

Abstrakt

Estrogeny patří k látkám, které negativně ovlivňují endokrinní systém již při velmi nízkých koncentracích. Tyto látky se dostávají do životního prostředí jako důsledek zvýšené konzumace řady léčiv atd.

Tato práce se zabývala separací a stanovením estrogenů, jmenovitě estronu (E1), 17 β -estradiolu (β E2), 17 α -estradiolu (α E2), 17 α -ethynylestradiolu (EE2) a estriolu (E3) metodou HPLC-UV v reálné vodné matrici. Chromatografický systém se skládal z oktadecylové stacionární fáze (SunFire® C18, 150 x 4,6 mm, oktadecyl navázaný na silikagelový nosič, velikost zrnění 5 μ m) a mobilní fáze obsahující acetonitril/voda v různém objemovém poměru za podmínek izokratické eluce. Byl sledován vliv obsahu acetonitrilu v mobilní fázi na retenční a separační parametry analytů. Jako nejvhodnější byla vybrána mobilní fáze ve složení acetonitril/voda 40/60 (v/v) o průtoku mobilní fáze 1,3 ml/min, zajišťující separaci všech studovaných analytů až na základní linii a dobou analýzy nepřesahující 15 minut. Za optimalizovaných separačních podmínek byly proměřeny kalibrační závislosti jak jednotlivých estrogenů, tak jejich směsi (standarty rozpuštěné v methanolu) a vypočteny limity detekce (LOD) a limity kvantifikace (LOQ). Měření probíhala v koncentračním rozmezí 0,001 – 1 mg/ml. Hodnoty LOD se pohybovaly v rozmezí 0,40 – 2,10 μ g/ml. Pro zvýšení citlivosti detekce byla následně vyzkoušena extrakce na tuhé fázi (SPE). Byly vyzkoušeny nové sorbenty pro SPE založené na bázi monomerně nebo polymerně vázaného oktadecyly na silikagel a byly optimalizovány podmínky prekoncentrace. Při použití extrakční kolonky s deaktivovaným povrchem a monomerně vázaným oktadecylem (Discovery DSC-18Lt) se výtěžnost pohybovala v rozmezí 97 – 103 % pro směs estrogenů a v rozmezí 85 – 98 % pro jednotlivé estrogeny. V optimalizovaných podmínkách metody SPE-HPLC-UV byly proměřeny kalibrační závislosti studovaných estrogenů v reálné vodné matrici v koncentračním rozmezí 0,01 – 1 μ g/ml. Bylo dosaženo velmi dobrých korelačních koeficientů ($R^2 > 0.9977$), a hodnoty LOD se pohybovaly v rozmezí 3,50 – 14,40 ng/ml.