

Izolace léčiv ze skupiny sulfonamidů pomocí SPE

SPE = Solid Phase Extraction = extrakce na tuhou fázi

Teorie SPE

Úprava vzorků:

Důležitým krokem před vlastním použitím SPE je úprava vzorku. Cílem je vytvořit vzorek, jehož fyzikální a chemické vlastnosti budou vhodné pro následnou extrakci a analýzu. Vzorky odebrané z povrchových nebo odpadních vod obsahují ve větší či menší míře drobné částice a nečistoty, které mohou narušovat a znesnadňovat vlastní analýzu. Z tohoto důvodu se po odběru vzorky dále zpracovávají. Tuhé nečistoty se nejčastěji odstraňují *filtrací*. V případech, kdy je obtížné získat potřebný objem vzorku filtrací vzhledem k velkému počtu nerozpuštěných látek, se používá *centrifugace*.

U odebraných vzorků povrchových i odpadních vod pro stanovení léčiv se ihned po přinesení do laboratoře provádí filtrace přes skleněný vláknitý filtr o průměru pórů 0,2 - 0,77 μm . Účelem této filtrace je odstranění suspendovaných látek. Pokud ihned po filtraci nemůže dojít k extrakci, nechá se filtrát zamrazit nebo se ochladí na teplotu 4 °C a ponechá v temnu. Analýza by však měla proběhnout nejpozději do 3 dnů.

Princip a vlastnosti SPE:

Nejdůležitější výhodou oproti extrakci kapalina-kapalina je snížení spotřeby organických rozpouštědel. SPE je nejčastěji používána při zpracování kapalných vzorků, především pro extrakci středně těkavých a netěkavých látek, jejich zakoncentrování a odstranění nežádoucích látek, rušících následná analytická stanovení.

Jedná se o poměrně jednoduchou techniku, jejíž podstatou je zachycení molekul látky na tuhém sorbentu, přes který protéká vzorek. Používají se nepříliš drahé extrakční kolonky na jedno použití o nejrůznějších velikostech a náplních sorbentů. Při extrakci se využívá chemických vlastností molekul, které v důsledku mezimolekulových interakcí ulpívají na tomto sorbentu.

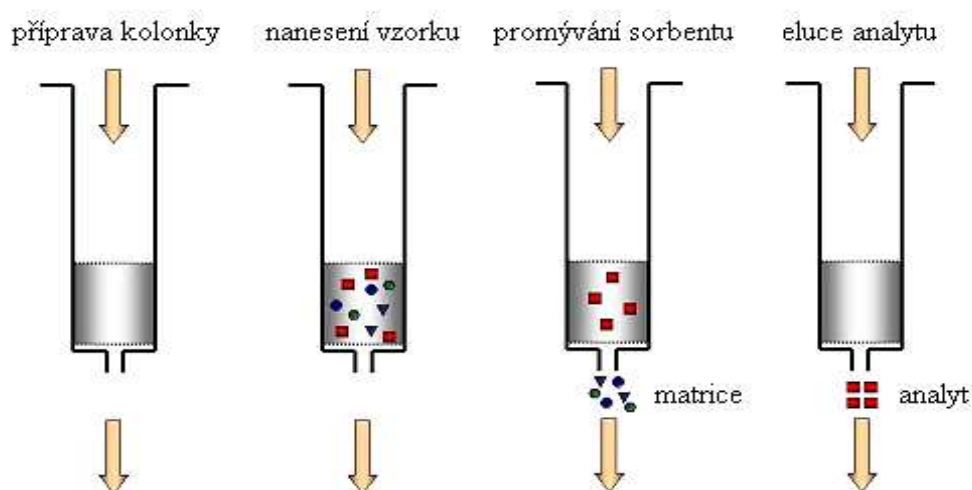
Výběr vhodného sorbentu je základním předpokladem úspěšné extrakce. Pro SPE se nejčastěji používají univerzální sorbenty na bázi modifikovaného silikagelu – oktadecylové (C18) a oktylové (C8). Retenční mechanismus je řízen zejména hydrofóbními interakcemi mezi analytem a navázanými uhlíkatými řetězci. Pro extrakci látek obsahujících disociující skupiny (např. $-\text{COOH}$, $-\text{OH}$, NH_2) je často nutná úprava pH vzorku, kterou dosáhneme toho, že molekula zůstane v nedisociované formě a tím bude lépe interagovat s nepolárním sorbentem.

Sorbenty jsou v kolonkách uzavřeny fritami z polyethylenu, případně oceli nebo polytetrafluorethylenu. Samotné sorbenty jsou tvořeny částicemi velikosti v průměru cca 50 μm a kladou odpor protékající kapalině. Proto se často průtok kapaliny přes kolonku urychluje vakuem na výstupu z kolonky, tlakem na vstupu kolonky nebo centrifugací.

Průtok kapalin vedených přes kolonku se urychluje dvěma metodami a to přetlakem na vstupu (čerpadlem, injekční stříkačkou) nebo podtlakem na výstupu (připojeným vakuem).

SPE umožňuje velké množství kombinací sorbent - rozpouštědlo, což zajišťuje vysokou selektivitu této metody. Další výhodou této metody je, že při použití SPE se lze vyhnout řadě problémů, které jsou již tradičně spojovány s extrakcí kapalina - kapalina. Největší a současně nejdůležitější výhodou v porovnání s extrakcí kapalina - kapalina je snížení spotřeby organických rozpouštědel, která jsou často řazena mezi látky toxické, ničící nejen ozónovou vrstvu, ale i jinak nebezpečné.

Znázornění typického postupu extrakce SPE



Pracovní postup

Metoda SPE je využitelná pro tyto typy vzorků:

- a) **extrakt ze vzorku environmentálního původu – sediment, kal z ČOV**
- b) **odpadní nebo povrchová voda**

1. Připravíme a sestavíme si zařízení pro extrakci SPE (vakuová pumpa, kohouty, kolonky, odpadní nádoba, sběrné nádoby se stojánkem, hadičky atd.)

2. Postupujeme dle následujícího schématu

- větší objem vzorku vody nanášíme z lahve na kolonku pomocí gumové hadičky, nasáváme přetlakem způsobeným vakuovou pumpou
- ve fázi nanášení vzorku a eluce je nutná regulace průtoku – max. 1-2 kapky/sec.
- daný objem rozpouštědel nanášíme na kolonky pomocí mikropipety

Toto cvičení bylo financováno za přispění projektu FRVŠ č. 2180/2011/G4.

Proces extrakce se skládá z několika po sobě jdoucích kroků:

	Sulfonamidy (SA)	Analgetika (AN)
Kondicionace kolonky Předúprava kolonky vhodnými činidly.	2 ml methanolu (MetOH) 2 ml DI vody - odpadní nádoba -	2 ml methanolu 2 ml DI vody - odpadní nádoba -
Nanesení vzorku	3 ml extraktu vzorku pomocí pipety/daný objem vzorku vody pomocí hadičky - odpadní nádoba -	3 ml extraktu vzorku pomocí pipety/daný objem vzorku vody pomocí hadičky - odpadní nádoba -
Promývání sorbentu Odstranění interferujících složek a nečistot, aniž by byl eluován analyt.	2 ml 5% acetonitrilu (ACN) - odpadní nádoba -	2 ml 5% methanolu - odpadní nádoba -
Sušení	proudem vzduchu (5-10 min)	proudem vzduchu (5-10 min)
Eluce analytu Závěrečný stupeň extrakce, kdy dochází k znovuzískání analytu z extrakční kolonky, což je provedeno promytím kolonky rozpouštědlem, které eluuje sorbované analyty. Eluát je jímán do vhodné jímací nádoby.	5 ml směsi MetOH : ACN (1:1) - sběrná nádoba -	5 ml methanolu - sběrná nádoba -

3. Eluát převedeme do nádoby vhodné na RVO (např. 100 ml baňka nebo špička)

4. Zahustíme odpařením do sucha a následným přidáním známého objemu rozpouštědla (1 ml) vhodného pro další analytické stanovení pomocí kapalinové chromatografie