z dodajanjem njenih večjih količin in obratno, manjše količine kisline smo

dodajali takrat, ko je bila sprememba pH večja že po majhnem dodatku kisline. Vrednost pH smo odčitali, ko se pH ni več spreminjal in je bila sprememba pH za približno 0,3 enote. Zabeležili smo celoten volumen kisline, ki smo jo morali dodati za to spremembo. Pufrsko kapaciteto smo izračunali z *Enačbo 1*.

Najprej smo določili pufrske kapacitete redčenim McIlvainovim pufrom (rMP) različnih koncentracij, s pH vrednostmi 6,8, 7,3 in 7,7. Tiste koncentracije pufrov, ki so bile najbližje vrednostim pufrskih kapacitet *in vivo*, smo nato uporabili v poskusih simulacije pH profilov.

3.3.4 DOLOČANJE PUFRSKIH KAPACITET MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV IN KONČNI pH PROFILI

Postopek določanja pufrskih kapacitet je bil enak, kot smo ga opisali v poglavju 3.3.3. Kot je prikazano v Preglednici XI, smo poskuse ustavili po 3,5., 10., 20., 50. in 60. minutah in določili pufrske kapacitete medijev, ki smo jih kasneje primerjali z vrednostmi *in vivo*. Prav tako smo določili pufrske kapacitete medijev na koncu celotnih pH profilov ter jih primerjali z vrednostmi v ileumu *in vivo*.

Z najustreznejšimi koncentracijami rMP, ki smo jih določili v prejšnjem poglavju, smo naredili poskuse simulacije pH profilov in določene pufrske kapacitete medijev primerjali s kapacitetami svežih pufrov. Na podlagi višjega pH profila smo nato naredili optimizacijo kapacitet tako, da smo koncentracije rMP prilagajali tako, da so se pufrske kapacitete medijev med poskusi simulacije višjih pH profilov približale vrednostim pufrskih kapacitet *in vivo*. V Preglednici XII so prikazani poskusi simulacije končnih pH profilov. Na koncu poskusov simulacije končnih višjih pH profilov smo medijem določili pufrske kapacitete.

Oznake poskusov: **M** – McIlvainov pufer, **K** – poskusi, katerim smo merili pufrsko kapaciteto, **s** – nižji pH profil, **z** – višji pH profil, **c** – celotni pH profil, **x** (npr. 10) – čas v minutah, pri katerem smo poskus ustavili in izmerili pufrsko kapaciteto medija (npr. 10 minut), **X** – različne kombinacije uporabljenih McIlvainovih pufrov v določenih časovnih točkah, **/x** – število paralelke, **FIN** – oznaka za končne pH profile

Preglednica XI: Poskusi simulacije nižjih in višjih pH profilov, katerim smo na koncu poskusov določili puferske kapacitete. Prikazane so oznake poskusov, želeni pH profil, časovno zaporedje uporabljenih medijev ter čas trajanja poskusov. Medij 1 je bil na začetku poskusov v delovni čaši (40 mL), prav tako so bile z njim napolnjene cevke pred začetkom poskusov. (nadaljevanje preglednice na naslednji strani)

Oznaka poskusa	Želeni pH profil	Uporabljeni mediji				Čas poskusa [min]
		1.	2.	3.	4.	
MKscA/1	1 → 5,5 → 6,8 → 7-7,5	0,1 M HCl	0 min-1 min 40 s: 0,61 M TNAF	1 min 40 s-100 min: 7,4x rMP pH 6,8	100 min-180 min: 10,7x rMP pH 6,8	180
MKscA/2					100 min-170 min: 10,7x rMP pH 6,8	170
MKs10A/1				1 min 40 s-10 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	10
MKs10A/2					/	10
MKs3,5A/1				1 min 40 s-3,5 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	3,5
MKs3,5A/2					/	3,5
MKs20A/1				1 min 40 s-20 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	20
MKs20A/2					/	20
MKs60A/1				1 min 40 s-60 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	60
MKs60A/2					/	60
MKzcA/1	3 → 6,5 → 6,8 → 7,5-8	1,25 mM HCl	0 min-1 min 40 s: 6,8 mM TNAF	1 min 40 s-50 min: 7,4x rMP pH 6,8	50 min-125 min: 10x rMP pH 7,7	125
MKzcA/2					50 min-120 min: 10x rMP pH 7,7	120
MKz50A/1				1 min 40 s-50 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	50
MKz50A/2					/	50
MKz20A/1				1 min 40 s-20 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	20
MKz20A/2					/	20
MKz10A/1				1 min 40 s-10 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	10
MKz10A/2					/	10
MKz3,5A/1				1 min 40 s-3,5 min: 7,4x rMP pH 6,8	/	3,5
MKz3,5A/2					/	3,5
MKz4B/1				1 min 40 s-4 min: 4,8x rMP pH 6,8	/	4
MKz10B/1					4 min-10 min: 22,7x rMP pH 6,8	10
MKz3,5C/1				1 min 40 s-3,5 min: 2x rMP pH 6,6	/	3,5
MKz3,5C/2			0 min-1 min 40 s: 5 mM TNAF	1 min 40 s-3,5 min: 2x rMP pH 6,8	/	3,5
MKz3,5C/3					/	3,5
MKz3,5C/4					/	3,5
MKz3,5C/5					/	3,5
MKz3,5C/6					/	3,5
MKz10C/1			1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8		/	10
MKz10C/2					/	10
MKz10C/3					/	10
MKz10C/4					/	10
MKz10C/5					/	10
MKz10C/6					/	10
MKz20C/1				1 min 40 s-10 min:	10 min-20 min: 10x rMP pH 6,8	20

*nadaljevanje Prealednice XI

Oznaka poskusa	Željeni pH profil	Uporabljeni mediji				Čas poskusa [min]
		1.	2.	3.	4.	
MKz20D/1	3 → 6,5 → 6,8 → 7,5-8			2x rMP pH 6,8	10 min-20 min: 50x rMP pH 6,8	20
MKz30D/1					10 min-30 min: 50x rMP pH 6,8	30
MKz50D/1					10 min-50 min: 50x rMP pH 6,8	50
MKz30E/1					10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz30E/2			0 min-1 min 40 s: 6,8 mM TNAF		10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz30E/3					10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz30E/4					10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz30E/5					10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz30E/6			0 min-1 min 40 s: 6,3 mM TNAF	1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz30E/7			0 min-1 min 40 s: 6,0 mM TNAF		10 min-30 min: 100x rMP pH 6,8	30
MKz50E/1					10 min-50 min: 100x rMP pH 6,8	50
MKz50E/2					10 min-50 min: 100x rMP pH 6,8	50
MKz50E/3					10 min-50 min: 100x rMP pH 6,8	50
MKz50E/4			0 min-1 min 40 s: 6,8 mM TNAF		10 min-50 min: 100x rMP pH 6,8	50
MKz50E/5			0 min-1 min 40 s: 6,8 mM TNAF		10 min-50 min: 100x rMP pH 6,8	50

Preglednica XII: Poskusi simulacije nižjih in višjih končnih pH profilov. Prikazane so oznake poskusov, željeni pH profil, časovno zaporedje uporabljenih medijev ter čas trajanja poskusov. Medij 1 je bil na začetku poskusov v delovni čaši (40 mL), prav tako so bile z njim napolnjene cevke pred začetkom poskusov.

Oznaka poskusa	Željeni pH profil	Uporabljeni mediji					Čas poskusa [min]
		1.	2.	3.	4.	5.	
MKzFIN/1	3 → 6,5 → 6,8 → 7,5-8			1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-240 min: 10x rMP pH 7,7	240
MKzFIN/2				1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-230 min: 10x rMP pH 7,7	230
MKzFIN/3		1,25 mM HCl	0 min-1 min 40 s: 5 mM TNAF	1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-240 min: 10x rMP pH 7,7	240
MKzFIN/4				1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-250 min: 10x rMP pH 7,7	250
MKzFIN/5				1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-240 min: 10x rMP pH 7,7	240
MKsFIN/1	1 → 5,5 → 6,8 → 7-7,5			1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-220 min: 9,6x rMP pH 7,3	220
MKsFIN/2				1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-210 min: 9,1x rMP pH 7,3	210
MKsFIN/3		0,1 M HCl	0 min-1 min 40 s: 0,61 M TNAF	1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-220 min: 9,1x rMP pH 7,3	220
MKsFIN/4				1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-190 min: 100x rMP pH 6,8	190 min-240 min: 9,1x rMP pH 7,3	240
MKsFIN/5				1 min 40 s-10 min: 2x rMP pH 6,8	10 min-180 min: 100x rMP pH 6,8	180 min-230 min: 9,1x rMP pH 7,3	230

4 REZULTATI

4.1 URAVNAVANJE PRETOKA NA PRETOČNEM SISTEMU

Pred poskusi smo oba vpenjalna vijaka privili v desno do konca. Nato smo jih glede na vrednosti masnih pretokov [ϕ], ki smo jih izračunali po 20-minutnih poskusih, privijali (v desno) ali odvijali (v levo) tako kot je označeno v Preglednici XIII, dokler nismo dobili konstantnih pretokov na obeh pretočnih črpalkah, B1 in B2.

Preglednica XIII: Uravnavanje pretokov na pretočnih črpalkah. Premike v levo smo označili z -, v desno pa z +. Prikazane so oznake poskusov na pretočni črpalki B1 in na pretočni črpalki B2, premiki vijakov na dovodni in odvodni cevki, ter pretoki na dovodni in odvodni cevki.

Poskusi na pretočni črpalki B1	Premik vijaka		ϕ [g/min]		Poskusi na pretočni črpalki B2	Premik vijaka		ϕ [g/min]	
	Dovodna cevka	Odvodna cevka	Dovodna cevka	Odvodna cevka		Dovodna cevka	Odvodna cevka	Dovodna cevka	Odvodna cevka
P1	/	/	2,41	2,44	P21	/	/	2,38	2,14
P2	/	/	2,41	2,43	P22	/	/	2,39	2,16
P3	½ vrt. -	½ vrt. -	2,31	2,39	P23	½ vrt. -	½ vrt. -	2,26	2,19
P4	½ vrt. -	/	2,27	2,39	P24	½ vrt. -	/	2,15	2,19
P5	½ vrt. -	½ vrt. -	1,93	2,36	P25	½ vrt. -	½ vrt. -	2,25	2,18
P6	¼ vrt. +	½ vrt. -	2,09	2,33	P26	½ vrt. -	½ vrt. -	2,09	1,94
P7	/	½ vrt. -	2,08	2,18	P27	½ vrt. -	½ vrt. +	2,03	2,09
P8	/	½ vrt. -	2,08	2,16	P28	/	/	2,05	2,10
P9	/	½ vrt. -	2,09	2,07	P29	¼ vrt. -	¼ vrt. -	1,98	2,07
P10	/	/	2,08	2,06	P30	/	¼ vrt. -	1,99	2,02
P11	¼ vrt. -	¼ vrt. -	2,10	2,02	P31	/	¼ vrt. -	1,97	2,00
P12	¼ vrt. -	/	2,03	1,97	P32	/	/	1,96	2,01
P13	¼ vrt. -	¼ vrt. -	1,88	1,72	P33	¼ vrt. +	¼ vrt. -	1,98	1,95
P14	¼ vrt. +	¼ vrt. +	2,00	1,79	P34	/	¼ vrt. +	1,99	1,99
P15	/	¼ vrt. +	1,97	1,89	P35	/	/	1,98	1,99
P16	/	¼ vrt. +	1,97	1,98	P36	/	/	1,99	2,00
P17	/	/	1,97	1,99					
P18	2 črtici	2 črtici +	1,98	2,00					
P19	/	/	1,99	2,00					
P20	/	/	2,01	2,01					

4.2 PRIMERJAVA SISTEMOV IN VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA pH PROFILE

V Preglednici XIV smo prikazali rezultate poskusov simulacije pH profilov na sistemih A1-3/B1 in G1/B2, z različnimi časi dovajanja raztopine TNAF. V Preglednicah XV-XVII pa so prikazani rezultati paralelk, s katerimi smo naredili primerjavo med poskusi simulacije pH profilov z različnim številom vrtljajev v delovni čaši (RPM) in primerjavo med omenjenima sistemoma.

Preglednica XIV: Rezultati poskusov simulacije pH profilov s fosfatnim pufrom z različnimi časi dovajanja raztopine TNAF z namenom primerjave med sistemoma A1-3/B1 (oznaka a) in G1/B2 (oznaka b).

t [min]	pH												
	F1b90	F1b95	F1b100	F1b105	F1b110	F1b115	F1b120	F1a95	F1a100	F1a105	F1a110	F1a115	F1a120
0	2,37	2,37	2,36	2,35	2,37	2,36	2,38	2,37	2,34	2,35	2,36	2,37	2,37
1	2,37	2,37	2,36	2,35	2,37	2,37	2,38	2,37	2,35	2,36	2,36	2,37	2,37
2	2,40	2,41	2,38	2,37	2,37	2,37	2,40	2,40	2,37	2,38	2,38	2,37	2,37
2,5	2,52	2,51	2,50	2,48	2,41	2,49	2,52	2,51	2,46	2,52	2,45	2,5	2,50
3	2,71	2,75	2,68	2,68	2,57	2,70	2,79	2,72	2,64	2,66	2,62	2,59	2,63
3,5	2,96	3,07	3,06	3,02	2,93	3,17	3,31	3,06	2,96	2,99	2,99	3,16	2,94
4	3,29	3,61	3,60	3,59	4,07	5,60	6,11	3,53	3,50	3,60	3,46	4,59	5,05
4,5	3,95	5,78	5,80	5,87	6,24	6,34	6,53	5,53	5,86	5,80	5,61	6,32	6,15
5	5,79	6,26	6,27	6,28	6,49	6,54	6,66	6,08	6,25	6,27	6,24	6,56	6,51
5,5	6,10	6,41	6,45	6,46	6,60	6,63	6,74	6,32	6,39	6,46	6,45	6,62	6,59
6	6,31	6,53	6,51	6,56	6,67	6,68	6,78	6,45	6,47	6,55	6,53	6,72	6,67
6,5	6,41	6,55	6,57	6,60	6,70	6,72	6,81	6,50	6,52	6,62	6,59	6,75	6,72
7	6,50	6,58	6,59	6,64	6,73	6,76	6,82	6,58	6,56	6,66	6,65	6,78	6,75
8	6,57	6,63	6,64	6,68	6,76	6,78	6,83	6,63	6,61	6,70	6,69	6,79	6,78
9	6,61	6,65	6,67	6,70	6,77	6,78	6,83	6,65	6,63	6,72	6,71	6,79	6,80
10	6,63	6,68	6,68	6,71	6,78	6,79	6,83	6,68	6,67	6,74	6,73	6,79	6,80
12	6,68	6,71	6,71	6,73	6,78	6,79	6,83	6,71	6,70	6,75	6,75	6,79	6,80
14	6,70	6,73	6,73	6,75	6,79	6,79	6,82	6,72	6,71	6,76	6,75	6,79	/
16	6,73	6,74	6,74	6,75	6,79	/	6,83	6,74	6,72	6,76	6,76	6,79	/
18	6,74	6,75	6,75	6,76	6,79	/	/	6,75	6,74	6,77	6,76	/	/
20	6,75	6,76	6,76	6,76	6,79	/	/	6,75	6,74	6,77	6,76	/	/
25	6,76	6,76	6,76	6,77	/	/	/	6,76	6,75	6,77	/	/	/
30	6,76	6,77	6,77	6,77	/	/	/	6,76	6,75	6,77	/	/	/

Preglednica XV: Rezultati poskusov simulacije pH profilov s fosfatnim pufrom z namenom primerjave med poskusi z različnimi vrtljaji (oznaka 1 za 140 RPM in oznaka 2 za 80 RPM) na sistemu A1-3/B1. Prikazano je tudi povprečje vrednosti pH za posamezen sklop paralelk.

t [min]	pH													
	F1a/1	F1a/2	F1a/3	F1a/4	F1a/5	F1a/6	povprečje	F2a/1	F2a/2	F2a/3	F2a/4	F2a/5	F2a/6	povprečje
0	2,41	2,41	2,38	2,38	2,40	2,39	2,40	2,42	2,40	2,40	2,37	2,39	2,37	2,39
1	2,41	2,41	2,39	2,38	2,41	2,40	2,40	2,42	2,40	2,40	2,37	2,39	2,37	2,39
2	2,43	2,42	2,42	2,40	2,42	2,43	2,42	2,43	2,40	2,42	2,39	2,41	2,39	2,41
2,5	2,50	2,52	2,50	2,51	2,51	2,52	2,51	2,49	2,49	2,49	2,49	2,49	2,50	2,51
3	2,73	2,65	2,86	2,67	2,70	2,72	2,72	2,65	2,62	2,71	2,78	2,73	2,61	2,70
3,5	3,01	2,94	3,22	3,00	2,93	2,98	3,01	2,91	2,88	2,96	2,99	2,94	2,92	2,93
4	3,38	3,26	3,51	3,31	3,21	3,66	3,39	3,26	3,14	3,43	3,42	3,28	3,22	3,29
4,5	5,05	4,52	5,16	4,27	3,64	4,15	4,47	4,26	3,62	5,53	4,87	4,77	3,64	4,45
5	6,08	5,84	6,17	5,89	5,51	5,93	5,90	5,86	5,54	6,16	6,02	5,85	5,90	5,89
5,5	6,38	6,40	6,36	6,22	6,08	6,26	6,28	6,27	6,23	6,37	6,28	6,26	6,13	6,26
6	6,46	6,45	6,44	6,37	6,33	6,42	6,41	6,39	6,38	6,50	6,42	6,35	6,32	6,39
6,5	6,55	6,52	6,51	6,47	6,42	6,51	6,50	6,47	6,49	6,59	6,49	6,47	6,43	6,49
7	6,62	6,57	6,58	6,53	6,50	6,55	6,56	6,53	6,52	6,63	6,55	6,56	6,51	6,55
8	6,66	6,63	6,63	6,61	6,60	6,63	6,63	6,62	6,61	6,67	6,61	6,60	6,56	6,61
9	6,70	6,67	6,68	6,65	6,64	6,67	6,67	6,68	6,65	6,69	6,64	6,64	6,62	6,65
10	6,72	6,69	6,69	6,67	6,68	6,69	6,69	6,69	6,68	6,72	6,67	6,66	6,64	6,68
12	6,75	6,73	6,72	6,71	6,71	6,73	6,73	6,72	6,72	6,75	6,70	6,69	6,69	6,71
14	6,76	6,76	6,75	6,74	6,75	6,75	6,75	6,75	6,74	6,76	6,72	6,72	6,71	6,73
16	6,78	6,76	6,77	6,75	6,76	6,77	6,77	6,76	6,75	6,77	6,73	6,73	6,73	6,75
18	6,78	6,77	6,77	6,76	6,77	6,78	6,77	6,77	6,76	6,78	6,74	6,74	6,74	6,76
20	6,79	6,78	6,79	6,77	6,78	6,78	6,78	6,78	6,77	6,78	6,75	6,75	6,74	6,76
25	6,80	6,79	6,79	6,78	6,78	6,79	6,79	6,79	6,78	6,80	6,76	6,76	6,76	6,78
30	6,80	6,80	6,79	6,79	6,79	6,80	6,80	6,79	6,79	6,80	6,76	6,77	6,76	6,78

Preglednica XVI: Rezultati poskusov simulacije pH profilov s fosfatnim pufrom z namenom primerjave med poskusi z različnimi vrtljaji (oznaka 1 za 140 RPM in oznaka 2 za 80 RPM) na sistemu G2/B2. Prikazano je tudi povprečje vrednosti pH za posamezen sklop paralelk.

t [min]	pH													
	F1b/1	F1b/2	F1b/3	F1b/4	F1b/5	F1b/6	povprečje	F2b/1	F2b/2	F2b/3	F2b/4	F2b/5	F2b/6	povprečje
0	2,41	2,41	2,41	2,41	2,39	2,39	2,40	2,39	2,41	2,41	2,41	2,39	2,40	2,40
1	2,41	2,42	2,41	2,41	2,39	2,39	2,41	2,40	2,41	2,40	2,41	2,39	2,41	2,40
2	2,44	2,46	2,42	2,42	2,42	2,42	2,43	2,42	2,42	2,40	2,44	2,41	2,43	2,42
2,5	2,60	2,58	2,55	2,46	2,51	2,51	2,54	2,53	2,54	2,45	2,54	2,51	2,52	2,52
3	2,87	2,84	2,73	2,61	2,73	2,73	2,75	2,81	2,78	2,61	2,73	2,71	2,71	2,73
3,5	3,34	3,41	3,03	2,94	3,06	3,04	3,14	3,08	3,07	2,91	3,08	3,02	3,08	3,04
4	5,17	5,64	3,46	3,47	3,58	3,58	4,15	3,69	3,55	4,38	3,78	3,51	4,19	3,85
4,5	6,31	6,29	5,48	5,66	5,68	5,76	5,86	5,84	5,75	6,24	5,92	5,46	5,90	5,85
5	6,40	6,47	6,17	6,24	6,20	6,23	6,29	6,28	6,23	6,47	6,29	6,10	6,30	6,28
5,5	6,55	6,58	6,37	6,45	6,41	6,41	6,46	6,44	6,39	6,53	6,44	6,33	6,47	6,43
6	6,60	6,65	6,50	6,55	6,53	6,49	6,55	6,53	6,48	6,61	6,53	6,49	6,56	6,53
6,5	6,66	6,69	6,56	6,63	6,59	6,55	6,61	6,60	6,57	6,64	6,59	6,54	6,64	6,60
7	6,69	6,72	6,61	6,66	6,62	6,61	6,65	6,65	6,61	6,67	6,63	6,59	6,66	6,64
8	6,72	6,74	6,67	6,71	6,67	6,65	6,69	6,68	6,67	6,71	6,68	6,63	6,71	6,68
9	6,74	6,76	6,69	6,74	6,69	6,68	6,72	6,70	6,69	6,72	6,71	6,69	6,75	6,71
10	6,76	6,77	6,72	6,75	6,71	6,71	6,74	6,72	6,72	6,74	6,73	6,70	6,76	6,73
12	6,77	6,79	6,74	6,77	6,74	6,74	6,76	6,75	6,74	6,75	6,74	6,74	6,77	6,75
14	6,79	6,79	6,76	6,79	6,76	6,76	6,78	6,76	6,75	6,76	6,77	6,75	6,78	6,76
16	6,79	6,79	6,77	6,79	6,77	6,77	6,78	6,77	6,76	6,77	6,78	6,76	6,79	6,77
18	6,79	6,79	6,78	6,80	6,77	6,77	6,78	6,78	6,77	6,78	6,78	6,77	6,79	6,78
20	6,79	6,79	6,79	6,80	6,78	6,78	6,79	6,79	6,79	6,79	6,79	6,78	6,80	6,79
25	6,79	6,79	6,79	6,80	6,79	6,78	6,79	6,79	6,79	6,79	6,80	6,79	6,80	6,79
30	6,80	6,80	6,79	6,81	6,79	6,79	6,80	6,80	6,80	6,79	6,80	6,79	6,80	6,80

Preglednica XVII: Rezultati poskusov simulacije pH profilov s fosfatnim pufrom z namenom primerjave med poskusi na obeh sistemih. Prikazano je tudi povprečje vrednosti pH za posamezen sklop paralelk.

t [min]	pH											
	F2a/7	F2a/8	F2a/9	F2a/10	F2a/11	povprečje	F2b/7	F2b/8	F2b/9	F2b/10	F2b/11	povprečje
0	2,42	2,41	2,43	2,37	2,41	2,41	2,40	2,44	2,43	2,44	2,37	2,42
1	2,42	2,42	2,43	2,37	2,41	2,41	2,40	2,44	2,43	2,44	2,37	2,42
2	2,43	2,46	2,46	2,39	2,42	2,43	2,42	2,45	2,44	2,45	2,39	2,43
2,5	2,61	2,53	2,58	2,49	2,55	2,55	2,53	2,54	2,53	2,56	2,49	2,53
3	2,76	2,81	2,81	2,81	2,72	2,78	2,71	2,72	2,72	2,80	2,67	2,72
3,5	3,16	3,12	3,32	3,28	3,15	3,21	3,15	3,06	3,10	3,14	3,04	3,10
4	3,82	3,71	4,16	3,71	3,81	3,84	4,36	4,26	3,98	4,16	3,69	4,09
4,5	5,98	5,98	6,03	6,04	6,05	6,02	5,95	5,75	5,87	6,08	5,92	5,91
5	6,25	6,24	6,36	6,26	6,29	6,28	6,18	6,29	6,25	6,35	6,25	6,26
5,5	6,40	6,46	6,51	6,39	6,40	6,43	6,35	6,40	6,39	6,50	6,41	6,41
6	6,51	6,54	6,58	6,47	6,52	6,52	6,46	6,52	6,54	6,59	6,51	6,52
6,5	6,58	6,62	6,64	6,52	6,55	6,58	6,51	6,59	6,57	6,65	6,56	6,58
7	6,62	6,65	6,69	6,58	6,59	6,63	6,55	6,63	6,62	6,68	6,61	6,62
8	6,68	6,70	6,74	6,61	6,63	6,67	6,63	6,69	6,67	6,73	6,65	6,67
9	6,71	6,73	6,75	6,64	6,66	6,70	6,67	6,72	6,70	6,75	6,67	6,70
10	6,73	6,75	6,76	6,67	6,68	6,72	6,68	6,74	6,72	6,77	6,68	6,72
12	6,75	6,77	6,77	6,68	6,70	6,73	6,72	6,77	6,75	6,78	6,71	6,75
14	6,76	6,78	6,79	6,72	6,71	6,75	6,75	6,78	6,77	6,79	6,72	6,76
16	6,78	6,79	6,79	6,75	6,75	6,77	6,76	6,79	6,78	6,80	6,75	6,78
18	6,79	6,80	6,80	6,77	6,76	6,78	6,77	6,80	6,79	6,81	6,76	6,79
20	6,80	6,80	6,80	6,78	6,78	6,79	6,78	6,81	6,80	6,81	6,77	6,79
25	6,81	6,81	6,81	6,79	6,79	6,80	6,80	6,81	6,81	6,81	6,78	6,80
30	6,81	6,81	6,81	6,79	6,79	6,80	6,80	6,81	6,81	6,81	6,79	6,80

4.3 SIMULACIJA pH PROFILOV Z REDČENIMI MCILVAINOVIMI PUFRI

V Preglednicah XVIII in XIX so prikazani rezultati poskusov simulacije pH profilov z redčenimi McIlvainovimi pufri (rMP).

Preglednica XVIII: Rezultati poskusov simulacije pH profilov, kjer smo naredili primerjavo med poskusi z različnimi časi dovajanja raztopine TNAF, ki so navedeni pod oznako poskusa in različnimi koncentracijami rMP. Med sabo smo primerjali poskuse enakih koncentracij, najprej M1, M2 in M3 poskuse ter nato poskusa M4 in M5.

t [min]	pH						
	M1 (100 s)	M2 (115 s)	M3 (125 s)	M4 (110 s)	M5 (120 s)	M6 (125 s)	M7 (125 s)
0	1,68	1,68	1,69	1,64	1,65	1,70	1,69
1	1,68	1,68	1,69	1,65	1,65	1,70	1,69
2	1,68	1,70	1,71	1,75	1,70	1,72	1,69
2,5	1,71	1,96	1,79	1,87	1,81	1,77	1,74
3	1,85	2,05	1,98	2,19	2,15	2,03	2,03
3,5	2,06	2,33	2,38	2,65	2,54	2,94	2,70
4	2,25	2,61	2,96	2,94	2,92	5,83	3,46
4,5	2,42	2,98	5,21	3,98	4,72	6,28	4,89
5	2,57	3,46	5,96	5,58	5,77	6,47	5,48
5,5	2,80	4,89	6,22	5,88	6,06	6,60	5,71
6	3,00	5,46	6,40	5,99	6,21	6,71	5,83
6,5	3,16	5,79	6,49	6,11	6,30	6,74	5,95
7	3,52	5,94	6,56	6,20	6,40	6,80	6,04
8	5,19	6,14	6,69	6,32	6,50	6,91	6,15
9	5,77	6,25	6,77	6,41	6,58	6,99	6,26
10	5,99	6,33	6,83	6,50	6,66	7,02	6,35
12	/	/	6,92	6,62	6,77	7,12	6,51
14	/	/	6,96	6,72	6,85	/	6,67
16	/	/	6,97	6,81	6,93	/	6,78
18	/	/	6,99	6,89	6,97	/	6,90
20	/	/	/	6,95	7,00	/	7,01

Preglednica XIX: Rezultati simulacije celotnih nižjih in višjih pH profilov. Naredili smo primerjavo med poskusi, kjer smo uporabili različne koncentracije MP. S poskusoma Mzc2/a in Msc4/a, ki smo jih izvedli na sistemu A1-3/B1, smo preverili primerljivost s sistemom G1/B2. *(nadaljevanje preglednice na naslednji strani)*

t [min]	pH												
	Mzc1	Mzc2/1	Mzc2/2	Mzc2/a	Mzc3/1	Mzc3/2	Mzc4	Msc1	Msc2	Msc3	Msc4/1	Msc4/2	Msc4/a
0	3,16	3,13	3,16	3,18	3,16	3,14	3,16	1,51	1,50	1,52	1,51	1,50	1,53
1	3,17	3,15	3,16	3,18	3,16	3,15	3,18	1,51	1,50	1,52	1,51	1,50	1,53
2	3,21	3,17	3,22	3,23	3,22	3,18	3,23	1,57	1,50	1,52	1,54	1,53	1,60
2,5	3,34	3,27	3,38	3,40	3,38	3,28	3,38	1,74	1,61	1,54	1,80	1,62	1,80
3	3,59	3,57	3,67	3,65	3,67	3,51	3,65	2,02	1,98	1,70	2,13	2,04	2,12
3,5	4,39	4,17	4,90	4,69	4,90	4,29	4,70	2,38	3,32	2,23	3,22	2,88	2,51
4	6,11	6,17	6,30	6,39	6,30	5,99	6,41	2,85	5,83	5,33	5,86	5,47	2,68
4,5	6,59	6,53	6,67	6,69	6,67	6,50	6,57	3,76	5,95	6,20	6,16	6,02	3,55
5	6,75	6,70	6,73	6,79	6,73	6,67	6,80	5,73	6,02	6,32	6,30	6,17	5,46
5,5	6,78	6,75	6,76	6,83	6,76	6,72	6,84	6,13	6,06	6,39	6,37	6,27	5,99
6	6,80	6,77	6,79	6,85	6,79	6,75	6,86	6,26	6,11	6,42	6,40	6,35	6,17
6,5	6,81	6,78	6,80	6,86	6,80	6,76	6,87	6,36	6,16	6,47	6,43	6,38	6,28
7	6,82	6,79	6,81	6,88	6,81	6,77	6,87	6,41	6,19	6,48	6,44	6,40	6,38
8	6,83	6,80	6,82	6,88	6,82	6,78	6,87	6,50	6,25	6,50	6,48	6,45	6,54
9	6,83	6,82	6,82	6,88	6,82	6,79	6,87	6,56	6,32	6,52	6,50	6,48	6,59
10	6,83	6,83	6,83	6,88	6,83	6,80	6,87	6,59	6,37	6,52	6,52	6,52	6,61
12	6,83	6,84	6,83	6,89	6,83	6,84	6,86	6,63	6,45	6,55	6,55	6,56	6,64
14	6,83	6,84	6,84	6,88	6,84	6,85	6,86	6,67	6,53	6,57	6,58	6,58	6,66
16	6,83	6,85	6,84	6,88	6,84	6,85	6,86	6,68	6,57	6,59	6,61	6,61	6,67
17	/	/	/	7,05	/	/	/	/	/	/	/	/	/
17,5	/	/	/	7,14	/	/	/	/	/	/	/	/	/
18	6,83	6,84	6,85	7,26	6,85	6,86	6,85	6,69	6,62	6,60	6,62	6,62	6,69
18,5	/	/	/	7,35	/	/	/	/	/	/	/	/	/

t [min]	pH												
	Mzc1	Mzc2/1	Mzc2/2	Mzc2/a	Mzc3/1	Mzc3/2	Mzc4	Msc1	Msc2	Msc3	Msc4/1	Msc4/2	Msc4/a
19	/	/	/	7,39	/	/	/	/	/	/	/	/	/
20	6,82	6,85	6,85	7,45	6,85	6,86	6,85	6,70	6,66	6,61	6,64	6,64	6,70
21	6,82	6,86	6,85	7,49	6,85	6,86	6,85	/	/	/	/	/	/
22	6,84	6,87	6,95	7,50	6,95	6,95	6,89	/	/	/	/	/	/
22,5	6,94	/	7,14	/	7,14	7,14	7,15	/	/	/	/	/	/
23	7,03	7,19	7,28	/	7,28	7,28	7,30	/	/	/	/	/	/
23,5	7,13	7,25	7,35	/	7,35	7,35	7,37	/	/	/	/	/	/
24	7,19	7,29	7,37	/	7,37	7,40	7,43	/	/	/	/	/	/
24,5	7,24	7,34	7,41	/	7,41	7,42	7,46	/	/	/	/	/	/
25	7,27	7,36	7,45	7,52	7,45	7,46	7,47	6,72	6,71	6,66	6,67	6,67	6,73
25,5	7,30	7,38	7,46	/	7,46	7,48	7,49	/	/	/	/	/	/
26	7,32	7,40	7,48	/	7,48	7,48	7,50	/	/	/	/	/	/
26,5	7,34	7,42	/	/	/	7,50	7,51	/	/	/	/	/	/
27	7,36	7,43	7,49	/	7,49	7,51	7,53	/	/	/	/	/	/
28	7,40	7,45	7,49	/	7,49	7,51	7,53	/	/	/	/	/	/
29	7,43	7,48	7,51	/	7,51	7,52	7,54	/	/	/	/	/	/
30	7,47	7,48	7,51	7,54	7,51	7,53	7,54	6,72	6,73	6,68	6,70	6,69	6,76
35	7,50	7,50	7,52	7,54	7,52	7,53	/	6,74	6,76	6,72	6,73	6,73	6,80
40	7,56	7,50	7,52	7,53	7,52	7,53	/	6,75	6,78	6,77	6,77	6,77	6,82
45	7,58	/	/	/	/	/	/	6,75	6,80	6,82	6,79	6,79	6,84
50	7,59	/	/	/	/	/	/	6,76	6,80	6,86	6,81	6,80	6,86
51	/	/	/	/	/	/	/	6,76	6,80	/	/	/	/
52	/	/	/	/	/	/	/	6,81	6,81	/	/	/	/
52,5	/	/	/	/	/	/	/		6,83	/	/	/	/
53	/	/	/	/	/	/	/	6,84	6,83	/	/	/	/
53,5	/	/	/	/	/	/	/	6,87	6,84	/	/	/	/
54	/	/	/	/	/	/	/	6,90	6,84	/	/	/	/
55	/	/	/	/	/	/	/	6,97	6,87	6,90	6,82	6,82	6,92
55,5	/	/	/	/	/	/	/	6,97		/	/	/	/
56	/	/	/	/	/	/	/	7,00	6,88	/	/	/	/
57	/	/	/	/	/	/	/	7,03	6,90	6,92	/	/	/
58	/	/	/	/	/	/	/	7,06	6,91	6,95	/	/	/
59	/	/	/	/	/	/	/	7,09	6,94	7,02	/	/	/
60	/	/	/	/	/	/	/	7,11	6,97	7,10	6,83	6,83	7,01
61	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,16	6,84	6,84	7,03
62	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,19	6,91	6,90	7,13
62,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/		6,95	6,95	7,20
63	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,23	7,00	7,00	7,23
63,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/		7,05	7,05	7,28
64	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,26	7,11	7,11	7,30
64,5	/	/	/	/	/	/	/				7,16	7,15	7,31
65	/	/	/	/	/	/	/	7,22	7,03	7,29	7,18	7,17	7,33
66	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,31	/	/	7,37
67	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,33	/	/	7,40
68	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,41
69	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,36	/	/	7,43
70	/	/	/	/	/	/	/	7,28	7,11	7,37	7,36	7,35	7,44
75	/	/	/	/	/	/	/	7,32	7,18	7,41	7,41	7,42	
80	/	/	/	/	/	/	/	7,36	7,24	7,43	7,44	7,44	7,48
85	/	/	/	/	/	/	/	7,38	7,28	7,45	7,46	7,46	
90	/	/	/	/	/	/	/	7,40	7,32	7,45	7,47	7,47	7,50
95	/	/	/	/	/	/	/	7,41	7,36	/	/	/	/
100	/	/	/	/	/	/	/	7,42	7,39	/	/	/	/
105	/	/	/	/	/	/	/	/	7,41	/	/	/	/
110	/	/	/	/	/	/	/	/	7,43	/	/	/	/
115	/	/	/	/	/	/	/	/	7,45	/	/	/	/
120	/	/	/	/	/	/	/	/	7,46	/	/	/	/
125	/	/	/	/	/	/	/	/	7,46	/	/	/	/

4.4 PUFRSKE KAPACITETE REDČENIH MCILVANOVIH PUFROV

V Preglednicah XX-XXIV so prikazani rezultati določanja pufrskih kapacitet različno redčenih McIlvainovih pufrov (rMP).

Preglednica XX: Rezultati določanja pufrskih kapacitet rMP. V prvi vrstici so prikazane redčitve pufrov in njihovi začetni pH-ji. V drugi vrstici so prikazane oznake paralelk. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem stolpcu povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹.

90,9x rMP (pH=6,8)			69,9x rMP (pH=6,8)			48,3x rMP (pH=6,8)		
1. par.			1. par.			1. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
6,78-6,51	6,65	1,385	6,83-6,53	6,68	1,658	6,83-6,54	6,69	2,142
6,51-6,23	6,37	1,154	6,53-6,22	6,38	1,200	6,54-6,23	6,39	1,595
6,23-5,88	6,06	0,849	6,22-5,90	6,06	0,928	6,23-5,95	6,09	1,100
5,88-5,47	5,68	0,483	5,90-5,61	5,76	0,679	5,95-5,67	5,81	0,878
5,47-5,12	5,30	0,280	5,61-5,31	5,46	0,410	5,67-5,32	5,50	0,526
5,12-4,76	4,94	0,206	5,31-5,00	5,16	0,316	5,32-5,05	5,19	0,454
4,76-4,41	4,59	0,211	5,00-4,73	4,87	0,274	5,05-4,71	4,88	0,359
4,41-4,14	4,28	0,274	4,73-4,46	4,60	0,274	4,71-4,42	4,57	0,506
4,14-3,83	3,99	0,461	4,46-4,16	4,31	0,327	4,42-4,11	4,27	0,551
3,83-3,53	3,68	0,899	4,16-3,88	4,02	0,525	4,11-3,82	3,97	0,839
/	/	/	3,88-3,60	3,74	0,871	3,82-3,52	3,67	1,333

22,7x rMP (pH=6,8)						9,3x rMP (pH=6,8)					
1. par.			2. par.			1. par.			2. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
6,80-6,50	6,65	3,870	6,89-6,59	6,74	3,708	6,84-6,54	6,69	8,921	6,84-6,55	6,70	9,229
6,50-6,20	6,35	2,857	6,59-6,27	6,43	3,060	6,54-6,20	6,37	6,986	6,55-6,22	6,39	7,198
6,20-5,85	6,03	2,083	6,27-5,94	6,11	2,209	6,20-5,83	6,02	5,040	6,22-5,92	6,07	5,452
5,85-5,52	5,69	1,467	5,94-5,63	5,79	1,560	5,83-5,54	5,69	3,579	5,92-5,61	5,77	4,093
5,52-5,23	5,38	1,124	5,63-5,32	5,48	1,166	5,54-5,24	5,39	2,669	5,61-5,29	5,45	2,857
5,23-4,93	5,08	1,043	5,32-4,95	5,14	0,973	5,24-4,96	5,10	2,435	5,29-4,97	5,13	2,480
4,93-4,64	4,79	1,076	4,95-4,66	4,81	0,991	4,96-4,67	4,82	2,412	4,97-4,68	4,83	2,329
4,64-4,36	4,50	1,111	4,66-4,36	4,51	0,955	4,67-4,38	4,53	2,472	4,68-4,38	4,53	2,237
4,36-4,07	4,22	1,148	4,36-4,06	4,21	1,031	4,38-4,09	4,24	2,379	4,38-4,05	4,22	2,354
4,07-3,78	3,93	1,472	4,06-3,77	3,92	1,389	4,09-3,80	3,95	2,665	4,05-3,76	3,91	2,658
3,78-3,49	3,64	2,193	3,77-3,48	3,63	2,031	3,80-3,49	3,65	3,453	3,76-3,47	3,62	3,756

Preglednica XXI: Rezultati določanja pufrskih kapacitet rMP. V prvi vrstici so prikazane redčitve pufrov in njihovi začetni pH-ji. V drugi vrstici so prikazane oznake paralelk. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem stolpcu povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): $\text{mmol L}^{-1} \Delta\text{pH}^{-1}$.

8,3x rMP (pH=6,8)						7,4x rMP (pH=6,8)					
1. par.			2. par.			1. par.			2. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
6,83-6,52	6,68	10,154	6,84-6,54	6,69	10,101	6,77-6,46	6,62	10,909	6,76-6,45	6,61	10,908
6,52-6,23	6,38	8,152	6,54-6,25	6,40	8,161	6,46-6,17	6,32	8,925	6,45-6,16	6,31	8,925
6,23-5,92	6,08	5,988	6,25-5,96	6,11	6,014	6,17-5,88	6,03	6,761	6,16-5,87	6,02	6,761
5,92-5,60	5,76	4,291	5,96-5,67	5,82	4,589	5,88-5,59	5,74	4,708	5,87-5,58	5,73	4,551
5,60-5,28	5,44	3,185	5,67-5,32	5,50	3,241	5,59-5,28	5,44	3,629	5,58-5,28	5,43	3,749
5,28-4,98	5,13	2,696	5,32-5,03	5,18	2,716	5,28-4,99	5,14	3,075	5,28-4,99	5,14	3,075
4,98-4,68	4,83	2,601	5,03-4,73	4,88	2,605	4,99-4,70	4,85	3,048	4,99-4,70	4,85	3,048
4,68-4,39	4,54	2,669	4,73-4,44	4,59	2,674	4,70-4,40	4,55	2,921	4,70-4,40	4,55	2,921
4,39-4,09	4,24	2,633	4,44-4,15	4,30	2,652	4,40-4,11	4,26	2,995	4,40-4,11	4,26	2,995
4,09-3,80	3,95	3,000	4,15-3,84	4,00	2,812	4,11-3,80	3,96	3,122	4,11-3,81	3,96	3,155
3,80-3,50	3,65	3,870	3,84-3,55	3,70	3,717	3,80-3,50	3,65	4,246	3,81-3,52	3,67	4,104

5,7x rMP (pH=6,8)						4,8x rMP (pH=6,8)					
1. par.			2. par.			1. par.			2. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
6,82-6,53	6,68	14,058	6,81-6,52	6,67	14,849	6,85-6,56	6,71	17,200	6,84-6,55	6,70	16,421
6,53-6,23	6,38	12,317	6,52-6,22	6,37	11,547	6,56-6,21	6,39	12,958	6,55-6,24	6,40	14,663
6,23-5,92	6,08	8,699	6,22-5,92	6,07	9,353	6,21-5,91	6,06	9,901	6,24-5,95	6,10	10,634
5,92-5,59	5,76	6,660	5,92-5,57	5,75	6,273	5,91-5,61	5,76	7,176	5,95-5,66	5,81	7,793
5,59-5,27	5,43	4,735	5,57-5,27	5,42	4,689	5,61-5,30	5,46	5,126	5,66-5,37	5,52	5,479
5,27-4,98	5,13	3,911	5,27-4,97	5,12	3,922	5,30-5,00	5,15	4,184	5,37-5,07	5,22	4,527
4,98-4,68	4,83	3,668	4,97-4,68	4,83	3,649	5,00-4,69	4,85	3,999	5,07-4,76	4,92	3,994
4,68-4,39	4,54	3,754	4,68-4,37	4,53	3,766	4,69-4,37	4,53	3,826	4,76-4,45	4,61	3,945
4,39-4,10	4,25	3,572	4,37-4,08	4,23	3,570	4,37-4,07	4,22	4,032	4,45-4,14	4,30	3,897
4,10-3,80	3,95	3,823	4,08-3,78	3,93	3,821	4,07-3,78	3,93	4,393	4,014-3,85	4,00	4,117
3,80-3,50	3,65	4,976	3,78-3,49	3,64	5,001	3,78-3,49	3,64	5,405	3,85-3,54	3,70	5,055

Preglednica XXII: Rezultati določanja pufrskih kapacitet rMP. V prvi vrstici so prikazane redčitve pufrov in njihovi začetni pH-ji. V drugi vrstici so prikazane oznake paralelek. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem stolpcu povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹.

4x rMP (pH=7,7)						8x rMP (pH=7,7)					
1. par.			2. par.			1. par.			2. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,65-7,36	7,51	13,263	7,65-7,36	7,51	14,849	7,66-7,37	7,52	7,834	7,65-7,36	7,51	7,999
7,36-7,07	7,22	20,284	7,36-7,07	7,22	23,091	7,37-7,08	7,23	11,403	7,36-7,07	7,22	11,399
7,07-6,78	6,93	23,279	7,07-6,78	6,93	24,324	7,08-6,79	6,94	13,314	7,07-6,76	6,92	13,152
6,78-6,49	6,64	21,168	6,78-6,49	6,64	20,521	6,79-6,50	6,65	11,360	6,76-6,46	6,61	11,657
6,49-6,19	6,34	15,724	6,49-6,19	6,34	15,504	6,50-6,20	6,35	8,559	6,46-6,04	6,25	7,559
6,19-5,89	6,04	10,359	6,19-5,90	6,05	9,968	6,20-5,79	6,00	5,110	6,04-5,75	5,90	4,466
5,89-5,58	5,74	6,359	5,90-5,61	5,76	6,119	5,79-5,39	5,59	2,592	5,75-5,45	5,60	2,762
5,58-5,26	5,42	3,872	5,61-5,31	5,46	3,801	5,39-5,08	5,24	1,597	5,45-5,14	5,30	1,662
5,26-4,89	5,08	2,371	5,31-4,96	5,14	2,484	5,08-4,79	4,94	1,135	5,14-4,77	4,96	1,109
4,89-4,60	4,75	1,865	/	/	/	4,79-4,48	4,64	1,058	/	/	/
4,60-4,30	4,45	1,736	/	/	/	4,48-4,18	4,33	1,089	/	/	/
4,30-4,00	4,15	2,013	/	/	/	4,18-3,88	4,03	1,356	/	/	/
4,00-3,70	3,85	2,851	/	/	/	3,88-3,59	3,74	2,231	/	/	/
3,70-3,40	3,55	4,499	/	/	/	/	/	/	/	/	/

10x rMP (pH=7,7)								
1. par.			2. par.			3. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,69-7,39	7,54	6,537	7,69-7,40	7,55	6,761	7,64-7,36	7,50	7,000
7,39-7,08	7,24	9,216	7,40-7,10	7,25	9,138	7,36-7,07	7,22	9,453
7,08-6,78	6,93	10,753	7,10-6,81	6,96	10,751	7,07-6,77	6,92	10,765
6,78-6,48	6,63	8,969	6,81-6,51	6,66	8,989	6,77-6,48	6,63	9,288
6,48-6,11	6,30	5,927	6,51-6,20	6,36	6,395	6,48-6,19	6,34	6,828
6,11-5,76	5,94	3,711	6,20-5,88	6,04	4,076	6,19-5,90	6,05	4,493
5,76-5,44	5,60	2,016	5,88-5,57	5,73	2,436	5,90-5,61	5,76	2,748
5,44-5,10	5,27	1,259	5,57-5,28	5,43	1,481	5,61-5,30	5,46	1,728
5,10-4,78	4,94	0,934	5,28-4,97	5,13	1,036	5,30-5,03	5,17	1,186
4,78-4,49	4,64	0,881	4,97-4,59	4,78	0,842	5,03-4,68	4,86	0,912
4,49-4,19	4,34	0,991	4,59-4,30	4,45	0,954	4,32-4,02	4,50	0,909
4,19-3,89	4,04	1,269	4,30-4,01	4,16	1,097	4,02-3,70	4,17	1,058
3,89-3,60	3,75	2,030	4,01-3,71	3,86	1,759	3,70-3,40	3,86	1,644

Preglednica XXIII: Rezultati določanja pufrskih kapacitet rMP. V prvi vrstici so prikazane redčitve pufrov in njihovi začetni pH-ji. V drugi vrstici so prikazane oznake paralelek. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem stolpcu povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹.

12x rMP (pH=7,7)								
1. par.			2. par.			3. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,88-7,58	7,73	3,708	7,62-7,33	7,48	5,931	7,61-7,31	7,46	5,733
7,58-7,29	7,44	6,195	7,33-7,02	7,18	7,736	7,31-7,00	7,16	7,736
7,29-7,00	7,15	8,173	7,02-6,71	6,87	9,023	7,00-6,69	6,85	9,023
7,00-6,71	6,86	8,762	6,71-6,41	6,56	7,593	6,69-6,38	6,54	7,348
6,71-6,40	6,56	7,283	6,41-6,11	6,26	5,232	6,38-6,04	6,21	5,264
6,40-6,10	6,25	5,186	6,11-5,81	5,96	3,695	6,04-5,69	5,87	3,161
6,10-5,74	5,92	3,053	5,81-5,49	5,65	2,065	5,69-5,29	5,49	1,648
5,74-5,31	5,53	1,524	5,49-5,12	5,31	1,185	5,29-4,80	5,05	0,893
5,31-4,99	5,15	0,817	5,12-4,85	4,99	0,810	4,80-4,49	4,65	0,703
/	/	/	4,85-4,54	4,70	0,704	4,49-4,08	4,29	0,796
/	/	/	4,54-4,24	4,39	0,726	4,08-3,79	3,94	1,122
/	/	/	4,24-3,91	4,08	0,987	3,79-3,51	3,65	1,926
/	/	/	3,91-3,63	3,77	1,544	/	3,36	3,443
16x rMP (pH=7,7)								
1. par.			2. par.			3. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,69-7,39	7,54	4,521	7,63-7,35	7,49	4,411	7,58-7,09	7,34	5,462
7,39-7,10	7,25	6,262	7,35-7,06	7,21	6,494	7,09-6,76	6,93	7,198
7,10-6,81	6,96	7,354	7,06-6,76	6,91	7,117	6,76-6,38	6,57	6,106
6,81-6,48	6,65	5,638	6,76-6,44	6,60	5,821	6,38-6,00	6,19	4,206
6,48-6,19	6,34	3,964	6,44-6,13	6,29	4,444	6,00-5,45	5,73	2,052
6,19-5,82	6,01	2,462	6,13-5,80	5,97	2,758	5,45-4,93	5,19	0,864
5,82-5,49	5,66	1,374	5,80-5,51	5,66	1,562	4,93-4,49	4,71	0,509
5,49-5,17	5,33	0,848	5,51-5,15	5,33	0,941	4,49-4,09	4,29	0,559
5,17-4,80	4,99	0,609	5,15-4,78	4,97	0,609	4,09-3,78	3,94	0,864
4,80-4,48	4,64	0,563	/	/	/	3,78-3,49	3,64	1,608
4,48-4,20	4,34	0,642	/	/	/	/	/	/
4,20-3,91	4,06	0,851	/	/	/	/	/	/
10,7x rMP (pH=7,2)								
1. par.			2. par.			3. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,31-7,01	7,16	8,130	7,20-6,90	7,05	8,921	7,22-6,92	7,07	8,921
7,01-6,74	6,88	9,677	6,90-6,61	6,76	8,988	6,92-6,62	6,77	8,689
6,74-6,45	6,60	8,000	6,61-6,27	6,44	6,808	6,62-6,30	6,46	7,234
6,45-6,05	6,25	5,669	6,27-5,96	6,12	4,782	6,30-5,78	6,04	4,351
6,05-5,75	5,90	3,737	5,96-5,60	5,78	3,132	5,78-5,28	5,53	2,237
5,75-5,38	5,57	2,402	5,60-5,26	5,43	1,976	5,28-4,85	5,07	1,550
5,38-5,00	5,19	1,743	5,26-4,98	5,12	1,593	4,85-4,55	4,70	1,475
5,00-4,67	4,84	1,663	4,98-4,6	4,82	1,387	4,55-4,24	4,40	1,421
4,67-4,34	4,51	1,654	4,66-4,36	4,51	1,473	4,24-3,92	4,08	1,711
4,34-4,02	4,18	1,696	4,36-4,06	4,21	1,467	3,92-3,63	3,78	2,251
4,02-3,71	3,87	2,088	4,06-3,77	3,92	1,886	3,63-3,33	3,48	3,588
3,71-3,43	3,57	3,056	3,77-3,46	3,62	2,799	/	/	/

Preglednica XXIV: Rezultati določanja pufrskih kapacitet rMP. V prvi vrstici so prikazane redčitve pufrov in njihovi začetni pH-ji. V drugi vrstici so prikazane oznake paralelek. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem stolpcu povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹.

9,1x rMP (pH=7,3)											
1. par.			2. par.			3. par.			4. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,30-7,02	7,16	10,402	7,30-7,00	7,15	9,501	7,30-7,01	7,16	10,044	7,29-7,01	7,15	10,402
7,02-6,73	6,88	10,548	7,00-6,70	6,85	9,985	7,01-3,73	6,87	10,924	7,01-6,71	6,86	10,196
6,73-6,41	6,57	8,581	6,70-6,39	6,55	8,679	6,73-6,45	6,59	9,010	6,71-6,43	6,57	9,010
6,41-6,04	6,23	6,046	6,39-5,99	6,19	5,482	6,45-6,12	6,29	6,794	6,43-6,10	6,27	6,794
6,04-5,77	5,91	4,097	5,99-5,66	5,83	3,287	6,12-5,83	5,98	4,577	6,10-5,81	5,96	4,577
5,77-5,45	5,61	2,741	5,66-5,32	5,49	1,902	5,83-5,55	5,69	3,133	5,81-5,54	5,68	3,249
5,45-5,11	5,28	1,922	5,32-4,97	5,15	1,226	5,55-5,26	5,41	2,254	5,54-5,25	5,40	2,254
5,11-4,83	4,97	1,549	4,97-4,65	4,81	1,003	5,26-4,93	5,10	1,642	5,25-4,94	5,10	1,747
4,83-4,54	4,69	1,489	4,65-4,30	4,48	0,914	4,93-4,64	4,79	1,488	4,94-4,65	4,80	1,488
4,54-4,26	4,40	1,536	4,30-3,99	4,15	1,028	4,64-4,36	4,50	1,534	4,65-4,37	4,51	1,534
4,26-3,99	4,13	1,586	3,99-3,69	3,84	1,411	4,36-4,09	4,23	1,584	4,37-4,10	4,24	1,584
3,99-3,68	3,84	2,059	3,69-3,41	3,55	2,253	4,09-3,80	3,95	1,834	4,10-3,74	3,92	1,771
3,68-3,35	3,52	3,189	/	/	/	3,80-3,54	3,67	2,439	3,74-3,49	3,62	2,534

9,6x rMP (pH=7,3)					
1. par.			2. par.		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,28-7,00	7,14	8,711	7,29-7,01	7,15	8,711
7,00-6,71	6,86	9,805	7,01-6,70	6,86	9,173
6,71-6,42	6,57	9,534	6,70-6,38	6,54	8,64
6,42-6,02	6,22	5,631	6,38-6,11	6,25	6,703
6,02-5,64	5,83	4,084	6,11-5,81	5,96	4,464
5,64-5,16	5,40	2,284	5,81-5,55	5,68	3,404
5,16-4,81	4,99	1,558	5,55-5,25	5,40	2,198
4,81-4,50	4,66	1,401	5,25-5,00	5,13	1,750
4,50-4,20	4,35	1,441	5,00-4,70	4,85	1,452
4,20-3,91	4,06	1,485	4,70-4,38	4,54	1,356
3,91-3,62	3,77	1,846	4,38-4,08	4,23	1,439
3,62-3,31	3,47	2,739	4,08-3,81	3,95	1,593
/	/	/	3,81-3,55	3,68	2,057

4.5 pH PROFILI IN PUFRSKE KAPACITETE MEDIJEV, DOLOČENE V VMESNIH ČASIH POSKUSOV KONČNE SIMULACIJE pH PROFILOV

V Preglednicah XXV-XXVIII so podani rezultati, kjer smo merili pufrske kapacitete medijev v vmesnih časih med poskusi končne simulacije pH profilov.

Preglednica XXV: Rezultati simulacije nižjih pH profilov. (nadaljevanje preglednice na naslednji strani)

t [min]	pH												
	Msc brez cevke	Msc cevka	MKscA /1	MKscA /2	MKs10 A/1	MKs10 A/2	MKs3,5 A/1	MKs3,5 A/2	MKs20 A/1	MKs20 A/2	MKs60 A/1	MKs60 A/2	MKs60 A/3
0	1,49	1,45	1,45	1,40	1,43	1,42	1,42	1,44	1,45	1,42	1,42	1,43	1,42
1	1,49	1,45	1,45	1,40	1,43	1,42	1,42	1,44	1,45	1,42	1,42	1,43	1,42
2	1,49	1,51	1,53	1,45	1,49	1,49	1,46	1,49	1,55	1,45	1,48	1,48	1,47
2,5	1,53	1,80	1,79	1,56	1,69	1,56	1,65	1,52	1,76	1,58	1,69	1,64	1,64
3	1,84	2,49	2,43	1,88	2,24	1,8	2,08	1,80	2,19	2,07	2,18	1,95	2,02
3,5	2,95	6,04	5,82	3,00	6,01	2,84	4,05	3,72	5,83	3,00	5,59	4,23	2,21
4	6,36	6,26	6,21	6,29	6,29	6,10	/	/	6,23	6,21	6,53	5,83	5,35
4,5	6,44	6,33	6,28	6,33	6,35	6,15	/	/	6,26	6,27	6,54	5,96	6,09
5	6,47	6,36	6,30	6,36	6,40	6,17	/	/	6,28	6,29	6,56	6,00	6,12
5,5	6,48	6,37	6,31	6,36	6,41	6,19	/	/	6,29	6,31	6,57	6,03	6,14
6	6,50	6,38	6,31	6,37	6,42	6,21	/	/	6,31	6,33	6,57	6,06	6,16
6,5	6,52	6,38	6,32	6,37	6,43	6,22	/	/	6,32	6,34	6,58	6,09	6,18
7	6,52	6,39	6,32	6,38	6,43	6,23	/	/	6,33	6,35	6,58	6,13	6,19
8	6,54	6,40	6,34	6,40	6,45	6,26	/	/	6,36	6,36	6,59	6,17	6,22
9	6,56	6,43	6,36	6,41	6,46	6,28	/	/	6,38	6,38	6,61	6,23	6,26
10	6,57	6,43	6,37	6,42	6,47	6,30	/	/	6,40	6,40	6,61	6,26	6,28
12	6,58	6,47	6,40	6,44	/	/	/	/	6,44	6,43	6,62	6,32	6,32
14	6,60	6,48	6,42	6,46	/	/	/	/	6,47	6,46	6,63	6,37	6,36
16	6,62	6,50	6,45	6,48	/	/	/	/	6,49	6,47	6,64	6,41	6,39
18	6,64	6,52	6,46	6,50	/	/	/	/	6,51	6,50	6,65	6,45	6,42
20	6,66	6,54	6,48	6,52	/	/	/	/	6,54	6,52	6,66	6,49	6,46
25	6,68	6,58	6,53	6,56	/	/	/	/	/	/	6,68	6,55	/
30	6,71	6,62	6,57	6,59	/	/	/	/	/	/	6,69	6,60	6,56
35	6,74	6,68	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
40	6,76	6,71	6,64	6,66	/	/	/	/	/	/	6,72	6,68	6,64
45	6,78	6,74	6,68	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
50	6,80	6,78	6,68	6,70	/	/	/	/	/	/	6,74	6,73	6,70
55	6,80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
60	6,82	6,80	6,72	6,73	/	/	/	/	/	/	6,76	6,76	6,73
62	6,83	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
63	6,85	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
64	6,87	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
65	6,90	6,80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
66	6,93	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
70	7,02	6,80	6,74	6,76	/	/	/	/	/	/	/	/	/
72	/	6,81	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
74	/	6,84	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
75	7,14	6,85	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
76	/	6,86	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
80	7,31	6,91	6,76	6,76	/	/	/	/	/	/	/	/	/
85	7,37	6,97	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
90	7,45	7,00	6,76	6,77	/	/	/	/	/	/	/	/	/
95	7,5	7,05	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
100	7,53	7,08	6,76	6,77	/	/	/	/	/	/	/	/	/
102	/	/	6,78	6,77	/	/	/	/	/	/	/	/	/
104	/	/	6,80	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
105	7,57	/	/	6,81	/	/	/	/	/	/	/	/	/
106	/	/	6,83	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
108	/	/	6,87	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
110	7,59	7,12	6,89	6,88	/	/	/	/	/	/	/	/	/
115	7,62	/	6,95	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
120	7,64	7,15	7,00	6,98	/	/	/	/	/	/	/	/	/
125	7,64	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
130	7,65	7,17	7,07	7,05	/	/	/	/	/	/	/	/	/

*nadaljevanje Preglednice XXV

t [min]	pH												
	Msc brez cevke	Msc cevka	MKscA /1	MKscA /2	MKs10 A/1	MKs10 A/2	MKs3,5 A/1	MKs3,5 A/2	MKs20 A/1	MKs20 A/2	MKs60 A/1	MKs60 A/2	MKs60 A/3
135	7,66	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
140	7,66	7,18	7,11	7,09	/	/	/	/	/	/	/	/	/
145	/	7,19	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
150	/	7,19	7,14	7,13	/	/	/	/	/	/	/	/	/
160	/	7,19	7,16	7,15	/	/	/	/	/	/	/	/	/
170	/	/	7,16	7,16	/	/	/	/	/	/	/	/	/
180	/	/	7,17	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Preglednica XXVI: Rezultati simulacije višjih pH profilov.

t [min]	pH											
	Mz brez cevke	Mz cevka	MKzcA/ 1	MKzcA/ 2	MKz50 A/1	MKz50 A/2	MKz20 A/1	MKz20 A/2	MKz10 A/1	MKz10 A/2	MKz3,5 A/1	MKz3,5 A/2
0	3,15	3,15	3,17	3,14	3,13	3,14	3,13	3,13	3,13	3,13	3,12	3,13
1	3,15	3,15	3,19	3,14	3,13	3,14	3,13	3,13	3,13	3,13	3,13	3,13
2	3,16	3,20	3,25	3,16	3,17	3,18	3,20	3,15	3,16	3,16	3,16	3,17
2,5	3,29	3,35	3,36	3,32	3,25	3,31	3,33	3,27	3,27	3,25	3,28	3,32
3	3,46	3,61	3,51	3,56	3,42	3,46	3,62	3,42	3,48	3,41	3,50	3,61
3,5	4,83	4,78	4,40	4,12	4,12	4,13	4,57	4,03	3,96	4,09	4,10	4,13
4	6,56	6,72	6,08	5,99	6,32	6,28	6,55	6,48	6,32	5,72	/	/
4,5	6,71	6,83	6,64	6,53	6,58	6,40	6,75	6,62	6,61	6,50	/	/
5	6,83	6,90	6,75	6,68	6,72	6,58	6,80	6,75	6,74	6,70	/	/
5,5	6,85	6,90	6,83	6,74	6,77	6,67	6,84	6,81	6,78	6,75	/	/
6	6,88	6,91	6,87	6,77	6,80	6,72	6,87	6,84	6,81	6,79	/	/
6,5	6,87	6,91	6,87	6,8	6,82	6,75	6,87	6,84	6,82	6,81	/	/
7	6,88	6,91	6,88	6,82	6,84	6,79	6,87	6,86	6,83	6,82	/	/
8	6,88	6,91	6,89	6,83	6,85	6,80	6,88	6,87	6,84	6,84	/	/
9	6,87	6,90	6,89	6,84	6,85	6,82	6,88	6,88	6,84	6,84	/	/
10	6,88	6,88	6,89	6,85	6,85	6,82	6,87	6,88	6,84	6,84	/	/
12	/	6,88	6,89	/	6,86	6,83	6,87	6,88	/	/	/	/
14	/	6,88	6,89	/	6,85	6,84	6,86	6,87	/	/	/	/
15	/	/	/	6,85	/	/	/	/	/	/	/	/
16	/	/	6,88	/	6,85	6,82	6,86	6,87	/	/	/	/
18	/	/	6,88	/	6,84	6,83	6,85	6,86	/	/	/	/
20	/	/	6,87	/	6,84	6,82	6,84	6,86	/	/	/	/
25	/	/	6,85	/	6,83	/	/	/	/	/	/	/
30	/	/	6,85	6,83	6,82	6,81	/	/	/	/	/	/
35	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
40	/	/	6,84	6,83	6,81	6,81	/	/	/	/	/	/
45	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
50	/	/	6,84	6,81	6,81	6,80	/	/	/	/	/	/
52	/	/	6,85	/	/	/	/	/	/	/	/	/
55	/	/	6,93	6,91	/	/	/	/	/	/	/	/
60	/	/	7,09	7,02	/	/	/	/	/	/	/	/
65	/	/	7,18	/	/	/	/	/	/	/	/	/
70	/	/	7,25	7,22	/	/	/	/	/	/	/	/
75	/	/	7,37	/	/	/	/	/	/	/	/	/
80	/	/	7,41	7,35	/	/	/	/	/	/	/	/
90	/	/	7,50	7,44	/	/	/	/	/	/	/	/
100	/	/	7,56	7,50	/	/	/	/	/	/	/	/
110	/	/	7,61	7,54	/	/	/	/	/	/	/	/
120	/	/	7,64	7,56	/	/	/	/	/	/	/	/
125	/	/	7,64	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Preglednica XXVII: Rezultati simulacije višjih pH profilov.

t [m in]	pH														
	MKz 4B/1	MKz1 0B/1	MKz3, 5C/1	MKz3, 5C/2	MKz3, 5C/3	MKz3, 5C/4	MKz3, 5C/5	MKz3, 5C/6	MKz1 0C/1	MKz1 0C/2	MKz1 0C/3	MKz1 0C/4	MKz1 0C/5	MKz1 0C/6	MKz2 0C/1
0	3,10	3,12	3,20	3,15	3,11	3,12	2,94	3,01	3,16	3,15	3,16	3,17	2,98	3,01	3,11
1	3,10	3,12	3,20	3,15	3,12	3,12	2,95	3,02	3,16	3,15	3,18	3,18	2,98	3,03	3,11
2	3,12	3,14	3,27	3,19	3,14	3,18	3,00	3,07	3,21	3,18	3,21	3,23	3,02	3,07	3,18
2,5	3,20	3,35	3,44	3,26	3,29	3,30	3,08	3,20	3,35	3,32	3,32	3,32	3,08	3,12	3,26
3	3,36	3,44	3,60	3,42	3,42	3,47	3,21	3,40	3,55	3,47	3,51	3,62	3,26	3,23	3,57
3,5	3,75	4,83	4,16	3,90	4,13	3,94	3,83	3,75	4,66	3,99	3,81	4,61	4,35	3,43	4,33
4	5,98	6,37	/	/	/	/	/	/	6,57	6,56	6,72	6,39	6,58	5,81	6,74
4,5	/	6,69	/	/	/	/	/	/	6,75	6,84	6,84	6,86	6,72	6,68	6,82
5	/	6,81	/	/	/	/	/	/	6,80	6,87	6,89	6,94	6,78	6,81	6,86
5,5	/	6,85	/	/	/	/	/	/	6,82	6,89	6,93	6,96	6,81	6,86	6,87
6	/	6,87	/	/	/	/	/	/	6,82	6,89	6,93	6,96	6,82	6,86	6,87
6,5	/	6,86	/	/	/	/	/	/	6,81	6,89	6,93	6,95	6,83	6,88	6,87
7	/	6,86	/	/	/	/	/	/	6,81	6,89	6,92	6,94	6,83	6,88	6,86
8	/	6,86	/	/	/	/	/	/	6,80	6,88	6,92	6,93	6,83	6,88	6,85
9	/	6,85	/	/	/	/	/	/	6,78	6,88	6,91	6,92	6,82	6,89	6,84
10	/	6,85	/	/	/	/	/	/	6,77	6,86	6,91	6,91	6,81	6,87	6,83
12	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,81
14	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,81
16	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,81
18	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,81
20	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,81

Preglednica XXVIII: Rezultati simulacije višjih pH profilov.

t [m in]	pH														
	MKz2 0D/1	MKz3 0D/1	MKz3 0E/1	MKz3 0E/2	MKz3 0E/3	MKz3 0E/4	MKz3 0E/5	MKz3 0E/6	MKz3 0E/7	MKz5 0D/1	MKz5 0E/1	MKz5 0E/2	MKz5 0E/3	MKz5 0E/4	MKz5 0E/5
0	3,16	3,12	3,15	3,15	3,14	3,08	3,11	3,01	3,00	3,12	3,08	3,07	3,05	2,99	2,97
1	3,16	3,13	3,16	3,15	3,15	3,09	3,12	3,01	3,00	3,13	3,08	3,07	3,05	2,99	2,99
2	3,19	3,17	3,22	3,22	3,23	3,17	3,18	3,10	3,07	3,20	3,15	3,12	3,13	3,10	3,04
2,5	3,26	3,28	3,33	3,48	3,35	3,27	3,35	3,21	3,16	3,30	3,32	3,33	3,20	3,31	3,19
3	3,39	3,52	3,51	3,70	3,64	3,53	3,59	3,48	3,35	3,58	3,53	3,54	3,44	3,49	3,31
3,5	3,74	4,52	5,24	6,88	5,75	5,71	6,52	6,05	4,77	4,21	5,94	5,62	6,26	6,22	5,07
4	6,59	6,58	6,83	6,95	6,90	6,88	6,85	6,70	6,51	6,77	6,89	6,80	6,85	6,77	6,60
4,5	6,79	6,83	6,93	6,97	6,98	6,92	6,93	6,84	6,85	6,90	6,94	6,93	6,90	6,85	6,84
5	6,90	6,88	6,93	6,98	6,98	6,93	6,93	6,88	6,86	6,92	6,96	6,96	6,93	6,87	6,88
5,5	6,90	6,89	6,95	/	6,97	6,94	6,93	6,89	6,85	6,92	6,97	6,96	6,93	6,88	6,89
6	6,91	6,88	6,94	6,98	6,97	6,94	6,93	6,89	6,85	6,92	6,97	6,95	6,93	6,89	6,88
6,5	6,93	6,88	6,94	/	6,97	6,94	/	6,88	6,85	6,93	6,97	6,95	6,93	6,89	6,88
7	6,92	6,89	6,94	6,96	6,96	6,93	6,92	6,88	/	6,92	6,96	6,94	6,92	6,88	6,87
8	6,91	6,88	6,92	6,96	6,94	6,92	6,91	6,87	6,85	6,90	6,95	6,94	6,91	6,86	6,86
9	6,90	6,87	6,92	6,95	6,93	6,91	6,91	6,87	6,84	6,89	6,93	6,92	6,89	6,84	6,85
10	6,89	6,85	6,91	6,93	6,92	6,89	6,90	6,86	6,83	6,88	6,92	6,91	6,89	6,84	6,84
12	6,88	6,84	6,90	6,91	6,90	6,87	6,87	6,84	6,82	6,85	6,91	6,88	6,87	6,83	6,83
14	6,87	6,84	6,89	6,91	6,90	6,87	6,88	6,84	6,82	6,85	6,91	6,90	6,87	6,82	6,83
16	6,88	6,85	6,89	6,92	6,91	6,88	6,88	6,85	6,82	6,85	6,92	6,90	6,88	6,83	6,83
18	6,88	6,85	6,89	6,93	6,92	6,89	6,88	6,85	6,83	6,86	6,92	6,91	6,89	6,84	6,84
20	6,90	6,86	6,90	6,93	6,93	6,89	6,89	6,86	6,84	6,86	6,94	6,92	6,90	6,85	6,85
25	/	/	6,91	6,95	6,94	6,91	6,91	6,88	/	6,88	/	/	/	/	/
30	/	6,89	6,91	6,97	6,96	6,93	6,93	6,89	6,87	6,89	6,97	6,95	6,94	6,89	6,88
40	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,90	7,00	6,97	6,97	6,90	/
50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,91	7,01	6,97	6,97	6,90	6,94

V Preglednicah XXIX-XXXI so predstavljeni rezultati pufrskih kapacitet medijev, ki smo jih določili po koncu izvajanja navedenih poskusov.

Preglednica XXIX: Rezultati pufrskih kapacitet medijev po končanih poskusi simulacije nižjega pH profila. V prvi vrstici je prikazan čas trajanja poskusa oz. čas določanja pufrske kapacitete. V drugi vrstici so oznake poskusov. Vsak poskus je bil izveden v dveh paralelkah. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹.

180 minutni poskus			170 minutni poskus			60 minutni poskus						20 minutni poskus		
MKscA/1			MKscA/2			MKs60A/1			MKs60A/2			MKs20A/1		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,16-6,87	7,02	8,41	7,17-6,89	7,03	9,56	6,75-6,45	6,60	12,05	6,71-6,40	6,56	11,79	6,51-6,21	6,36	14,35
6,87-6,56	6,72	8,43	6,89-6,59	6,74	9,46	6,45-6,16	6,31	9,69	6,40-6,11	6,26	9,69	6,21-5,91	6,06	10,05
6,56-6,24	6,40	7,25	6,59-6,28	6,44	8,18	6,16-5,83	6,00	6,93	6,11-5,78	5,95	6,93	5,91-5,57	5,74	6,02

20 minutni poskus			10 minutni poskus						3,5 minutni poskus					
MKs20A/2			MKs10A/1			MKs10A/2			MKs3,5A/1			MKs3,5A/2		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
6,51-6,22	6,37	14,85	6,30-5,89	6,10	12,72	6,47-6,17	6,32	17,38	3,46-3,18	3,32	6,14	3,42-3,14	3,28	7,00
6,22-5,84	6,03	9,12	5,89-5,55	5,72	6,81	6,17-5,87	6,02	12,18	3,18-2,86	3,02	11,11	3,14-2,85	3,00	12,23
5,84-5,42	5,63	5,38	5,55-5,25	5,40	3,81	5,87-5,54	5,71	6,76	2,86-2,54	2,70	20,74	2,85-2,54	2,70	21,36

Preglednica XXX: Rezultati pufrskih kapacitet medijev po končanih poskusih simulacije višjega pH profila. V prvi vrstici je prikazan čas trajanja poskusa oz. čas določanja pufrske kapacitete. V drugi vrstici so oznake poskusov. Poskusi so bili izvedeni enkrat ali v večih paralelkah. Pri posameznem poskusu so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): $\text{mmol L}^{-1} \Delta\text{pH}^{-1}$.

125 minutni poskus			120 minutni poskus			50 minutni poskus						20 minutni poskus		
MKzcA/1			MKzcA/2			MKz50A/1			MKz50A/2			MKz20A/1		
Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Interval i izmerje nih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Interval i izmerje -nih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
7,64-7,37	7,51	7,26	7,59-7,28	7,44	7,87	6,81-6,52	6,67	10,04	6,80-6,52	6,66	11,24	6,84-6,55	6,70	6,35
7,37-7,07	7,22	9,52	7,28-7,00	7,14	10,16	6,52-6,23	6,38	8,57	6,52-6,21	6,37	8,37	6,55-6,26	6,41	5,41
7,07-6,78	6,93	10,35	7,00-6,70	6,85	10,70	6,23-5,93	6,08	6,19	6,21-5,83	6,02	6,06	6,26-5,96	6,11	3,98

20 minutni poskus			10 minutni poskus						3,5 minutni poskus					
MKz20A/2			MKz10A/1			MKz10A/2			MKz3,5A/1			MKz3,5A/2		
Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Interval i izmerje nih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Interval i izmerje -nih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
6,83-6,52	6,68	6,33	6,85-6,54	6,70	3,19	6,84-6,52	6,68	3,09	4,21-3,65	3,93	0,45	3,99-3,66	3,83	0,53
6,52-6,24	6,38	5,18	6,54-6,25	6,40	2,54	6,52-6,21	6,37	2,38	3,65-3,37	3,51	1,07	3,66-3,37	3,52	1,20
6,24-5,92	6,08	3,73	6,25-5,95	6,10	1,79	6,21-5,92	6,07	1,85	3,37-3,08	3,23	2,22	3,37-3,08	3,23	2,47

4 minutni poskus			10 minutni poskus			20 minutni poskus			20 minutni poskus			30 minutni poskus		
MKz4B/1			MKz10B/1			Mkz20C/1			MKz20D/1			MKz30D/1		
Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Interval i izmerje -nih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
6,25-5,84	6,05	0,24	6,84-6,55	6,70	2,65	6,85-6,55	6,70	12,82	6,91-6,63	6,77	10,40	6,89-6,58	6,74	7,09
5,84-5,51	5,68	0,15	6,55-6,24	6,40	1,99	6,55-6,22	6,39	10,55	6,63-6,34	6,49	8,97	6,58-6,26	6,42	5,99
5,51-5,06	5,29	0,11	6,24-5,92	6,08	1,53	6,22-5,92	6,07	7,56	6,34-6,02	6,18	7,22	6,26-5,97	6,12	4,48

50 minutni poskus			10 minutni poskus											
MKz50D/1			MKz10C/1			MKz10C/2			MKz10C/3			MKz10C/4		
Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Interval i izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Inter- vali izmer- jenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
6,89-6,56	6,73	4,47	6,78-6,48	6,63	10,49	6,87-6,58	6,73	10,85	6,91-6,61	6,76	10,49	6,88-6,60	6,74	11,24
6,56-6,23	6,40	3,69	6,48-6,19	6,34	8,15	6,58-6,29	6,44	8,95	6,61-6,31	6,46	9,41	6,60-6,30	6,45	9,41
6,23-5,85	6,04	2,54	6,19-5,89	6,04	6,19	6,29-6,01	6,15	7,09	6,31-5,96	6,14	6,57	6,30-5,97	6,14	6,97

Preglednica XXXI: Rezultati pufrskih kapacitet medijev po končanih poskusih simulacije višjega pH profila. V prvi vrstici je prikazan čas trajanja poskusa oz. čas določanja pufrske kapacitete. V drugi vrstici so oznake poskusov. Vsak poskus je bil izveden v dveh ali večih paralelkah. Pri posamezni paralelki so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹.

10 minutni poskus						3,5 minutni poskus								
MKz10C/5			MKz10C/6			MKz3,5C/1			MKz3,5C/2			MKz3,5C/3		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
6,85-6,55	6,70	10,49	6,86-6,57	6,72	10,04	4,65-4,35	4,50	0,17	3,90-3,63	3,77	0,56	3,91-3,59	3,75	0,47
6,55-6,23	6,39	8,82	6,57-6,26	6,42	8,39	4,35-3,99	4,17	0,28	3,63-3,33	3,48	1,16	3,59-3,30	3,45	1,03
6,23-5,87	6,05	6,39	6,26-5,94	6,10	6,51	3,99-3,67	3,83	0,62	3,33-3,04	3,19	2,55	3,30-2,97	3,14	2,25

3,5 minutni poskus						30 minutni poskus								
MKz3,5C/4			MKz3,5C/5			MKz3,5C/6			MKz30E/1			MKz30E/2		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
3,89-3,59	3,74	0,58	3,48-3,20	3,34	1,07	3,74-3,47	3,61	0,56	6,91-6,60	6,76	7,09	6,93-6,62	6,78	7,09
3,59-3,30	3,45	1,20	3,20-2,87	3,04	2,25	3,47-3,20	3,34	1,11	6,60-6,28	6,44	5,99	6,62-6,29	6,46	5,81
3,30-3,01	3,74	0,58	2,87-2,54	2,71	5,16	3,20-2,87	3,04	2,25	6,28-6,01	6,15	4,39	6,29-5,99	6,14	4,34

30 minutni poskus														
MKz30E/3			MKz30E/4			MKz30E/5			MKz30E/6			MKz30E/7		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
6,93-6,63	6,78	7,34	6,94-6,63	6,79	7,09	6,90-6,59	6,75	7,09	6,90-6,62	6,76	7,00	6,87-6,57	6,72	7,34
6,63-6,31	6,47	5,99	6,63-6,31	6,47	5,99	6,59-6,28	6,44	6,19	6,62-6,31	6,47	6,20	6,57-6,26	6,42	6,19
6,31-6,03	6,17	4,65	6,31-6,02	6,17	4,49	6,28-6,01	6,15	4,82	6,31-6,03	6,17	4,66	6,26-5,96	6,11	4,73

50 minutni poskus														
MKz50E/1			MKz50E/2			MKz50E/3			MKz50E/4			MKz50E/5		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{pH}$	β
7,00-6,72	6,86	3,54	6,99-6,69	6,84	3,30	7,00-6,69	6,85	3,19	6,95-6,67	6,81	3,54	6,93-6,66	6,80	3,67
6,72-6,40	6,56	3,06	6,69-6,36	6,53	2,97	6,69-6,34	6,52	2,80	6,67-6,36	6,52	3,16	6,66-6,34	6,50	3,06
6,40-6,07	6,24	2,21	6,36-6,03	6,20	2,21	6,34-5,98	6,16	2,03	6,36-6,05	6,21	2,36	6,34-6,03	6,19	2,36

4.6 KONČNI pH PROFILI

V Preglednici XXXII so prikazani rezultati simulacije končnih višjih in nižjih pH profilov, v Preglednici XXXIII pa rezultati pufrskih kapacitet, določenih po koncu poskusov simulacije končnih višjih pH profilov.

Preglednica XXXII: Rezultati simulacije končnih višjih (MKzFIN) in nižjih (MKsFIN) pH profilov. Za vsak profil smo naredili po pet paralelek. Prikazana so tudi povprečja paralelek za višji in nižji pH profil. *(nadaljevanje preglednice na naslednji strani)*

t [min]	pH											
	MKzFIN /1	MKzFIN /2	MKzFIN /3	MKzFIN /4	MKzFIN /5	Povpr. MKzFIN/ 1-5	MKsFIN /1	MKsFIN /2	MKsFIN /3	MKsFIN /4	MKsFIN /5	Povpr. MKsFIN/ 1-5
0	3,03	3,04	3,00	3,04	2,94	3,01	1,34	1,32	1,33	1,34	1,32	1,33
1	3,03	3,04	3,01	3,05	2,95	3,02	1,34	1,32	1,33	1,34	1,32	1,33
2	3,06	3,10	3,06	3,07	2,99	3,06	1,36	1,36	1,35	1,39	1,34	1,36
2,5	3,13	3,21	3,21	3,21	3,05	3,16	1,40	1,44	1,51	1,55	1,38	1,46
3	3,23	3,56	3,30	3,31	3,15	3,31	1,62	1,62	1,74	2,04	1,74	1,75
3,5	3,44	5,09	4,36	3,49	3,52	3,98	2,21	2,74	2,55	2,90	2,59	2,60
4	6,34	6,50	6,58	6,37	6,55	6,47	6,18	6,17	6,12	6,11	6,06	6,13
4,5	6,67	6,74	6,78	6,70	6,70	6,72	6,32	6,20	6,18	6,19	6,14	6,21
5	6,80	6,83	6,81	6,84	6,73	6,80	6,38	6,23	6,24	6,23	6,17	6,25
5,5	6,81	6,87	6,85	6,85	6,78	6,83	6,42	6,26	6,26	6,26	6,21	6,28
6	6,84	6,87	6,85	6,87	6,80	6,85	6,45	6,30	6,30	6,28	6,25	6,32
6,5	6,84	6,87	6,86	6,87	6,81	6,85	6,47	6,30	6,31	6,30	6,27	6,33
7	6,85	6,88	6,86	6,88	6,81	6,86	6,48	6,32	6,34	6,32	6,31	6,35
8	6,85	6,88	6,86	6,88	6,81	6,86	6,53	6,37	6,36	6,37	6,36	6,40
9	6,84	6,88	6,84	6,87	6,81	6,85	6,54	6,41	6,39	6,39	6,39	6,42
10	6,84	6,87	6,84	6,86	6,80	6,84	6,56	6,44	6,42	6,42	6,43	6,45
12	6,83	6,86	6,83	6,85	6,78	6,83	6,59	6,47	6,46	6,46	6,45	6,49
14	6,83	6,85	6,83	6,85	6,78	6,83	6,61	6,49	6,48	6,48	6,46	6,50
16	6,83	6,86	6,83	6,86	6,79	6,83	6,62	6,51	6,49	6,49	6,48	6,52
18	6,84	6,87	6,83	6,87	6,79	6,84	6,63	6,52	6,51	6,51	6,50	6,53
20	6,85	6,89	6,84	6,88	6,80	6,85	6,64	6,54	6,52	6,52	6,56	6,56
25	6,87	/	/	/	/	6,87	/	/	/	6,55	6,62	6,59
30	6,89	6,93	6,87	6,91	6,86	6,89	6,71	6,61	6,59	6,59	6,67	6,63
40	6,90	6,95	6,90	6,93	6,88	6,91	6,77	6,67	6,65	6,65	6,71	6,69
50	6,91	6,97	6,90	6,94	6,88	6,92	6,82	6,72	6,69	6,70	6,74	6,73
60	6,92	6,98	6,89	6,94	6,87	6,92	6,85	6,76	6,74	6,75	6,77	6,77
70	6,90	6,98	6,87	6,93	6,87	6,91	6,89	6,80	6,78	6,77	6,78	6,80
80	6,89	6,99	6,85	6,92	6,87	6,90	6,90	6,83	6,81	6,80	6,79	6,83
90	6,87	6,95	6,83	6,91	6,87	6,89	6,92	6,84	6,84	6,82	6,80	6,84
100	6,87	6,94	6,83	6,90	6,86	6,88	6,94	6,86	6,85	6,83	6,82	6,86
110	6,86	6,90	6,82	6,90	6,86	6,87	6,94	6,87	6,86	6,83	6,84	6,87
120	6,85	6,87	6,83	6,89	6,85	6,86	6,94	6,86	6,87	6,84	6,85	6,87
130	6,85	6,86	6,82	6,89	6,85	6,85	6,94	6,87	6,89	6,84	6,85	6,88
140	6,85	6,85	6,82	6,90	6,85	6,85	6,94	6,87	6,89	6,85	6,85	6,88
150	6,85	6,85	6,83	6,90	6,85	6,86	6,94	6,87	6,89	6,85	6,85	6,88
160	6,83	6,83	6,83	6,90	6,85	6,85	6,94	6,87	6,88	6,85	6,85	6,88
170	6,83	6,83	6,83	6,90	6,84	6,85	6,94	6,87	6,87	6,85	6,85	6,88
180	6,83	6,83	6,83	6,90	6,83	6,84	6,94	6,87	6,87	6,85	6,85	6,88
182	/	6,92	6,88	/	6,89	6,90	6,97	6,91	6,91	/	6,87	6,92
182,5	/	7,02	7,02	7,08	6,97	7,02	7,02	6,96	6,98	/	6,97	6,98
183	/	/	7,15	7,16	7,06	7,12	7,07	7,03	7,03	/	7,03	7,04
183,5	/	7,21	7,20	7,24	7,15	7,20	7,11	7,08	7,08	/	7,08	7,09
184	/	7,30	7,23	7,32	7,20	7,26	7,14	7,13	7,15	/	7,13	7,14
184,5	/	7,33	7,30	7,37	7,26	7,32	7,17	7,14	/	/	7,14	7,15
185	/	/	/	7,40	/	7,40	7,19	7,16	7,16	/	7,16	7,17
185,5	/	/	/	/	/	/	7,22	/	/	/	/	7,22
186	/	/	/	7,45	7,30	7,38	7,23	7,19	/	/	7,20	7,21
186,5	/	7,45	7,41	/	/	7,43	/	/	/	/	/	/
187	/	/	/	/	7,40	7,40	7,25	7,21	/	/	/	7,23
187,5	/	/	/	7,50	/	7,50	/	/	/	/	/	/
188	/	/	/	/	/	/	7,26	7,22	/	/	/	7,24
189	/	/	/	/	/	/	7,27	/	/	/	/	7,27
190	7,53	7,55	7,49	7,55	7,42	7,51	7,28	7,24	7,23	6,84	7,26	7,17

*nadaljevanje Preglednice XXXII

t [min]	pH											
	MKzFIN /1	MKzFIN /2	MKzFIN /3	MKzFIN /4	MKzFIN /5	Povpr. MKzFIN/ 1-5	MKsFIN /1	MKsFIN /2	MKsFIN /3	MKsFIN /4	MKsFIN /5	Povpr. MKsFIN/ 1-5
192	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,87	/	6,87
192,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	6,99	/	6,99
193	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,02	/	7,02
193,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,08	/	7,08
194	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,13	/	7,13
194,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,15	/	7,15
195	/	7,61	/	/	/	7,61	/	/	/	7,18	/	7,18
195,5	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,20	/	7,20
196	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,21	/	7,21
197	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,24	/	7,24
198	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,25	/	7,25
199	/	/	/	/	/	/	/	/	/	7,26	/	7,26
200	7,61	7,63	7,59	7,63	7,56	7,60	7,30	7,25	7,24	7,27	7,29	7,27
210	7,64	7,66	7,61	7,65	7,59	7,63	7,30	7,25	7,25	7,29	7,29	7,28
220	7,64	7,67	7,62	7,67	7,60	7,64	7,30		7,26	7,29	7,29	7,29
230	7,64	7,68	7,62	7,66	7,60	7,64	/	/	/	7,29	7,29	7,29
240	7,68	/	7,63	7,67	7,60	7,65	/	/	/	7,29	/	7,29
250	/	/	/	7,67	/	7,67	/	/	/	/	/	/

Preglednica XXXIII: Rezultati pufrskih kapacitet medijev po koncu poskusov simulacije višjega pH profila. V prvi vrstici je prikazan čas trajanja poskusa oz. čas določanja pufrske kapacitete. V drugi vrstici so oznake poskusov. Pri posameznem poskusu so prikazani trije stolpci, v prvem stolpcu so prikazani intervali izmerjenih pH, v drugem povprečne vrednosti pH med posameznimi intervali izmerjenih pH, v tretjem stolpcu pa izračunane pufrske kapacitete. Enota pufrske kapacitete (β): $\text{mmol L}^{-1} \Delta\text{pH}^{-1}$.

240 minutni poskus			230 minutni poskus			240 minutni poskus			250 minutni poskus			240 minutni poskus		
MKzFIN/1			MKzFIN/2			MKzFIN/3			MKzFIN/4			MKzFIN/5		
Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β	Intervali izmerjenih pH	$\overline{\text{pH}}$	β
7,68-7,38	7,53	6,54	7,68-7,38	7,53	6,54	7,64-7,32	7,48	6,13	7,68-7,37	7,53	6,33	7,71-7,39	7,55	6,13
7,38-7,01	7,20	8,35	7,38-7,04	7,21	8,40	7,32-7,03	7,18	9,05	7,37-7,08	7,23	8,25	7,39-7,10	7,25	8,25
7,01-6,70	6,86	8,94	7,04-6,74	6,89	9,26	7,03-6,74	6,89	9,60	7,08-6,79	6,94	9,62	7,10-6,81	6,96	9,62

5 RAZPRAVA

Pri testih sproščanja je razvoj biološko relevantnih medijev za oceno obnašanja farmacevtskih oblik v GIT *in vitro* zelo izboljšal sposobnost predvidevanja njihovega obnašanja *in vivo* [3]. Ko se zdravilne učinkovine sprostijo iz trdne peroralne farmacevtske oblike, morajo prestat raztapljanje v tekočinah GIT, preden se lahko absorbirajo in dosežejo sistemski krvni obtok. Hitrost, obseg raztapljanja ter absorpcija zdravilnih učinkovin so odvisne od karakteristik učinkovin (pKa, kristalna oblika, topnost), kot tudi od lastnosti farmacevtske oblike. Prav tako so pomembne karakteristike fiziološkega okolja: vrsta pufrov, njihove pufrske kapacitete, pH, osmolalnost, sestava žolčnih soli, površinska napetost, aktivnost pepsina, hitrost praznjenja želodca, črevesna peristaltika ter hidrodinamika, ki bistveno vplivajo na raztapljanje in absorpcijo. Pufrska kapaciteta je bistvenega pomena za karakteristike raztapljanja ionizirajočih spojin. Odvisna je od vrednosti pH, pKa ter od koncentracije pufra [3, 27]. V magistrski nalogi smo se odločili, da bomo raziskali, kakšne so vrednosti puferskih kapacitet tekočin v prebavnem sistemu *in vivo*. Poiskali smo literaturo, kjer so merili pufersko kapaciteto človeških črevesnih tekočin v stanju na tešče (Preglednica XXXV).

Preglednica XXXIV: Literaturni podatki o pH vrednostih in puferskih kapacitetah tekočin prebavnega trakta *in vivo*, ki smo jih uporabili pri razvoju pH profilov z ustreznimi puferskimi kapacitetami. Z * so označene vrednosti, odčitane iz kvantilnih diagramov (glej poglavje 1.2.2, Slika 5) s pomočjo programa Plotly [23].

Del GIT		Referenca	pH	β
Želodec	Mediana	Kalantzi [3]	2,4 (20 min po aplikaciji H ₂ O) 1,7 (40 in 60 min po aplikaciji H ₂ O)	7 (20 min po aplikaciji H ₂ O) 18 (40 in 60 min po aplikaciji H ₂ O)
	Povprečna vrednost		3,2* (20 min po aplikaciji H ₂ O) 2,6* (40 min po aplikaciji H ₂ O) 2,3* (60 min po aplikaciji H ₂ O)	10* (20 min po aplikaciji H ₂ O) 19* (40 min po aplikaciji H ₂ O) 21* (60 min po aplikaciji H ₂ O)
Duodenum	Mediana	Kalantzi [3]	6,2	5,6
	Povprečna vrednost		5,7*	7,8*
	Območje	Perez [4]	5,3-8,1 [10, 12, 24]	4-13
Jejunum	Individualne vrednosti	Fada [6]	6,3; 7,1; 7,4; 7,5	1,7; 4,5; 2,7; 4
	Povprečna vrednost $\pm$ SD		7,08 $\pm$ 0,54	3,23 $\pm$ 1,26
		Persson [5]	7,5	2,4 2,8
Ileum	Individualne vrednosti	Fada [6]	7,75	6,4

Odločili smo se, da bomo naredili dva pH profila, enega na spodnjih in enega na zgornjih fizioloških mejah pH vrednosti prebavnega trakta. Z nižjim pH profilom (1 $\rightarrow$ 5,5 $\rightarrow$ 6,8 $\rightarrow$ 7-

7,5) smo simulirali spodnje fiziološke vrednosti, z višjim pH profilom (3→6,5→6,8→7,5-8) pa zgornje fiziološke vrednosti pH za želodec→duodenum→jejunum→ileum. Vrednosti puferskih kapacitet in pH-jev *in vivo* (Preglednica XXXV), pri katerih so bile puferske kapacitete določene, smo primerjali s puferskimi kapacitetami različno redčenih McIlvainovih pufrov (rMP). Po izbiri najustreznejših koncentracij rMP, smo se odločili, da bomo z izbranimi rMP simulirali višje pH profile in se bomo z ustreznimi menjavami medijev znotraj profilov poskušali čim bolj približati pogojem *in vivo*. V različnih časih poskusov simulacije višjih pH profilov smo primerjali kapacitete medijev z vrednostmi *in vivo*. Postopoma smo prišli do kombinacije rMP, s katero smo se najbolj približali pogojem *in vivo* v posameznih delih GIT. Na osnovi izbranih kombinacij rMP, ki smo jih uporabili v različnih časovnih intervalih, smo naredili oba končna pH profila, nižjega in višjega.

5.1 OPTIMIZACIJA TEHNIČNIH PARAMETROV

5.1.1 URAVNAVANJE PRETOKA NA PRETOČNEM SISTEMU

Preden smo začeli uravnavati pretoke, smo cevke z vpenjalnima vijakoma privili čim bolj v desno. Pri tem smo pazili, da jih nismo privili pretesno, da ne bi preprečili črpanja. Na začetku smo dobili nekoliko višje pretoke od željenih, zato smo s postopnim popuščanjem vijakov te pretoke znižali, kot je prikazano v Preglednici XIV v poglavju 4.1. Opazili smo, da smo pri določenih poskusih, pri enakih vrtljajih na obeh cevkah, dobili različna znižanja ali zvišanja pretokov na dovodnih in odvodnih cevkah. Tak primer je poskus P14, kjer smo pri enakih vrtljajih na odvodni in dovodni cevki, na odvodni cevki dobili precej večje zvišanje pretoka. Vzrok te napake je verjetno pri obračanju vijakov, ki niso bili vedno enaki. Enakost obratov vrtljajev je bilo zelo težko zagotoviti, saj na vijakih ni bilo posebnih oznak. Zato smo se orientirali po črticah na vijaku. Pri vrtenju vijaka za $\frac{1}{2}$ smo vijake približno zavrteli za polovico (180° obrata vijaka), pri vrtenju vijaka za $\frac{1}{4}$ pa smo se orientirali na črtice na vijaku, tako da smo vijak zavrteli za približno 4 ali 5 črtic. Pri nekaterih poskusih se je pretok kljub popuščanju vijakov zvišal (P11 in P25). Včasih se je zgodilo, da smo cevke pri uravnavanju pretokov preveč popustili, zato v njih ni bilo več ustreznega podtlaka v cevkah, ki je omogočal črpanje. Takrat smo cevke znova privili v desno in ponovno začeli z uravnavanjem pretokov.

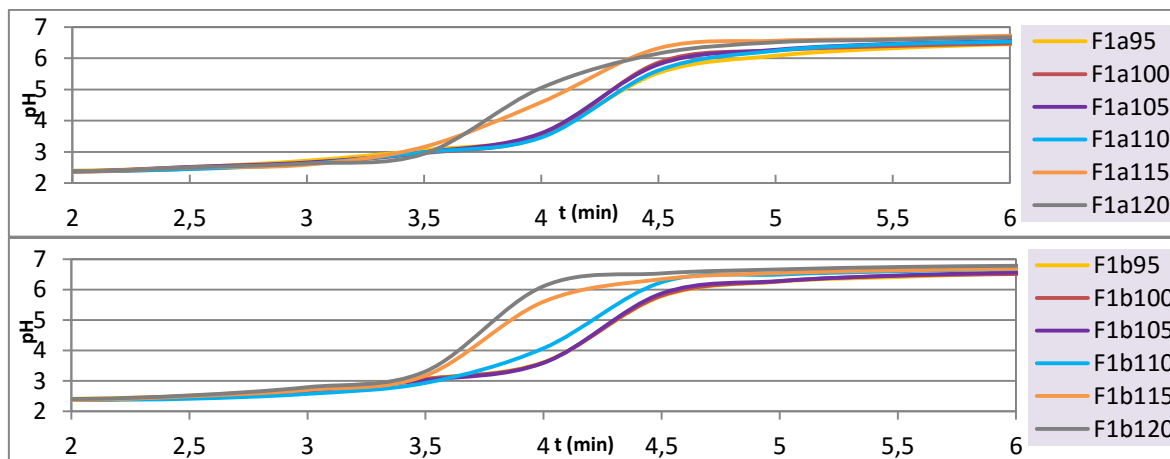
Na obeh sistemih smo se približali pretoku 2 mL/min z minimalnimi variabilnostmi ($\pm 0,01$ mL/min). Pretoke smo morali redno preverjati, vsak dan pred začetkom poskusov simulacije pH profilov, pa tudi med samimi poskusi. To smo naredili s tehtanjem valjem, kot je opisano

v poglavju 3.3.1. Med poskusi smo pretoke preverjali tako, da smo spremljali nivo medija v delovni čaši in nivo medija v zbirnem merilnem valju. Če je prišlo do odstopanj pretoka, smo ga ponovno uravnali.

5.1.2 PRIMERJAVA SISTEMOV IN VPLIV HITROSTI MEŠANJA NA pH PROFILE

Primerljivost med celotnima sistemoma A1-3/B1 in G1/B2 smo preverili s fosfatnimi pufri, katere smo uporabili predvsem zaradi lažje in enostavnejše priprave v primerjavi z redčenimi McIlvainovimi pufri (rMP). Najprej smo preverili primerljivost med pretoki na obeh sistemih, nato pa še vpliv hitrosti mešanja (število obratov v delovni čaši) na pH profil.

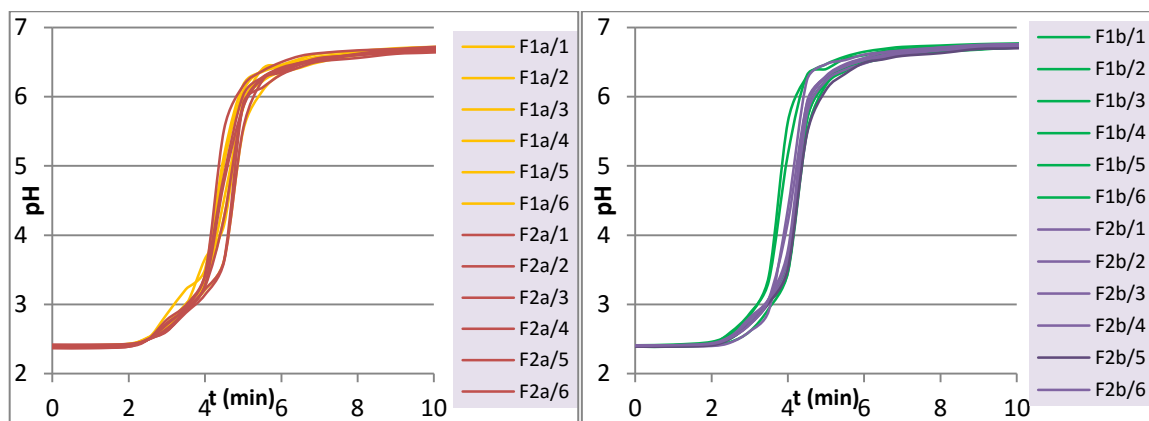
Naredili smo pH profile, s katerimi smo simulirali prehod v duodenum. Na vsakem sistemu smo naredili 6 različnih pH profilov, ki so se med sabo razlikovali v času dovajanja raztopine TNAF. Vsak poskus je bil izveden pod enakimi pogoji na obeh sistemih. S tem smo preverili, kakšne so razlike med poskusi na dveh različnih sistemih. Iz Slike 9 vidimo, da smo pri poskusih z enakimi časi dovajanja raztopine TNAF, dobili različne skoke pH pri simulaciji prehoda v duodenum na sistemu A1-3/B1 in G1/B2. Večje razlike (časovni zamik pri skoku pH v duodenum) med posameznimi poskusi pa so bile na sistemu G1/B2.



Slika 9: pH profili, ki ponazarjajo različne dvige vrednosti pH v duodenumu na sistemu A1-3/B1 (oznaka a v legendi poskusov, zgornja slika) in na sistemu G1/B2 (oznaka b v legendi poskusov, spodnja slika). Zadnja številka v oznaki poskusa prikazuje čas dovajanja raztopine TNAF.

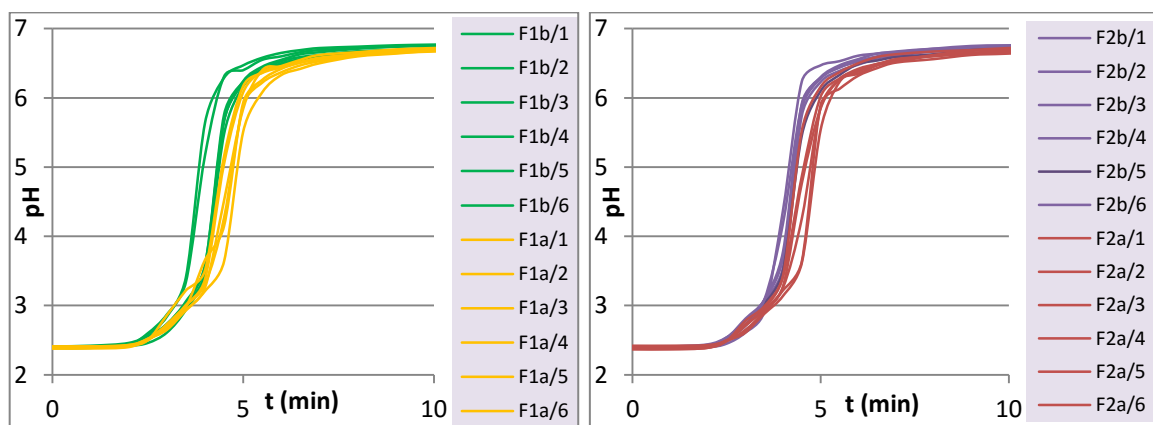
Za bolj nazorno primerjavo med sistemi smo na vsaki aparaturi naredili paralelke poskusov, kjer smo za čas dovajanja TNAF izbrali 100 sekund. Najprej smo naredili primerjavo med profili pri različnih hitrostih mešanja, tako da smo na vsakem sistemu naredili po 6 paralelek pri 80 RPM in 6 paralelek pri 140 RPM. Iz Slike 10 je razvidno, da bistvenih razlik med poskusi z enakimi in z različnimi vrtiljaji ni bilo. Paralelke poskusov so se med sabo

razlikovale tudi pri istih vrtljajih na posameznem sistemu, torej sam sistem ni bil zadosti konstanten, da bi zagotavljal povsem enake ponovitve poskusov.



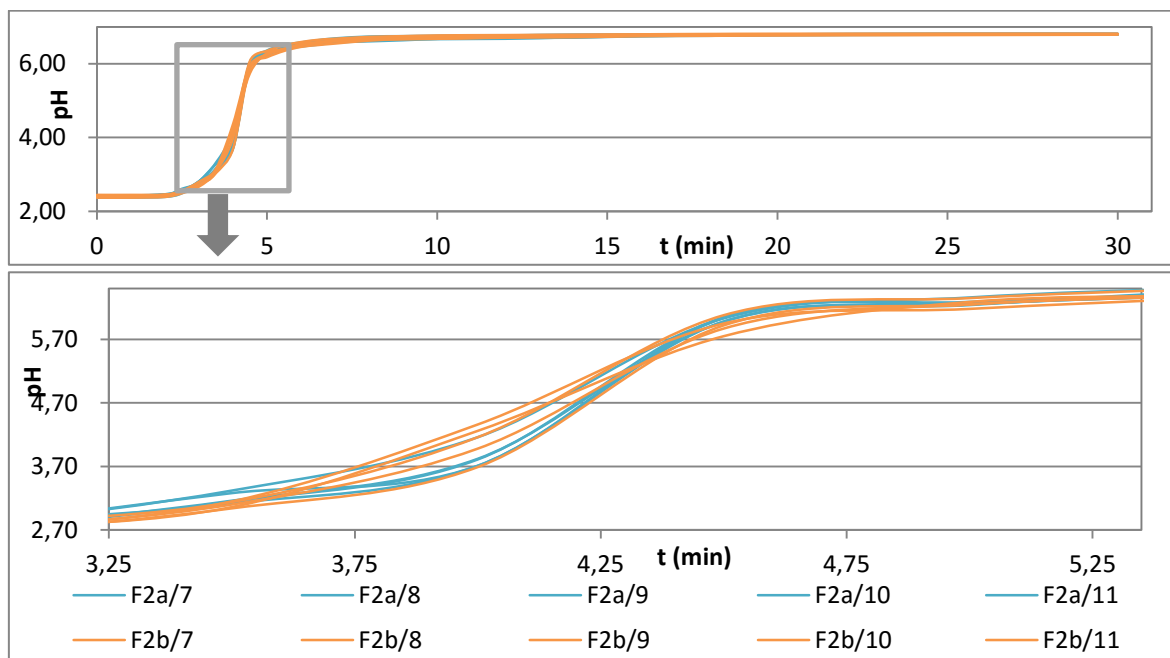
Slika 10: Vpliv hitrosti mešanja na pH profil. *Levo:* na sistemu A1-3/B1 je bilo šest paralelk izvedenih pri 140 RPM (F1a/1-6, rumene krivulje) in šest paralelk pri 80 RPM (F2a/1-6, rdeče krivulje). *Desno:* na sistemu G1/B2 je bilo šest paralelk izvedenih pri 140 RPM (F1b/1-6, zelene krivulje) in šest pri 80 RPM (F2b/1-6, vijolične krivulje).

Pri istih poskusih, kot so prikazani na Sliki 10, smo pri primerjavi enakih RPM na različnih sistemih (Slika 11) ugotovili, da je na sistemu G1/B2 bil ta preskok pri prehodu v duodenum hitrejši (zelene in vijolične krivulje), kar je bila posledica višjega pretoka skozi cevke v primerjavi s pretokom na sistemu A1-3/B1 (rumene in oranžne krivulje). Pred izvedbo nadaljnjih poskusov smo zato najprej uredili pretoke na sistemu G1/B2, tako da smo jih nekoliko zmanjšali, da so bili enaki kot na sistemu A1-3/B1.



Slika 11: Primerljivost pH profilov med sistemoma A1-3/B1 in G1/B2 pri 140 RPM (levo) in pri 80 RPM (desno). *Levo:* šest paralelk pri 140 RPM na sistemu A1-3/B1 (F1a/1-6, rumene krivulje) in na sistemu G1/B2 (F1b/1-6, zelene krivulje). *Desno:* šest paralelk pri 80 RPM na sistemu A1-3/B1 (F2a/1-6, rdeče krivulje) in na sistemu G1/B2 (F2b/1-6, vijolične krivulje).

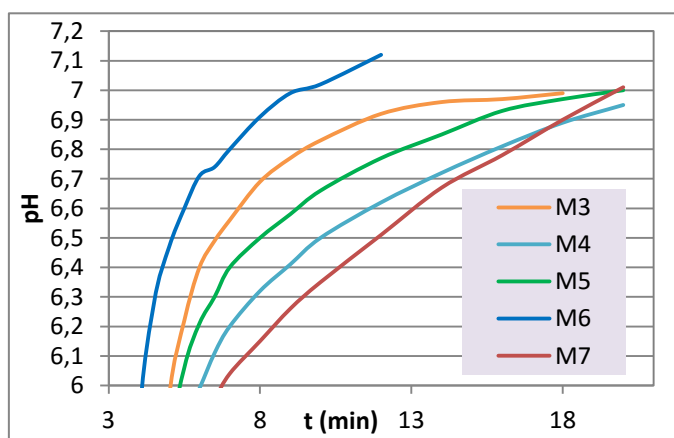
Po ustrezni ureditvi pretokov, smo še enkrat naredili primerjavo med sistemoma s petimi paralelkami poskusov na vsakem sistemu, z 80 RPM v delovni čaši. Iz Slike 12 je razvidno, da je bila primerljivost profilov med sistemoma boljša, vendar sistema še zmeraj nista bila čisto skladna med sabo.



Slika 12: Primerljivost paralelk pH profilov med sistemoma A1-3/B1 (oznaka a v legendi poskusov) in G1/B2 (oznaka b v legendi poskusov). Poskusi so izvedeni pri 80 RPM.

Ugotovili smo, da število obratov ne vpliva na pH profile. Za naprej smo se odločili, da bomo poskuse izvajali pri 80 RPM. Ker sistema nista bila skladna med sabo, smo se odločili, da bomo nadaljne poskuse izvajali le na enem sistemu, na sistemu G1/B2.

5.1.3 UPORABA DODATNE CEVKE V DOVODNI CEVKI



Slika 13: Prikaz strmega naraščanja pH čez plato pri pH 6,8 pri poskusih simulacije nižjega pH profila, ki smo jih izvajali brez uporabe dodatne cevke v dovodni cevki.

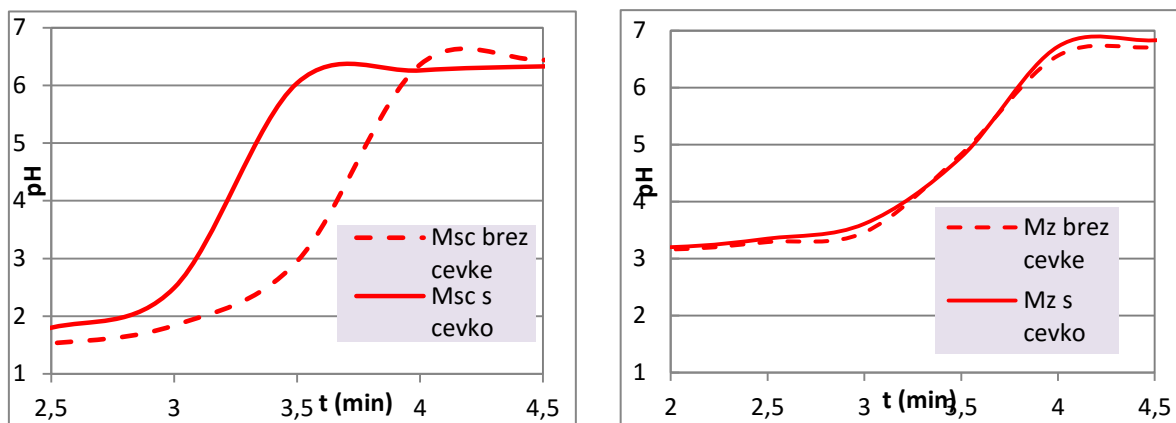
Pri izvajanju nižjih pH profilov z redčenimi McIlvainovimi pufri (rMP) smo ugotovili, da pH-ji strmo naraščajo po simulaciji preskoka pH v duodenumu in se ne ustavijo pri platoju pH 6,8 (Slika 13). Preverili smo pH ostanka rMP, ki smo jih dovajali v sistemu za raztopino 0,61 M TNAF med poskusi simulacije pH profilov. Ugotovili smo, da so bili

pH-ji pufrov, ki so ostali od dovajanja, višji od pH-jev sveže pripravljenih pufrov. Možna vzroka nastale situacije, previsokega porasta pH pri simulaciji poskusov ter višanja pH pufra, sta lahko predolgo dovajanje 0,61 M raztopine TNAF v 0,1 M raztopino HCl pri poskusih M3, M4, M5, M6 in M7 (125 s, 110 s, 120 s, 125 s in 125 s) ali premočna koncentracija 0,61 M raztopine TNAF, ki ostane na dovodni cevki, se pomeša z medijem (rMP), ki se dovaja v naslednji fazi skozi isto dovodno cevko in pride zaradi tega do spremembe pH tega medija.

Vpliv časa dovajanja raztopine TNAF na pH dovajanih pufrov smo preverili s celotnimi poskusi simulacije pH profilov, kjer smo 0,61 M raztopino TNAF dovajali 100 sekund (poglavje 5.2.2). Pri teh poskusih je prišlo do počasnejšega naraščanja pH do platoja pri pH 6,8, vendar so bili izmerjeni pH-ji dovajanih pufrov po koncu njihovega dovajanja še zmeraj višji od pH-jev sveže pripravljenih pufrov. Daljši čas dovajanja raztopine TNAF torej ni bil vzrok za spremembo pH dovajane raztopine.

Sklepamo lahko, da je visoka koncentracija dovajane raztopine TNAF (0,61 M), ki je ostala na dovodni cevki ter se pomešala z naslednjim dovajanim medijem, ki se je črpal preko iste cevke, vplivala na spremembo pH dovajanih medijev. Posledično je bila zaradi tega tudi razlika pri simulaciji prehoda v duodenum. Zato smo se odločili za uporabo dodatne cevke pri izvajanju nižjih pH profilov.

Zanimalo nas je, kako uporaba dodatne cevke vpliva na preskok v duodenumu, zato smo preverili, kakšna je razlika med poskusi s cevko in brez cevke. Na Sliki 14 so prikazani dvigi pH v duodenumu s poskusi brez cevke in s poskusi z uporabo cevke pri simuliranem nižjem in višjem pH profilu. Med poskusi je vidna razlika v začetni hitrosti dviga pH pri simulaciji prehoda v duodenum. Pri poskusih brez cevke, kjer se je raztopina TNAF, ki je ostala na dovodni cevki, pomešala z naslednjim dovajanim medijem, je prišlo kasneje do dviga pH v duodenumu. Iz Slike 14 prav tako vidimo, da pri višjem pH profilu skoraj ni bilo razlike med profiloma, pri nižjem pa je bila razlika med poskusom s cevko in brez nje pri simulaciji dviga pH v duodenum večja.



Slika 14: Poskus simulacije dviga pH v duodenumu z uporabo cevke in brez uporabe cevke za nižji (levo) in višji (desno) pH profil.

Z dodatno cevko smo se uspešno izognili stiku dovodne cevke z začetno dovajano raztopino TNAF. Tako ni prišlo do ostanka raztopine TNAF na dovodni cevki in njenega pomešanja z naslednjim dovajanim medijem ter posledično do spremembe pH dovajanega medija. S tem smo zagotovili bolj čisto in kontrolirano okolje za izvajanje poskusov (hitrejši dvig pH pri simulaciji prehoda v duodenum, Slika 14). Dodatno cevko smo začeli uporabljati pri poskusih, kjer smo medijem med simulacijo pH profilov določali pufrske kapacitete ter pri končnih pH profilih.

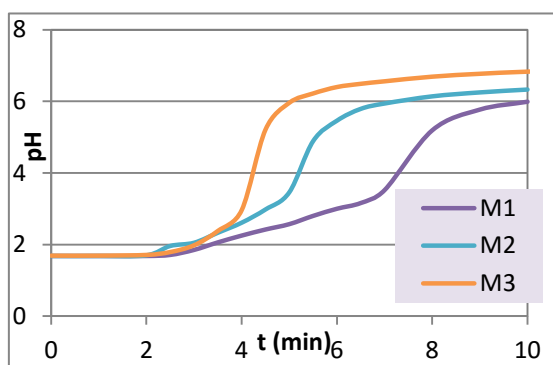
Pri višjih pH profilih, kjer smo uporabili TNAF nižje koncentracije (55 mM), ostanek TNAF na dovodni cevki ni vplival na spremembo pH dovajanega medija, prav tako ni bilo spremembe v pH profilu pri simulaciji dviga pH v duodenum. Ker je bil poskus z uporabo dodatne cevke precej zahteven postopek, se pri nadaljnjih poskusih simulacije višjih pH profilov nismo odločili za uporabo dodatne cevke.

Pri izvedbi poskusa s cevko smo morali biti zelo natančni. Najbolj pomembno je bilo, da smo v raztopino TNAF, ki smo jo črpali, potopili le dodatno cevko, ki je bila vstavljena v dovodno cevko in da ni prišlo do stika dovodne cevke z raztopino. Morebitne napake pri tej izvedbi so bile vidne že takoj na začetku poskusa, in sicer v različnem dvigu pH v duodenumu. Če smo opazili razliko, smo poskus izvedli ponovno. Možni vzroki napak so bili različni: prepozna zamenjava cevke iz raztopine TNAF v raztopino rMP zaradi komplicirane menjave (glej poglavje 3.3.2.3), črpanje zraka zaradi morebitnega premika cevke nad gladino medija, nečista dovodna cevka zaradi neželenega kontakta z medijem. Zato je bilo pomembno, da smo pred začetkom teh poskusov sam postopek menjave (odstranitev majhne cevke s pinceto in pravočasna potopitev dovodne cevke v drugi medij) večkrat preiskusili v prečiščeni vodi.

5.2 SIMULACIJA pH PROFILOV Z MCILVAINOVIMI PUFRI

Pri simulaciji pH profilov smo ugotovili, da moramo biti zelo natančni pri dovajanju raztopine trinatrijevega fosfata dodekahidrata (TNAF), še posebej pri menjavi cevke iz raztopine TNAF v raztopino redčenega McIlvainovega pufra (rMP), saj so že majhne razlike v času dovajanja TNAF povzročile različen dvig pH pri simulaciji prehoda pH v duodenumu. Prav tako je pri menjavi cevke zelo pomembno, da ne pride do črpanja zraka v cevko, zato je potrebna pravočasna menjava cevke. Če smo npr. imeli 100 sekund črpanja TNAF, smo pazili, da je bila cevka pri 100. sekundi že v zamenjanem mediju.

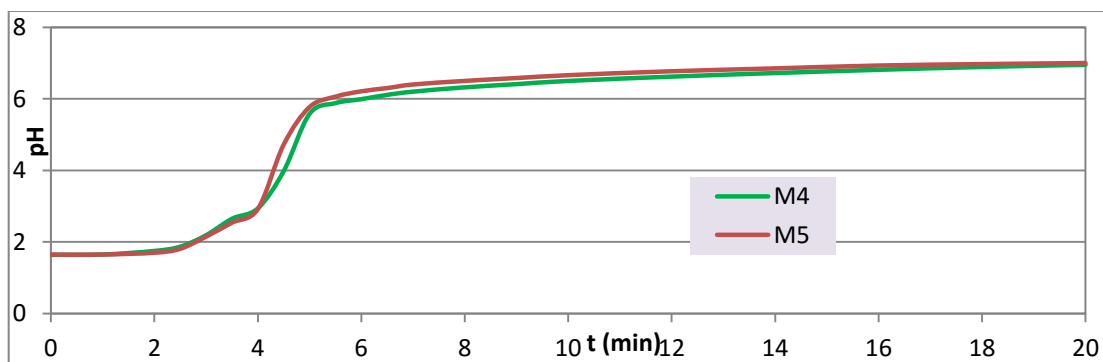
5.2.1 SIMULACIJA PREHODA IZ ŽELODCA V DUODENUM



Slika 15: Vpliv različnega časa dovajanja 0,61 M raztopine TNAF na simulacijo različnih dvigov pH v duodenumu.

S poskusi M1-M3 (Slika 15) smo preiskovali različne preskoke v pH, ki simulirajo prehod v duodenum. Vse poskuse v tem poglavju smo izvajali brez uporabe dodatne cevke. V tej fazi poskusov smo uporabljali približno redčene pufre. V poskusih M1-M3 smo uporabili približno 4-krat rMP. Ko smo dovajali 0,61 M raztopine TNAF v 0,1 M HCl 100 sekund, nismo dosegli ustreznega naraščanja pH profila

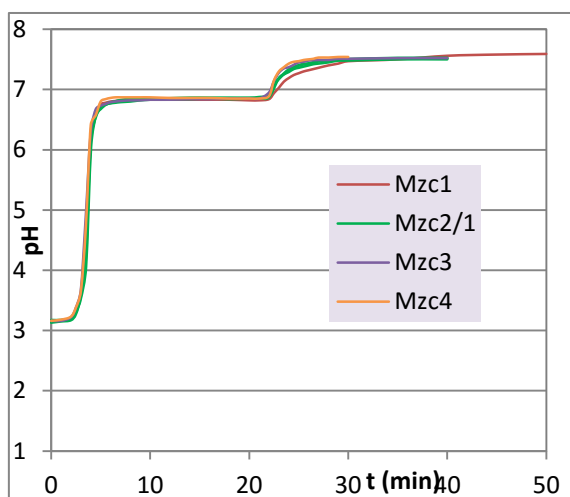
(poskus **M1**), zato smo povečali čas dovajanja TNAF na 115 sekund (poskus **M2**) in 125 sekund (poskus **M3**). Pri daljšem času dovajanja TNAF smo dosegli hitrejši dvig pH v duodenumu. V nadaljevanju (Slika 16) smo želeli ponazoriti še plato pri pH 6,8, vendar nam zaradi težav (naraščanje pH čez plato pri pH 6,8), opisanih v poglavju 5.1.3 to ni uspelo. Tudi iz poskusov M4 in M5 na Sliki 16 je razvidno, da pri daljšem času dovajanja TNAF dosežemo bolj strmo naraščanje pH.



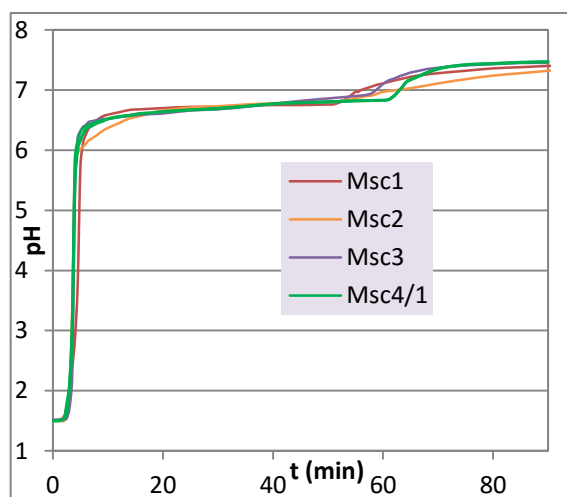
Slika 16: Vpliv različnega časa dovajanja 0,61 M raztopine TNAF (rdeča krivulja-120 s, zelena krivulja-110 s) na simulacijo različnih dvigov pH v duodenumu.

5.2.2 SIMULACIJA NARAŠČANJA pH V JEJUNUMU DO ILEUMA

Nadaljevali smo s simulacijo pH profilov, kjer smo poleg skoka pH v duodenum ter platoja pri pH 6,8 poskušali simulirati še naraščanje pH iz jejunuma ($\text{pH} \approx 6,8$) do ileuma ($\text{pH} \approx 7,5$). Na Slikah 17 in 18 so prikazani poskusi, s katerimi smo se želeli čim bolj približati celotnim višjim in nižjim pH profilom. Raztopino TNAF smo dovajali 100 sekund. Pri nižjih pH profilih, smo začeli z dovajanjem 0,61 M raztopine TNAF v 0,1 M HCl, pri višjih pa smo 7,5 mM raztopino TNAF dovajali v 1,25 mM raztopino HCl. Uporabili smo različne koncentracije rMP za dosego platoja pri pH 6,8 in različne koncentracije rMP s pH 7,5, ki simulirajo prehod v ileum. Iz Slik 17 in 18 vidimo, da je bila variabilnost med nižjimi pH profili nekoliko večja kot med višjimi pH profili. Pri simulaciji prehoda v duodenum in pri platoju pri pH 6,8, lahko to variabilnost pripišemo nečistim pogojem, saj pri teh poskusih še nismo uporabili dodatne cevke v dovodni cevki in je ostanek raztopine TNAF vplival na pH profil.



Slika 17: Vpliv dovajanja različno rMP na celotni višji pH profil.



Slika 18: Vpliv dovajanja različno rMP na celotni nižji pH profil.

Za najbolj optimalne pufre smo izbrali 48,3-krat redčen McIlvainov pufer (rMP) s pH 6,8 (Mzc2/1) ter 3,9-krat rMP s pH 7,5 (Msc4/1).

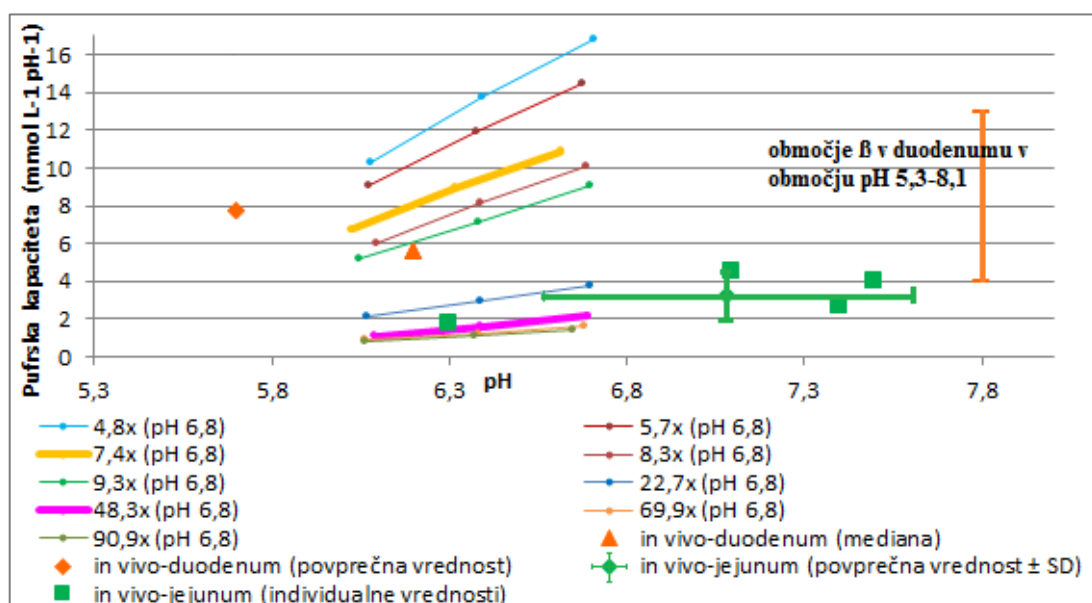
5.3 PUFRSKE KAPACITETE REDČENIH MCILVAINOVIH PUFROV (rMP)

Določili smo puferske kapacitete različno rMP, da bi ugotovili, katere koncentracije pufrov se najbolj približajo vrednostim puferskih kapacitet *in vivo*.

Puferske kapacitete rMP smo določali tako, da smo pufre titrirali z 0,1 M raztopino HCl. Titracije smo izvajali približno do pH 3,5. Ker je najbolj relevantna le prva določena

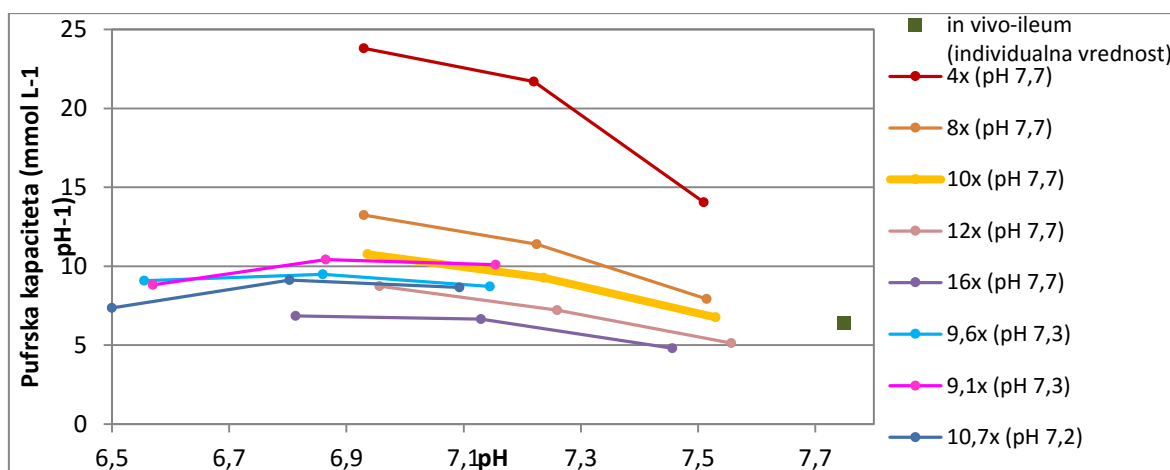
vrednost pufrske kapacitete, smo na grafih označili prve tri določene vrednosti pufrskih kapacitet. Pri naslednjih kapacitetah, ki smo jih določili, je prišlo do redčenja medija in s tem do spremembe njegove sestave, zato tudi te kapacitete niso relevantne.

Okvirno smo pogledali, s katerimi koncentracijami rMP s pH 6,8 se najbolj približamo vrednostim kapacitet v duodenumu ter jejunumu *in vivo*. Iz Slike 19 vidimo, da se vrednostim v jejunumu *in vivo* približamo z nižjimi koncentracijami rMP oziroma z bolj redčenimi pufri s pH 6,8, kot so 22,7-krat redčen, 48,3-krat redčen in 69,9-krat redčen, pufrskim kapacitetam v duodenumu pa z višjimi koncentracijami rMP oz. z manj redčenimi pufri s pH 6,8, kot so 4,8-krat redčen, 5,7-krat redčen, 7,4-krat, 8,3-krat in 9,3-krat. Vrednostim v jejunumu *in vivo* se je najbolj približal 48,3-krat rMP (roza črta), 7,4-krat rMP (rumena črta) pa se je najbolj približal vrednostim v duodenumu *in vivo*. Njegove vrednosti pufrskih kapacitet so bile nekje na sredini med vrednostjo mediane in med povprečno vrednostjo kapacitete *in vivo*, ki sta bili določeni v duodenumu, prav tako so bile znotraj območja določene pufrske kapacitete *in vivo*, med 4 in 13 mmol L⁻¹ ΔpH⁻¹ (označeno z oranžno črto na desni strani Slike 19).



Slika 19: Primerjava vrednosti pufrskih kapacitet duodenuma in jejunuma *in vivo* s kapacitetami rMP različnih koncentracij s pH 6,8 (pri posamezni koncentraciji so na grafu prikazana povprečja paralelki). Oznake za vrednosti pufrskih kapacitet *in vivo*: z oznako ▲ so označene mediane pufrskih kapacitet, z oznako ♦ povprečne vrednosti pufrskih kapacitet, z oznako ■ individualne vrednosti pufrskih kapacitet. Pufre smo titrirali z 0,1 M raztopino HCl. Z odebeljenima črtama so označeni pufri, ki se najbolj približajo vrednostim *in vivo* v duodenumu (rumena) ter v jejunumu (roza).

Za izbiro najbolj primernih rMP z začetno pH vrednostjo 7,7 ter s pH vrednostjo 7,3, smo na enak način kot za pufre s pH vrednostjo 6,8 določili pufrske kapacitete, ki najbolj ustrezajo vrednostim v ileumu *in vivo* (Slika 20). Za ileum imamo le en podatek o vrednosti pufrske kapacitete *in vivo*, zato je težje predvidevati, katere koncentracije pufrov bi bile najbolj ustrezne. Pri pufrih s pH 7,7 lahko predpostavimo, da se kapaciteti *in vivo* najbolj približamo z 10-krat rMP (odebeljena rumena puščica).



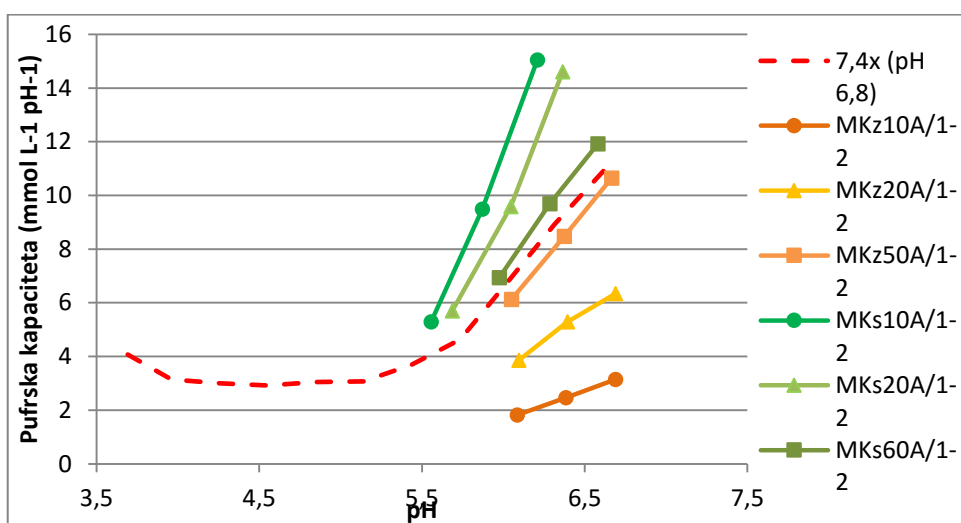
Slika 20: Primerjava puferskih kapacitet različnih koncentracij rMP s pH 7,7 ter s pH 7,2 in 7,3 z vrednostjo pufrske kapacitete ileuma *in vivo* (pri posamezni koncentraciji so na grafu prikazane povprečja paralelek). Pufre smo titrirali z 0,1 M raztopino HCl. Z odebeljeno črto je označen pufer, za katerega predpostavljamo, da se najbolj približa vrednosti v ileumu *in vivo*.

5.4 PUFRSKE KAPACITETE MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV

5.4.1 PRIMERJAVA PUFRSKIH KAPACITET MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV S PUFRSKIMI KAPACITETAMI SVEŽE PRIPRAVLJENEGA PUFRA

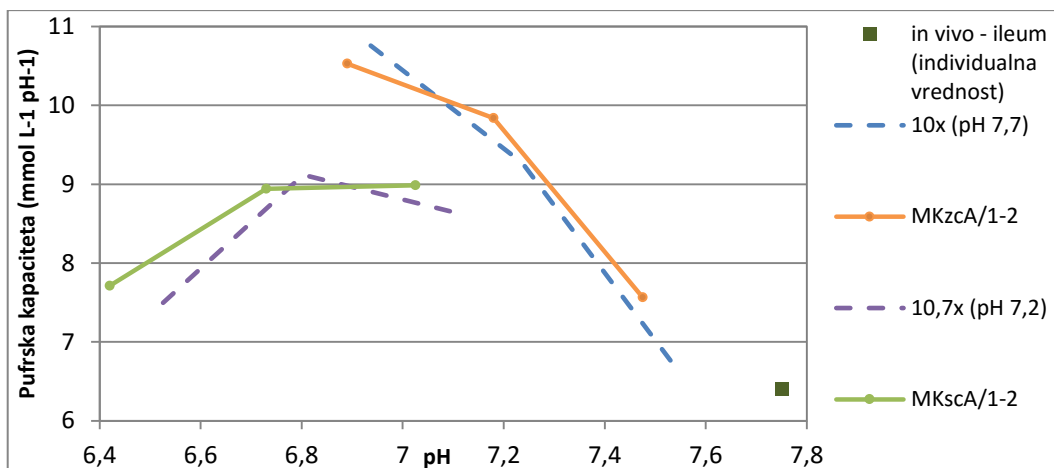
Za izvajanje poskusov simulacije pH profilov smo uporabili rMP, ki smo jih v prejšnjem poglavju izbrali na podlagi tega, pri katerih koncentracijah so bile njihove pufrske kapacitete bližje vrednostim puferskih kapacitet *in vivo*. S temi pufri smo naredili nižji in višji pH profil. Za vzdrževanje platoja pri pH 6,8 smo uporabili 7,4-krat redčen McIlvainov pufer (rMP). Pri simulaciji naraščanja pH iz jejunuma v ileum smo pri nižjem pH profilu uporabili 10,7-krat rMP s pH 7,2, pri višjem profilu pa 10-krat rMP s pH 7,7. Poskuse smo ustavili v različnih časih poskusa in medijem določili pufrske kapacitete. Pufrske kapacitete medijev, določene med in na koncu poskusov simulacije pH profila smo primerjali s puferskimi kapacitetami sveže pripravljenih pufrov, ki smo jih uporabili v poskusih.

Pri primerjavi pufrskih kapacitet 7,4-krat rMP s pH 6,8 (rdeča črtkana črta na Sliki 21) in pufrskih kapacitet medijev, kjer smo po začetnem dovajanju raztopine TNAF v raztopino HCl nadaljevali z dovajanjem 7,4-krat rMP, smo ugotovili, da je bil vpliv raztopine TNAF na vrednosti pufrskih kapacitet največji na začetku poskusov, pri 10. minutah (**MKz10A/1-2**, **MKs10A/1-2**), saj so se te na začetku najbolj razlikovale od kapacitet svežega pufra, vpliv raztopine TNAF pa je padal s časom poskusa (Slika 21). Pri poskusih, kjer smo določili kapaciteto po 50. in 60 minuti poskusov (**MKz50A/1-2** in **MKs60A/1-2**) so bile namreč razlike med kapacitetami medijev in čistega pufra zelo majhne.



Slika 21: Primerjava pufrskih kapacitet 7,4-krat rMP (povprečje 3 paralel-rdeča črtkana črta) in pufrskih kapacitet medijev (povprečje dveh paralel, oznaka /1-2) med poskusom simulacije nižjega (oznaka s, zelene črte) in višjega pH profila (oznaka z, oranžne črte), kjer smo za poskuse uporabili rMP iste koncentracije ter ustrezni raztopini TNAF in HCl za višji in nižji pH profil. Prve številke v oznakah poskusov predstavljajo čas v minutah, ko smo poskuse ustavili in medijem določili pufrske kapacitete. Pufer in medije smo titrirali z 0,1 M HCl.

Pri primerjavi pufrskih kapacitet 10-krat rMP s pH 7,7 ter 10,7-krat rMP s pH 7,2 s pufrskimi kapacitetami medijev po koncu celotnih poskusov simulacije pH profila smo ugotovili, da med njihovimi kapacitetami ni bilo bistvene razlike (Slika 22). Primerjali smo jih tudi z vrednostmi *in vivo* v ileumu. Ker so se pufrske kapacitete medijev po koncu poskusov simulacije pH profilov lepo približale vrednosti *in vivo* in zaradi omenjenih majhnih razlik med kapacitetami svežega pufra in kapacitetami medijev, v poskusih v poglavju 5.4.2. nismo več delali primerjav medijev z vrednostjo ileuma *in vivo*.

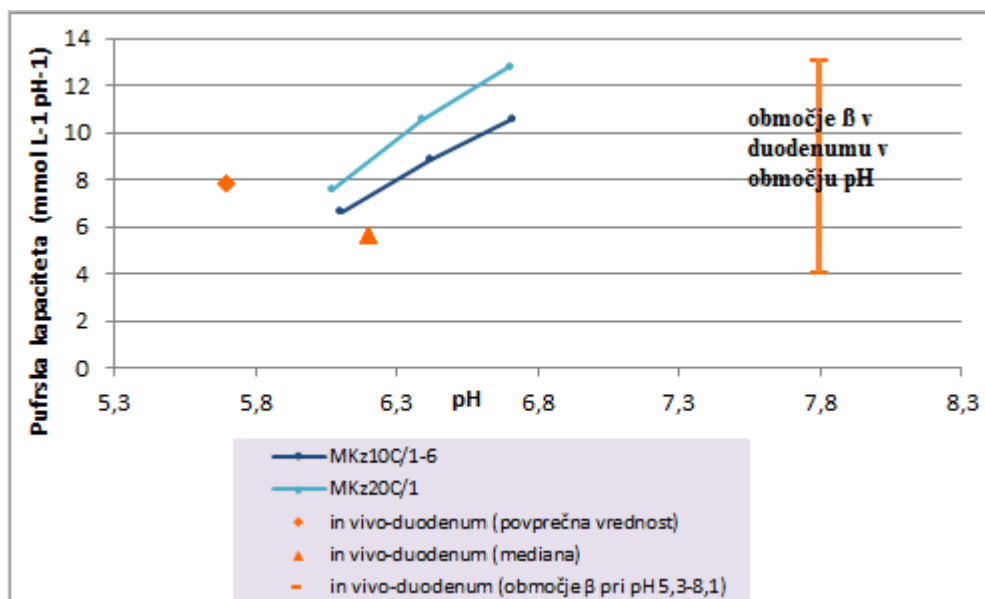


Slika 22: Primerjava puferskih kapacitet rMP s pH 7,7 (modra črtkana črta-povprečje 3 paralelek) ter rMP s pH 7,2 (vijolična črtkana črta-povprečje 3 paralelek), s kapacitetami medijev, ki so bili zadnji dovajani v poskusu simulacije pH profila (povprečje dveh paralelek, oznaka /1-2). Pufre in medije smo titrirali z 0,1 M HCl.

5.4.2 PRIMERJAVA PUFERSKIH KAPACITET MEDIJEV MED POSKUSI SIMULACIJE pH PROFILOV Z VREDNOSTMI *IN VIVO*

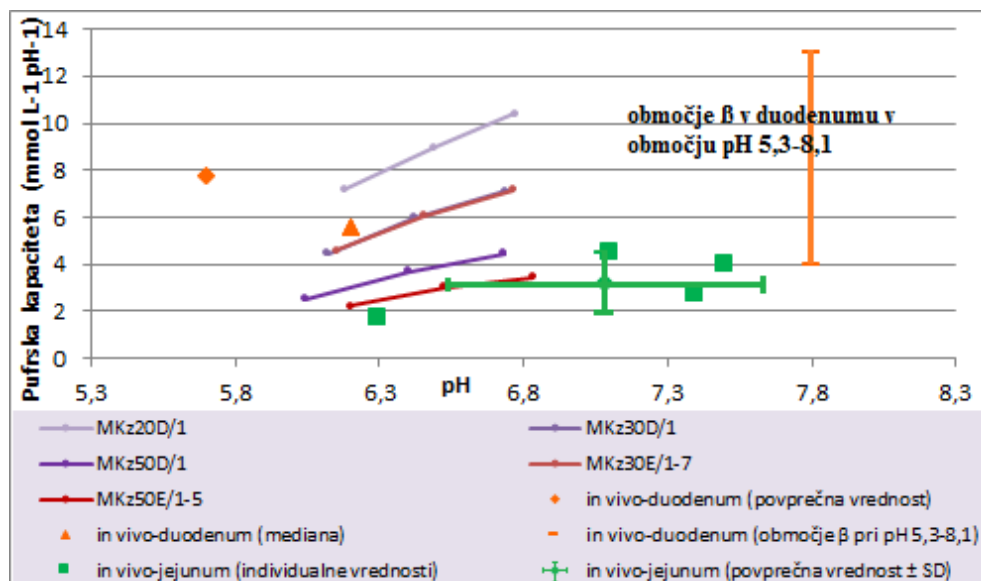
Odločili smo se, da bomo z vrednostmi puferskih kapacitet *in vivo* uskladili puferske kapacitete med simulacijo višjega pH profila, kjer smo v 1,25 mM raztopino HCl 100 sekund dovajali 6,8 mM raztopino TNAF. Koncentracije rMP, ki smo jih dovajali kasneje v poskusu, smo spreminjali, kot je navedeno v nadaljevanju.

Naredili smo primerjavo med puferskimi kapacitetami medijev (določene v 10. in 20. minuti poskusov), ki simulirajo tekočine v duodenumu z vrednostmi puferskih kapacitet v duodenumu *in vivo* (Slika 23). Tu smo želeli, da vrednosti kapacitet medijev med poskusi simulacije pH profilov padejo znotraj območja podatkov *in vivo*. Ti podatki so: povprečna vrednost v duodenumu *in vivo* ($7,8 \text{ mmol L}^{-1} \Delta\text{pH}^{-1}$), vrednost mediane puferske kapacitete v duodenumu *in vivo* ($5,6 \text{ mmol L}^{-1} \Delta\text{pH}^{-1}$), ter območje vrednosti kapacitet v duodenumu *in vivo* med 4 in $13 \text{ mmol L}^{-1} \Delta\text{pH}^{-1}$. Z uporabo 2-krat rMP (modri krivulji) nam je to uspelo, saj kapacitete pri obeh poskusih (MKz10C/1-6 in MKz20C/1) padejo v območje vrednosti *in vivo*.



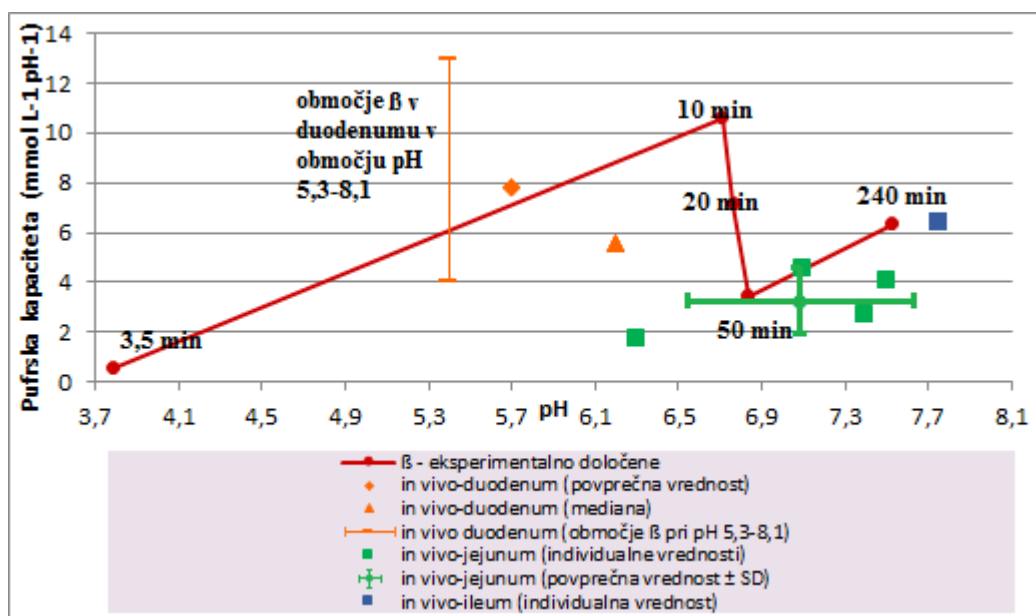
Slika 23: Primerjava pufrskih kapacitet *in vivo* s pufrskimi kapacitetami medijev med simulacijo pH profilov v duodenumu. Oznake za vrednosti pufrskih kapacitet *in vivo*: z oznako ▲ so označene mediane pufrskih kapacitet, z oznako ♦ povprečne vrednosti pufrskih kapacitet. Medije smo titrirali z 0,1 M raztopino HCl.

Pufrske kapacitete v jejunumu *in vivo* so kar precej nižje v primerjavi s kapacitetami duodenuma *in vivo*, zato smo pri višjih pH-jih v nadaljevanju poskusov simulacije pH profilov potrebovali pufre nižjih koncentracij za dosego nižjih kapacitet. Pufer z 2-kratno redčitvijo smo pri poskusih uporabljali do 10. minute, nato smo ga zamenjali s pufrom nižje koncentracije. Najprej smo preizkusili 50-krat redčen pufer (vijolične krivulje). Po 20 in 30 minutah poskusa so se kapacitete medijev še zmeraj nahajale v območju duodenuma *in vivo*, po 50. minuti simulacije poskusa pa so se približale pufrskim kapacitetam jejunuma *in vivo*. Želeli smo dobiti še nekoliko nižje kapacitete v področju jejunuma, ki bi bile še bližje povprečni vrednosti *in vivo* ter individualnim vrednostim jejunuma *in vivo*, zato smo uporabili še dvakrat bolj redčen pufer, in sicer 100-krat rMP (rdeče krivulje). Na Sliki 24 vidimo, da se rdeča krivulja (MKz50E/1-5) dobro približa kapacitetam jejunuma *in vivo*.

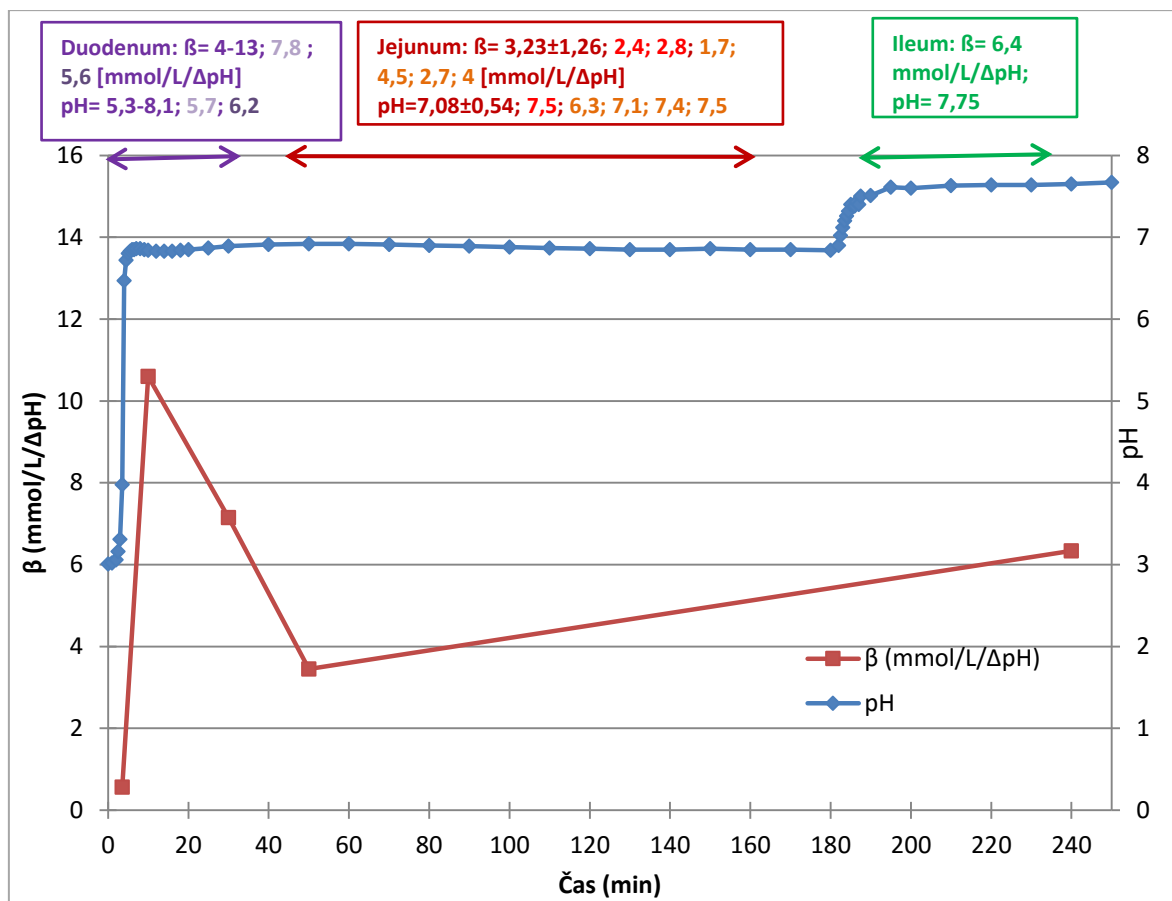


Slika 24: Primerjava puferskih kapacitet *in vivo* s puferskimi kapacitetami medijev med simulacijo pH profilov v duodenumu in jejunumu. Oznake za vrednosti puferskih kapacitet *in vivo*: z oznako ▲ so označene mediane puferskih kapacitet, z oznako ♦ povprečne vrednosti puferskih kapacitet, z oznako ■ individualne vrednosti puferskih kapacitet. Medije smo titrirali z 0,1 M HCl.

Na Slikah 25 in 26 smo želeli prikazati, kako eksperimentalno določene kapacitete v različnih časih poskusov simulacije končnih višjih pH profilov padejo v območje vrednosti puferskih kapacitet prebavnega trakta *in vivo*. Graf eksperimentalno določenih puferskih kapacitet smo narisali iz prvih določenih puferskih vrednosti takoj po prekinitvi poskusov.



Slika 25: Prikaz eksperimentalno določenih puferskih kapacitet v določenih časovnih točkah med poskusi simulacije končnih višjih pH profilov in primerjava z vrednostmi *in vivo*. Zraven posameznih eksperimentalno določenih kapacitet so prikazani časi, pri katerih so bile kapacitete določene.

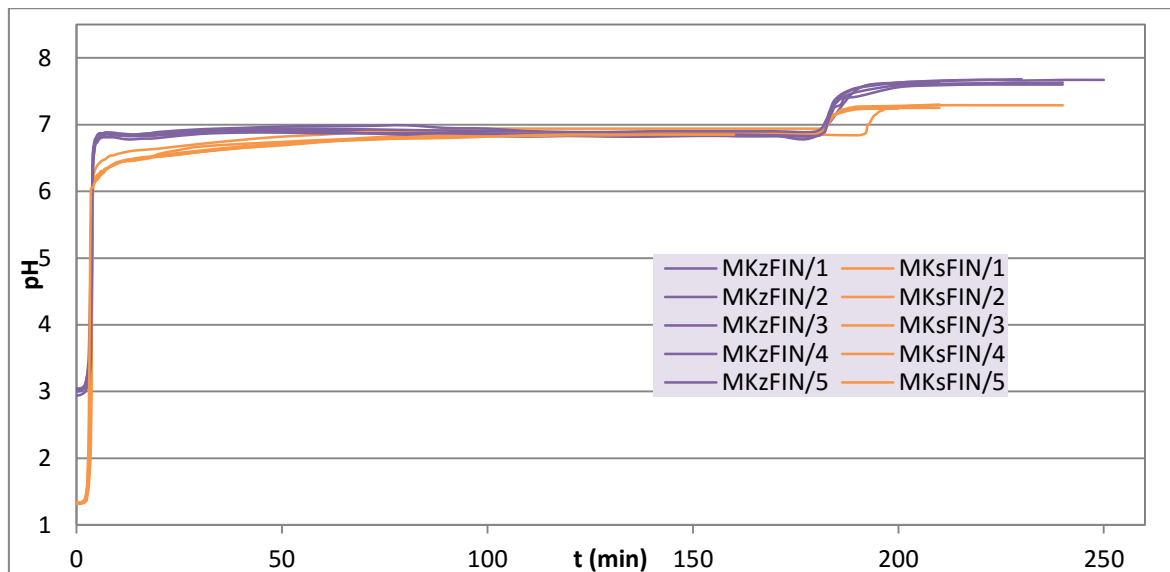


Slika 26: Prikaz eksperimentalno določenih puferskih kapacitet (rdeča črta) v določenih časovnih točkah med poskusi simulacije končnih višjih pH profilov (povprečje 5 paralelk, modra krivulja) in primerjava z vrednostmi *in vivo* (zgoraj nad grafom). S puščicami so prikazani časovni intervali območja duodenuma, jejunuma ter ileuma.

5.5 KONČNI pH PROFILI

Z izbranimi koncentracijami pufrov, s katerimi smo se med poskusi simulacije pH profilov najbolj približali vrednostim puferskih kapacitet v posameznih delih GIT *in vivo*, smo naredili po pet paralelk poskusov simulacije višjih in nižjih pH profilov (Slika 26). Pri nižjem pH profilu smo za simulacijo želodčnega medija uporabili 0,1 M raztopino HCl, pri višjem pa 1,25 mM raztopino HCl. Simulacijo dviga pH, ki ponazarja prehod v duodenum, smo pri nižjem pH profilu dosegli z dovajanjem 0,61 M raztopine trinatrijevega fosfata dodekahidrata (TNAF), pri višjem pH profilu pa z 5,0 mM raztopino TNAF. Pri obeh profilih smo do desete minute nadaljevali z dovajanjem 2-krat rMP s pH 6,8, nato pa tega zamenjali z 100-krat rMP do 180. minute, da smo dosegli vzdrževanje platoja pri pH 6,8. Pri nižjem pH profilu smo prehod v ileum ponazorili z 9,1-krat rMP (pH 7,3), pri višjem pa z 10-krat rMP (pH 7,6). Končna pH profila smo simulirali na naslednjih mejah pH, nižjega na 1→6→6,8→7,3, višjega pa na 3→6,5→6,8→7,6. Pri nižjem pH profilu smo z izbranimi koncentracijami pufrov simulirali nekoliko višji pH preskok v duodenumu (do pH 6), kot

smo načrtovali na začetku (do pH 5,5). Simulacijo nižjega pH preskoka pri nižjih pH profilih bi lahko dosegli z nekoliko krajšim časom dovajanja 0,61 M raztopine TNAF.



Slika 26: Simulacija petih paralelnih višjih in nižjih končnih pH profilov.

V nalogi smo puferske kapacitete medijev ustrezno prilagajali z vrednostmi kapacitet *in vivo* med simulacijo višjega pH profila. Po izbiri ustreznega rMP smo z izbranimi pufri naredili simulacijo obeh končnih višjih pH profilov. Pri obeh profilih smo uporabili iste koncentracije rMP v enakem časovnem zaporedju, razlika je bila le v koncentraciji uporabljenih raztopin HCl in TNAF. Ker smo že prej ugotovili, da so bile razlike med kapacitetami medijev višjega in nižjega pH profila majhne, lahko predvidevamo, da kapacitete ustrezajo vrednostim *in vivo* tudi med simulacijo nižjega pH profila, vendar bi bilo smiselno to tudi preveriti.

6 SKLEP

V okviru magistrske naloge smo poskušali posnemati pH profil prebavnega trakta ob hkratnem upoštevanju vrednosti pufrskih kapacitet *in vivo*. Najprej smo določili pufrske kapacitete različno redčenim McIlvainovih pufrom (rMP) in njihove vrednosti primerjali z podatki pufrskih kapacitet posameznih delov prebavnega trakta *in vivo*. Nato smo kapacitete določali medijem v različnih časih poskusov simulacije višjih pH profilov in spreminjali koncentracije pufrov, dokler kapaciteta in pH profil nista ustrezala pogojem *in vivo*. Z izbranimi rMP smo naredili končna pH profila (višji in nižji). Med poskusi simulacije pH profilov in med določanjem pufrskih kapacitet smo prišli do naslednjih ugotovitev:

- Potrebno je stalno spremljanje pretokov skozi cevke, pred samimi poskusi in med njimi, da zagotovimo enake pogoje izvajanja pri vseh poskusih.
- S fosfatnimi pufri smo preverili primerljivost med sistemoma A1-3/B1 in G1/B2. Pri primerjavi pH profilov na obeh sistemih smo se zaradi nekoliko različnih pretokov odločili, da bomo nadaljnje poskuse simulacije pH profilov izvajali le na enem sistemu (G1/B2).
- Pri primerjavi poskusov simulacije pH profilov z različnimi vrtljaji v delovni čaši (80 in 140 RPM) smo ugotovili, da ni bistvene razlike med pH profili. Nadaljnje poskuse smo izvajali pri 80 RPM.
- Pri simulaciji nižjih pH profilov je nekaj raztopine TNAF ostalo na dovodni cevki. Ta se je pomešala z medijem, ki se je dovajal v naslednji fazi simulacije pH profilov, zato je prišlo do pH spremembe dovajanega medija. Za poskuse, kjer smo simulirali nižje pH profile smo se zato odločili, da uporabimo dodatno cevko v dovodni cevki in tako preprečimo neposreden stik raztopine TNAF z dovodno cevko in njen ostanek na dovodni cevki.
- Pomembna je natančnost in točnost pri dovajanju raztopine TNAF. Pri poskusih, izvedenih z dodatkom cevke v dovodni cevki, moramo tudi paziti, da ne pride do stika dovodne cevke z raztopino TNAF in je med črpanjem raztopine TNAF potopljen le delček dodatne cevke, ki je vstavljena v dovodno cevko.
- Ugotovili smo, da je bil vpliv raztopine TNAF na pufrske kapacitete medijev med poskusi simulacije največji v začetnih časih poskusov, kjer so se kapacitete medijev najbolj razlikovale od kapacitet sveže pripravljenih pufrov. V kasnejših časovnih točkah

poskusov so bile te razlike manjše, pri primerjavi kapacitet medijev v ileumu pa dejansko ni bilo več razlik.

- Pri simulaciji nižjega pH profila smo simulirali nekoliko višji pH preskok v duodenumu kot smo načrtovali. Simulacijo nekoliko nižjega pH preskoka v duodenumu (pri pH 5,5 namesto pri pH 6) bi lahko dosegli z nekoliko krajšim časom dovajanja raztopine TNAF.
- Postavili smo sistem z zvezno simulacijo pH in puferskih kapacitet, ki ustrezajo vrednostim GIT *in vivo*, in sicer v območju pH vrednosti 3→6,5→6,8→7,6.

Predlagane izboljšave:

- Na končnih pH profilih bi lahko izvedli poskuse sproščanja in ugotovili morebiten vpliv upoštevanih puferskih kapacitet *in vivo* pri ustreznih pH na sproščanje učinkovin.
- Pri nižjih pH profilih bi bilo smiselno preveriti, če so puferske kapacitete medijev med simulacijo poskusov v območju vrednosti *in vivo*.
- Poleg puferskih kapacitet bi lahko upoštevali še ostale parametre fiziološkega okolja, ki vplivajo na sproščanje učinkovin, kot sta npr. osmolarnost, površinska napetost.

7 VIRI IN LITERATURA

1. Sinko Patrick J, Singh Y: Martin's Physical Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. Physical chemical and biopharmaceutical principles in the pharmaceutical sciences, 6th ed., Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business, Philadelphia [etc.], 2011: 163-181.
2. Mohan C: Buffers. A guide for the preparation and use of buffers in biological system. Calbiochem, EMD Biosciences, Darmstadt Germany, 2003: 8-10.
3. Kalantzi L, Goumas K, Kalioras V, et al.: Characterization of the human upper gastrointestinal contents under conditions simulating bioavailability/bioequivalence studies. *Pharm Res* 2006; 23: 165-176.
4. Perez M, Oth M, Deferme S, et al.: Characterization of fasted-state human intestinal fluids collected from duodenum and jejunum. *J Pharm Pharmacol* 2006; 58: 1079-1089.
5. Persson EM, Gustafsson A, Carlsson AS, et al.: The effects of food on the dissolution of poorly soluble drugs in human and in model small intestinal fluids. *Pharm Res* 2005; 22: 2141-2151.
6. Fadda HM, Sousa T, Carlsson AS, et al.: Drug solubility in luminal fluids from different regions of the small and large intestine of humans. *Mol Pharm* 2010; 7: 1527-1532.
7. HANs week, tube feeding, TPN and awareness. <http://www.lucy-watts.co.uk/2014/08/hans-week-tube-feeding-tpn-and-awareness.html>. Dostop: 5. 12. 2015.
8. Medication administration through enteral feeding tubes. http://www.medscape.com/viewarticle/585397_2. Dostop: 5. 12. 2015.
9. Salem sump tube / irrigation tube. <http://www.suru.com/salem-sump-tube-irrigation-tube/>. Dostop: 15. 2. 2016.
10. Lindahl A, Ungell A, Knutson L, et al.: Characterization of fluids from the stomach and proximal jejunum in men and women. *Pharm Res* 1997; 14: 497-502.
11. Dressman JB, Berardi RR, Dermentzoglou LC, et al.: Upper gastrointestinal (GI) pH in young, healthy men and women. *Pharm Res* 1990; 7: 756-761.
12. Clarysse S, Tack J, Lammert F, et al.: Postprandial evolution in composition and characteristics of human duodenal fluids in different nutritional states. *J Pharm Sci*. 2009; 98: 1177-1192.
13. Annaert P, Brouwers J, Bijnen A, et al.: Ex vivo permeability experiments in excised rat intestinal tissue and in vitro solubility measurements in aspirated human intestinal fluids support age-dependent oral drug absorption. *Eur J Pharm Sci* 2010; 39: 15-22.
14. Ovesen L, Bendtsen F, Tage-Jensen U, et al.: Intraluminal pH in the stomach, duodenum, and proximal jejunum in normal subjects and patients with exocrine pancreatic insufficiency. *Gastroenterology* 1986; 90: 958-962.

15. Benn A, Cooke WT: Intraluminal pH of duodenum and jejunum in fasting subjects with normal and abnormal gastric or pancreatic function. *Scand J Gastroenterol* 1971; 6: 313-317.
16. Bratten J, Jones MP: Prolonged recording of duodenal acid exposure in patients with functional dyspepsia and controls using a radiotelemetry pH monitoring system. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 527-533.
17. Youngberg CA, Berardi RR, Howatt WF, et al.: Comparison of gastrointestinal pH in cystic-fibrosis and healthy subjects. *Dig Dis Sci* 1987; 32: 472-480.
18. Watson BW, Meldrum SJ, Riddle HC, et al.: pH profile of gut as measured by radioelemetry capsule. *Br Med J* 1972; 2: 104-106.
19. Press AG, Hauptmann IA, Hauptmann L, et al.: Gastrointestinal pH profiles in patients with inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12: 673-678.
20. Fallingborg J, Christensen LA, Ingeman-Nielsen M, et al.: pH profile and regional transit times of the normal gut measured by a radiotelemetry device. *Aliment Pharmacol Ther* 1989; 3(6): 605-13.
21. Pye G, Evans DF, Ledingham S, et al.: Gastrointestinal intraluminal pH in normal subjects and those with colorectal adenoma or carcinoma. *Gut* 1990; 31: 1355-1357.
22. Evans DF, Pye G, Bramley R, et al.: Measurements of gastrointestinal pH profiles in normal ambulant human subjects. *Gut* 1988; 29: 1035-1041.
23. Web plot digitizer. <http://arohatgi.info/WebPlotDigitizer/app/>. Dostop: 5. 12. 2015.
24. Deferme S, Tack J, Lammert F, et al.: P-Glycoprotein attenuating effect of human intestinal fluids. *Pharm Res* 2003; 20: 900-903.
25. McIlvaine's buffer system.
http://stanxterm.aecom.yu.edu/wiki/index.php?page=McIlvaine_buffer. Dostop: 2. 12. 2015.
26. Gorjan P: Optimizacija in vplivi pH vrednosti ter pretokov medijev na sproščanje učinkovine iz gastrozistentnih pelet [Diplomska naloga]. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana, 2015.
27. Mudie DM, Amidon GL, Amidon GE: Physiological parameters for oral delivery and *in vitro* testing. *Mol Pharm* 2010; 7 (5): 1388-1405.