

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Bc. Eva Krchňáková

Školitel: PharmDr. Petr Chocholouš, Ph.D.

Název diplomové práce: Extrakce na tuhou fázi a její miniaturizace metodou Lab-On-Valve.

Diplomová práce se zabývá možností automatizovat extrakci na tuhou fázi (SPE) ve spojení s mikročasticovou analýzou (BI). Cílem práce bylo vyzkoušet nahrazení mikročastic v mikročasticové analýze sorbentem z SPE, zjistit chování sorbentu v tomto systému a následně ověřit, zda je možné extrakci na tuhou fázi miniaturizovat se všemi kroky, které jsou k provedení metody nutné.

V práci byla manuálně provedena extrakce na tuhou fázi, ve které bylo testováno 7 sorbentů: Lichrolut MERCK RP-18, DSC-18, DSC-18Lt, DSC-8, DSC-PH, DSC-CN a HLB Oasis. Z pokusu vplynuly nejlepší možné podmínky pro provedení extrakce na tuhou fázi a to: aktivace sorbentu a eluce analytu 100% acetonitrilem, solvatace sorbentu, rozpuštění vitamínu D a vmytí balastu ze sorbentu zředěnou kyselinou octovou o pH 3. Pro systém je nejvhodnější sorbent HLB Oasis od firmy Waters, který je smáčivý s vodou a neměl by se rozptylovat po systému, což bylo po použití sorbentu potvrzeno. Ostatní sorbenty byly pro systém nevhodné z důvodu nesmáčivosti s vodou a velké jemnosti sorbentu. Sorbenty byly rozptýleny po systému, dostávaly se do pumpy a pumpu následně ucpávaly. Z toho důvodu nebylo další testování na sorbentech možné a práce byla ukončena.

Další vývoj metody spočíval v převedení stanovených podmínek z manuálně provedené extrakce na tuhou fázi do systému Lab-On-Valve, v programu byly dodrženy všechny fáze obecného postupu extrakce na tuhou fázi. Byl vyvíjen program, ve kterém byly testovány různé dávkovací objemy, průtokové rychlosti a opakovatelnost plnění kolony.

Zoptimalizovaná metoda byla testována analýzou plazmy naspikované vitamínem D. Po (analýze) extrakci naspikované plazmy mikročasticovou analýzou byla provedena chromatografická analýza metodou sekvenční injekční chromatografie, výtěžnost metody byla 41,07 %. Za optimálních podmínek byla výsledkem práce možnost extrakce nízkých koncentrací vitamínu D z krevní plazmy. Nevýhodou metody byla nízká opakovatelnost analýzy.

Metoda, která se snažila o automatizaci a zrychlení extrakce na tuhou fázi ve spojení s mikročasticovou analýzou byla metodou experimentální. Za stanovených podmínek a za současného provedení je metoda neefektivní. Pro zefektivnění analýzy je potřeba dalšího vývoje metody.