

P. Martinková, R. Jobánek, D. Pospíchalová

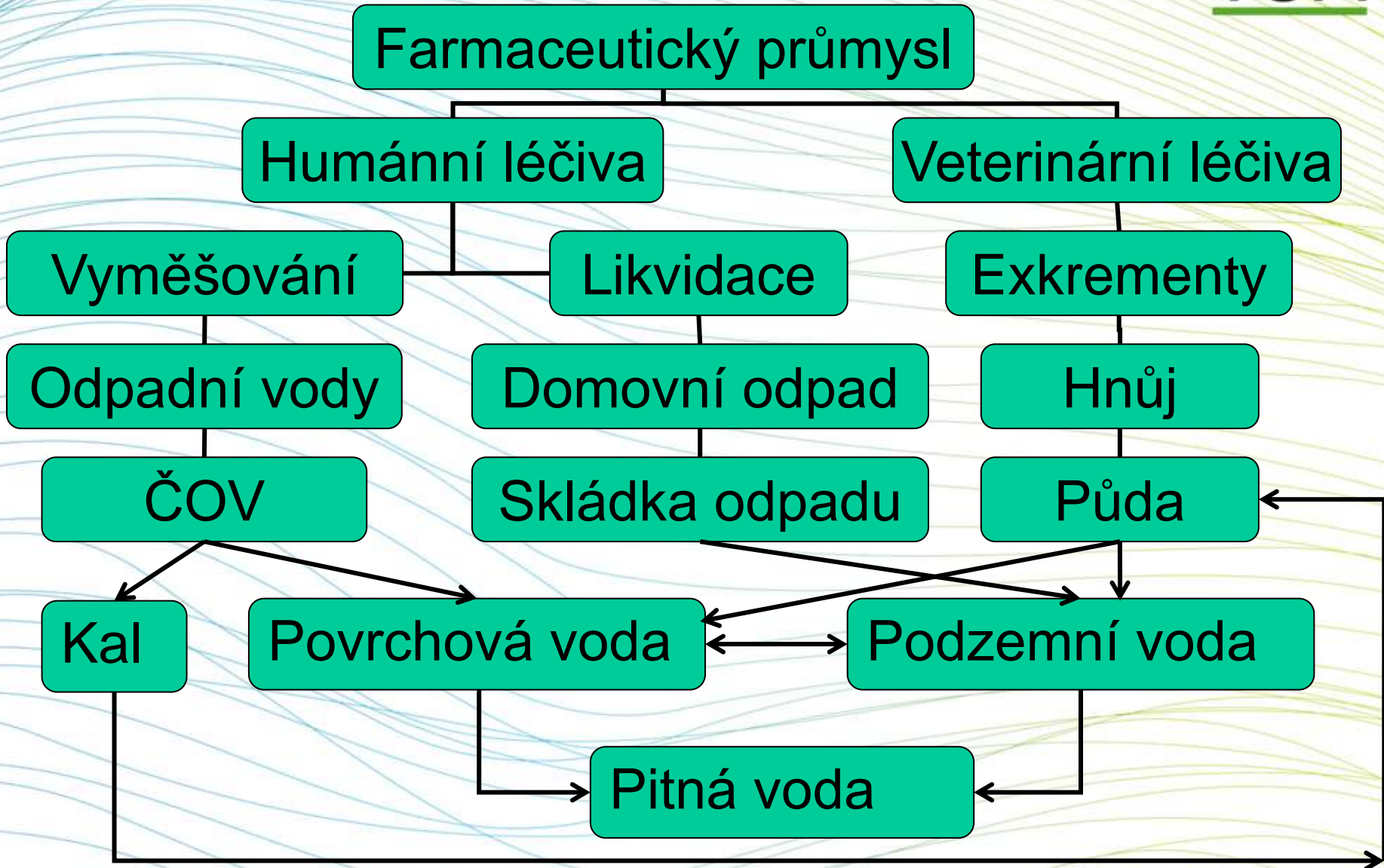
Stanovení vybraných léčiv v čistírenském kalu

PPCP

Pharmaceutical and Personal Care Products (farmaka a produkty osobní potřeby)

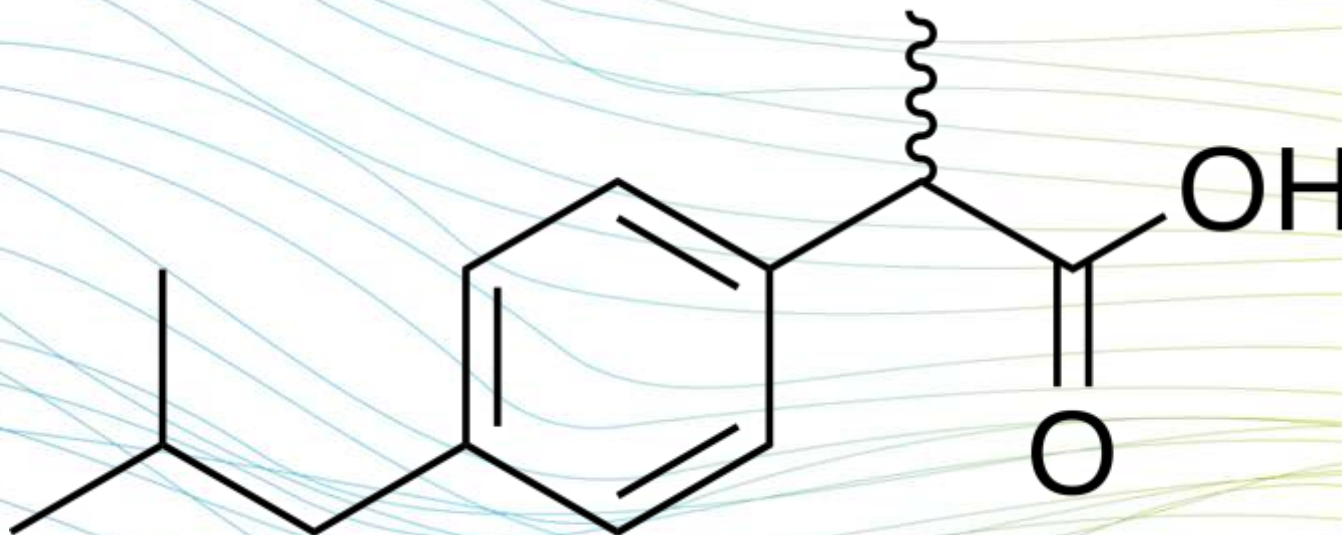
Do životního prostředí se dostávají jako odpad z jejich výroby, likvidací nepoužitých nebo prošlých produktů a výkaly.

Jsou uvolňovány kontinuálně a proto nemusí být perzistentní, aby způsobily negativní účinky.



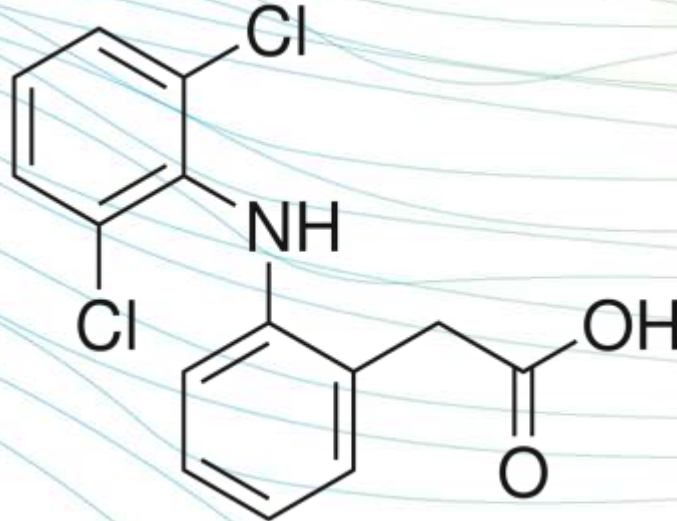
Nesteroidní protizánětlivá léčiva

IBUPROFEN nejprodávanější volně dostupný lék



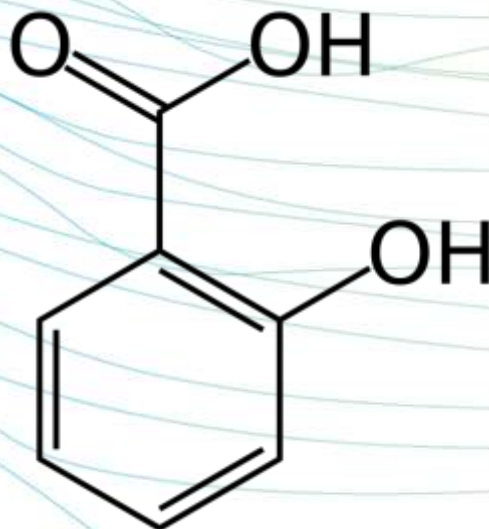
Diklofenak

Antirevmatikum a antiflogistikum



K léčbě mimokloubního revmatismu, bolestivých otoků u poúrazových stavů, revmatoidní artritidy, osteoartrózy, bolestí kloubů

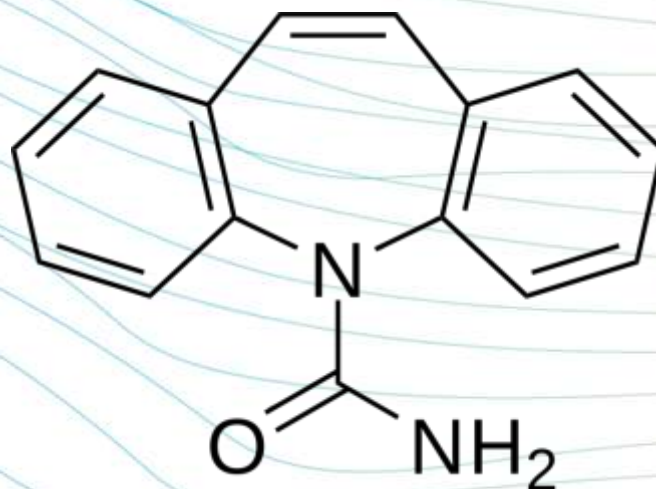
Kyselina salicylová



Degradační produkt kyseliny acetylsalicylové

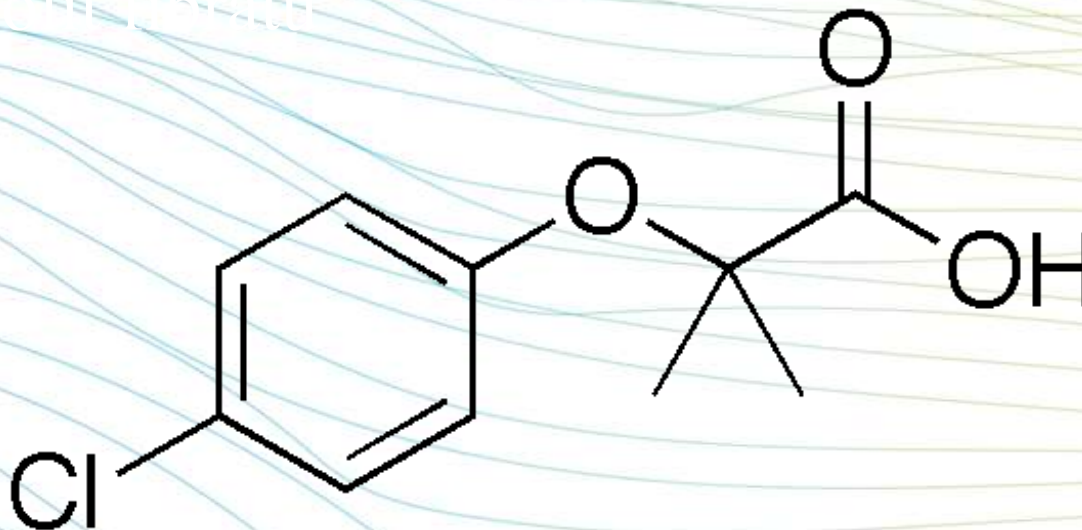
Karbamazepin

Antiepileptikum



Kyselina klofibrová

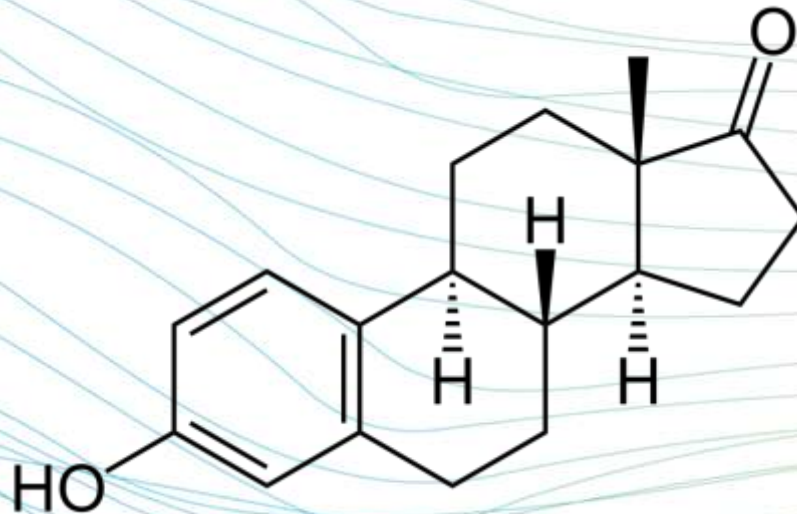
www.vuv.tgm.cz



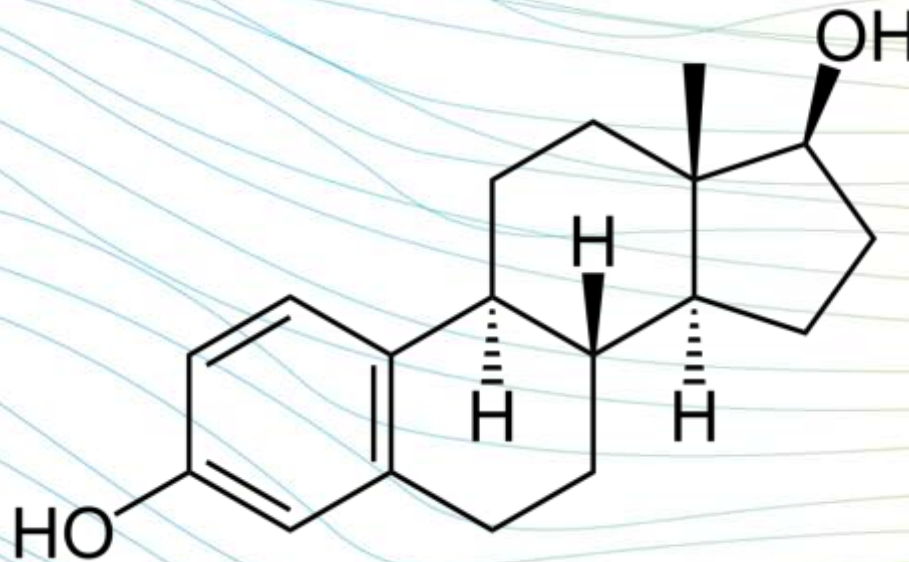
Regulátor lipidů v krvi

Estrogenní hormony přirozeně se vyskytující

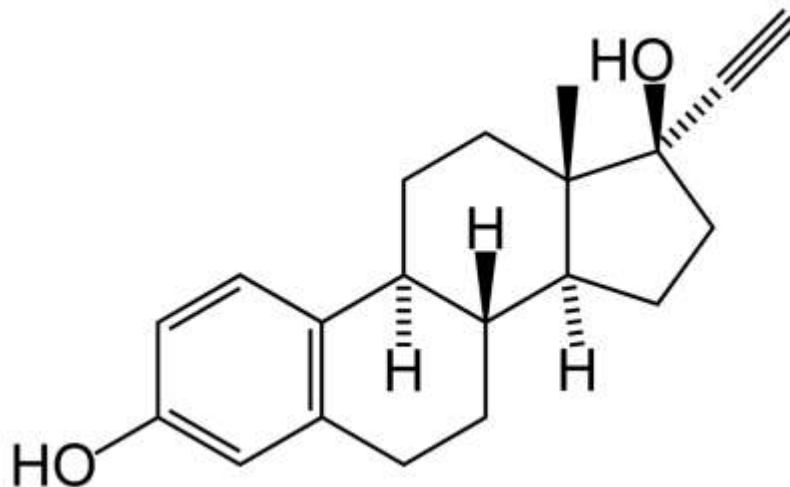
ESTRON (E1)



17 β -estradiol (E2)



17 α -etinylestradiol (EE2)



Syntetický analog hormonu E2 používaný v antikoncepci a hormonální léčbě

Stanovované látky:

Nesteroidní látky:

- Ibuprofen
- Diklofenak
- Kyselina salicylová
- Karbamazepin
- Kyselina klofibrová

Steroidní látky:

- Estron (E1)
- 17- β -estradiol (E2)
- 17- α -etinyloestradiol (EE2)

Extrakce a čištění

Nesteroidní látky

Extrakce ultrazvukem (UZ)

0,5 g kalu

Extrakce UZ 20 min., 28°C

2 x 5 ml MeOH, 5 ml aceton

Odstředit a spojené extrakty proudem dusíku

zakonzentrovat na 1 ml a doplnit DEMI vodou (pH 2,0) na 500 ml

Steroidy

ASE (Accelerated Solvent Extraction)

1 g kalu

smíchat s hydromatrixem a florisilem

Extrakce 1 x MeOH, 100°C, 8 minut

Extrakt proudem dusíku zakonzentrovat na 1 ml a doplnit objem na 500 ml DEMI vodou (pH 7,8)

Zakoncentrování analytů SPE (solid phase extraction)

- Zařízení pro SPE firmy J. T. Baker.
- Speedisk Bakerbond H₂O – Phobic DVB 8068-06



Pracovní schéma SPE

Kondicionace disku

5 ml hexan

5 ml ethylacetát

10 ml methanol

10 ml voda:

pH 2,0 nesteroidní látky

pH 7,8 steroidy

Nesteroidní látky

Filtrace 500 ml vzorku
pH 2,0
15 ml/min

Promytí 5 ml DEMI vody
Sušení N₂ (40 min)

Eluce
2 x 10 ml acetonitrilu

Zakoncentrování a
převedení do mobilní
fáze

Steroidy

Filtrace 500 ml vzorku
pH 7,8
15 ml/min

Promytí 5 ml DEMI vody
Sušení N₂ (40 min)

Eluce
2 x 10 ml acetonitrilu

Čištění na florisilové
kolonce

Zakoncentrování a
převedení do mobilní
fáze

Používaná přístrojová technika pro stanovení LC/MS

- Kapalinový chromatograf Agilent 1200 RR s binárním a isokratickým čerpadlem.
- Hmotnostní detektor Applied Biosystems 4000 Q Trap s trojitým kvadrupolem.

Použité metody LC a MSD

Steroidy:

- Kolona Synergi Hydro – RP (150 x 2,00 mm)
- Mobilní fáze: gradient acetonitril/voda
- Detekce: elektrosprej v neg. modu (ESI-)

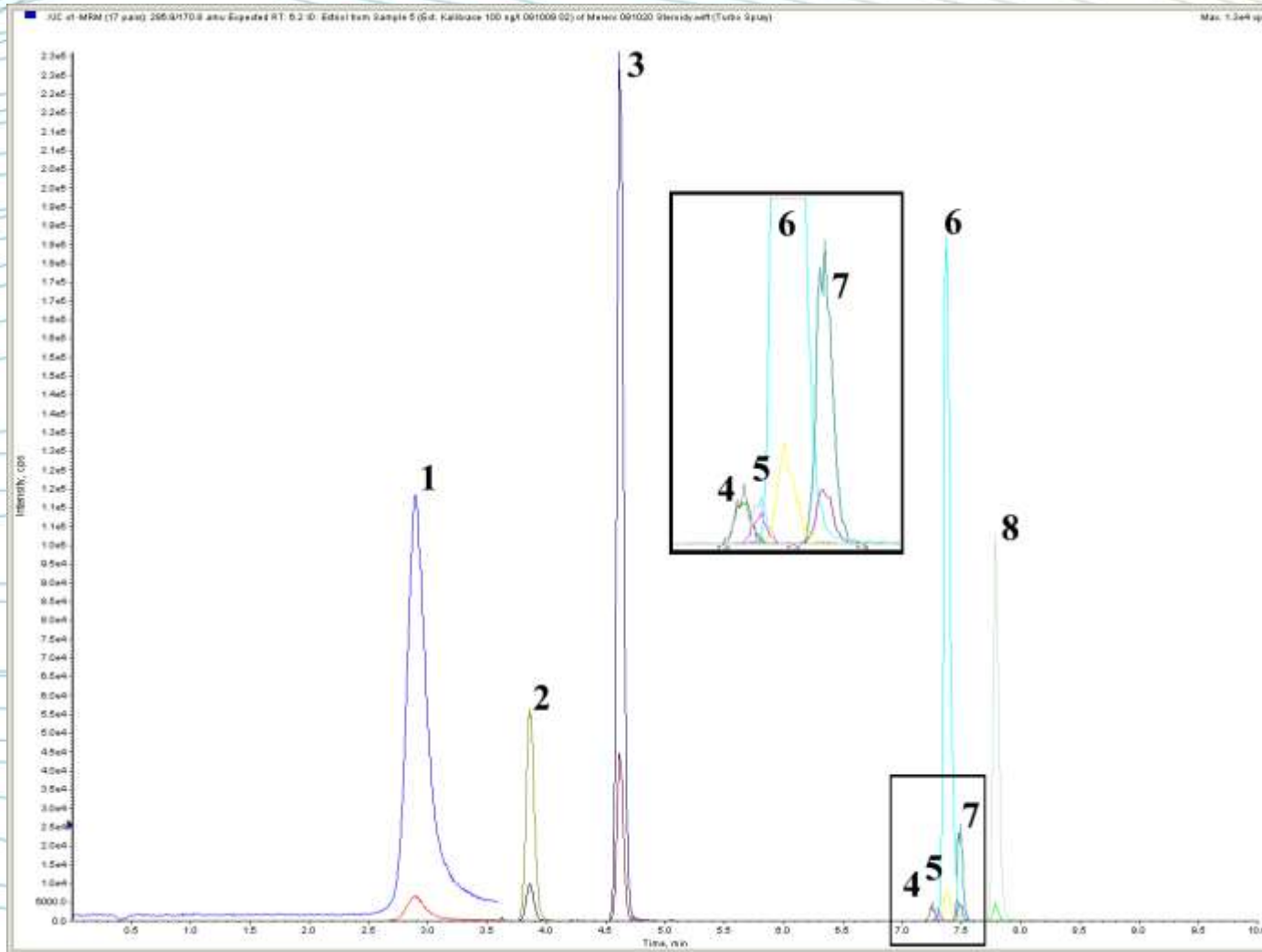
Kys. salicylová, klofibrová, diklofenak, ibuprofen, karbamazepin:

- Kolona Zorbax Eclipse XDB – C18 (4,6 x 50mm)
- Mob.fáze: gradient methanol/voda (0,2% CH₃COOH)
- Detekce: přepínání polarity (ESI-/ESI+)

Přechody pro MRM detekci

Analyt	Q1	Q3	Analyt	Q1	Q3
17 β -estradiol (E2)	270,9	144,8	Ibuprofen	204,9	161,0
	270,9	182,9		204,9	159,0
17 α -etinylestradiol (EE2)	295,0	144,8	Kyselina salicylová	136,9	92,8
	295,0	158,8		136,9	64,9
Estron (E1)	268,9	144,8	Karbamazepin	236,9	194,1
	268,9	142,7		236,9	193,1
Diklofenak	293,7	249,8	Kyselina klofibrová	212,9	126,7
	293,7	213,7		212,9	84,8

Chromatogram směsného standardu farmak [100 ng/l]



1-kys.salicylová

2-karbamazepin

3-kys.klofibrová

4-E2

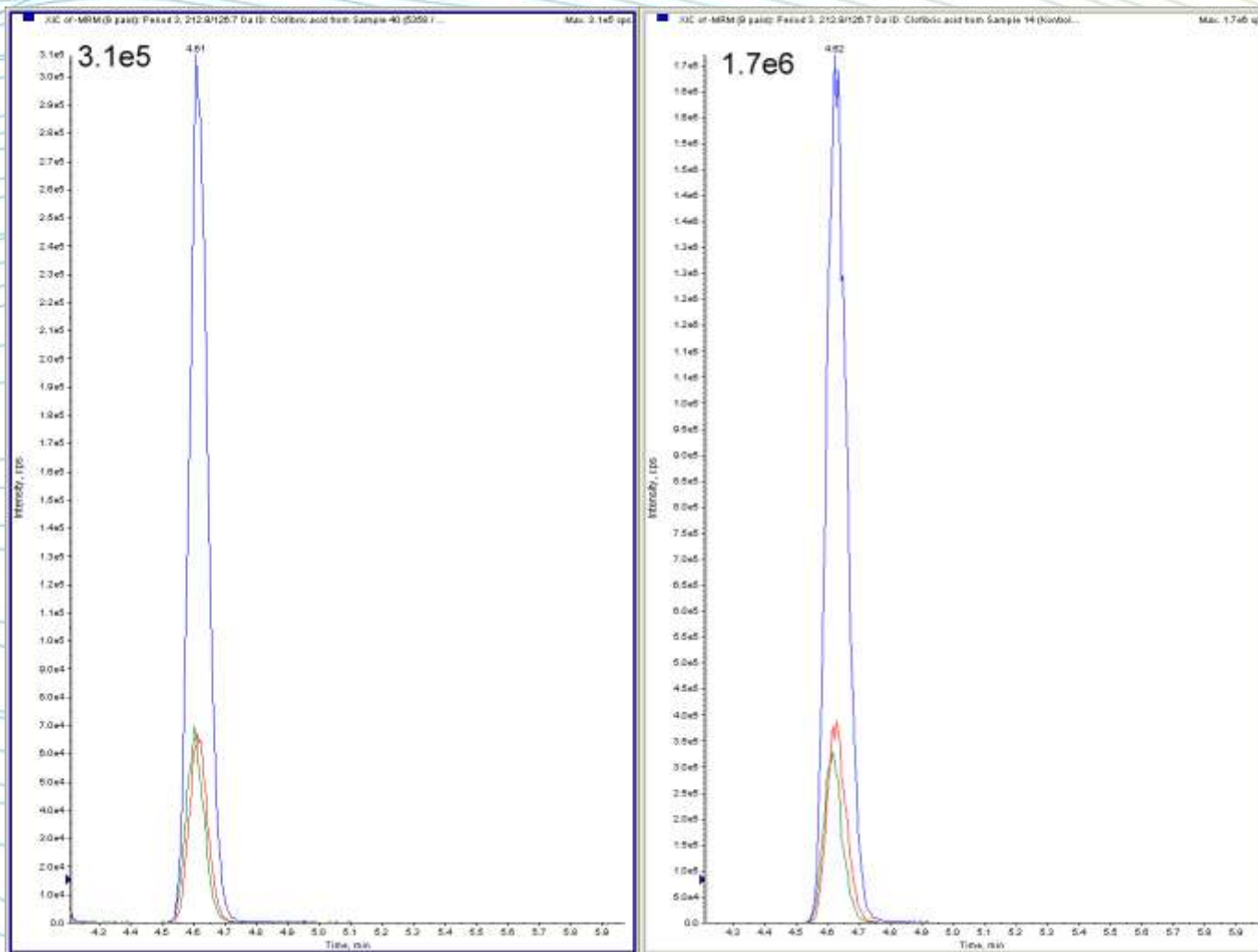
5-EE2

6-diklofenak

7-E1

8-ibuprofen

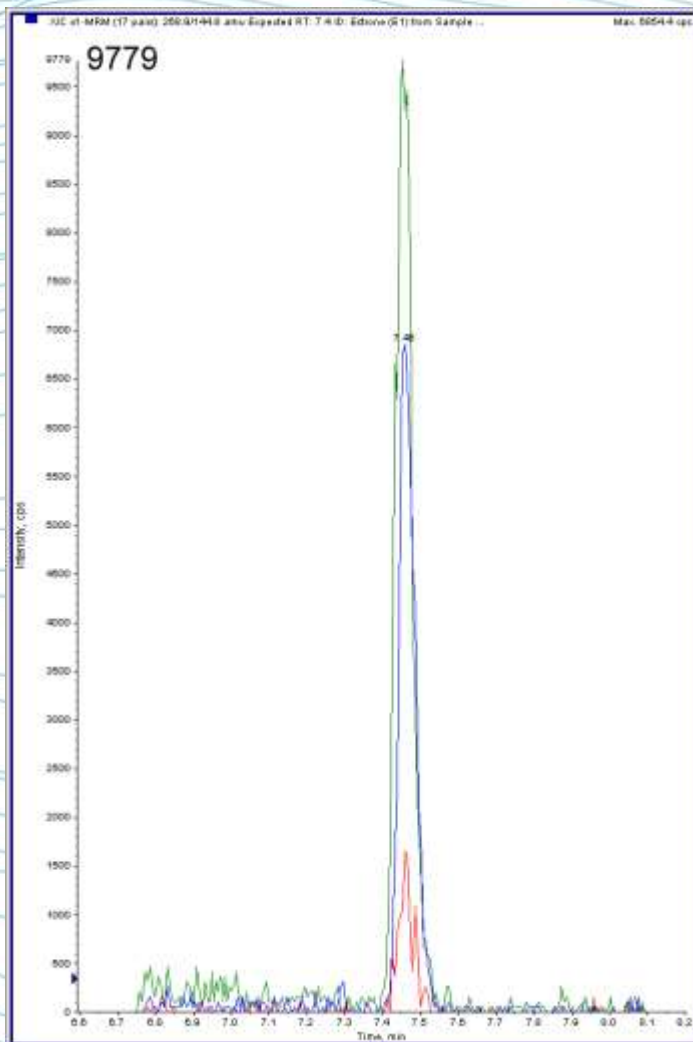
Chromatogram kyseliny klofibrové [600 ng/l]



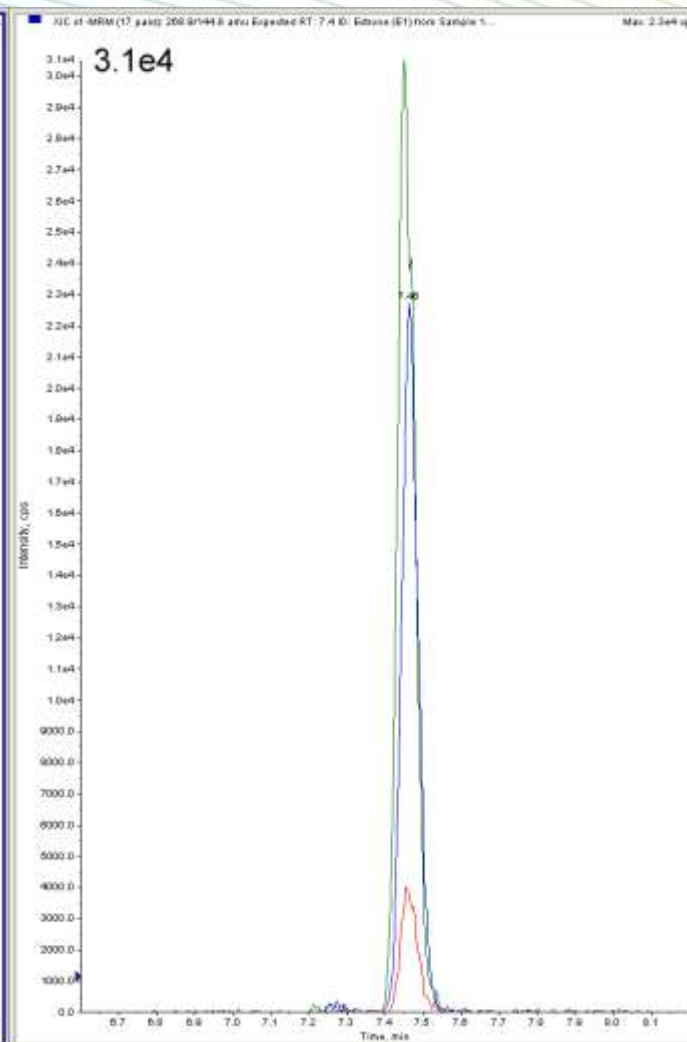
Ve vzorku

V UHQ vodě

Chromatogram estronu (E1) [60 ng/l]

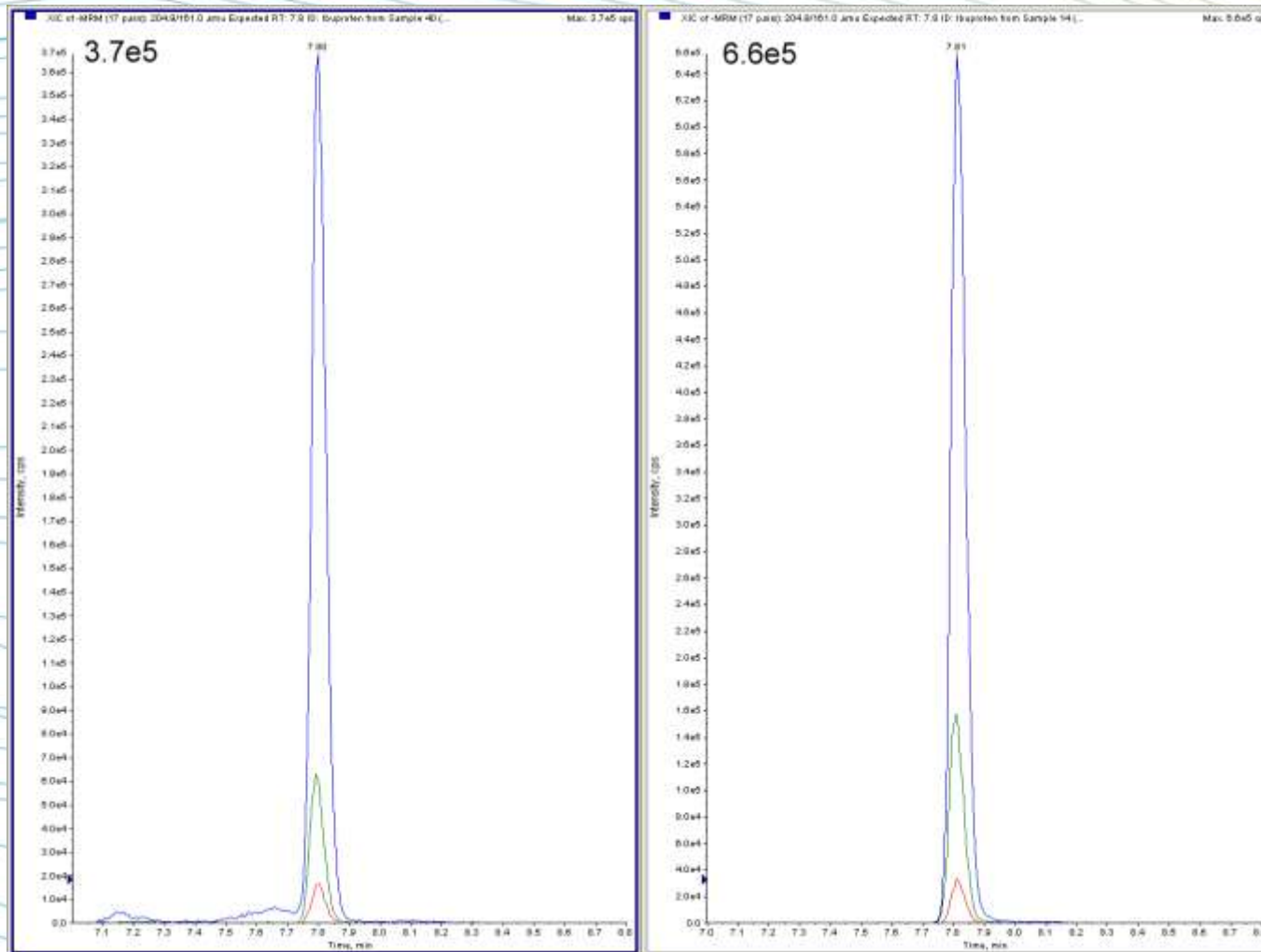


Ve vzorku



V UHQ vodě

Chromatogram ibuprofenu [600 ng/l]



Ve vzorku

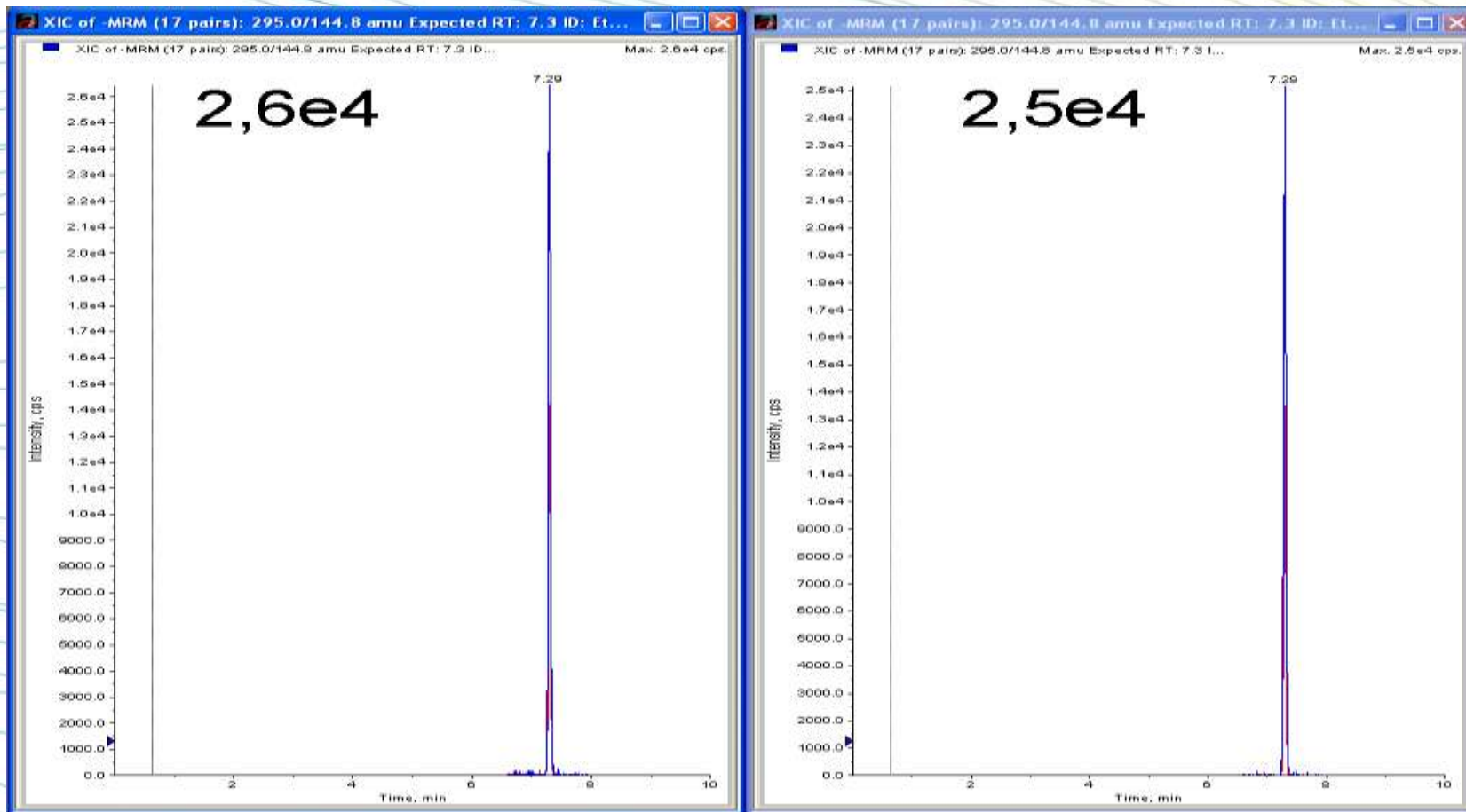
V UHQ vodě

Deuteriované vnitřní standardy:

- Estron D4 (E1-D4)
- 17β -estradiol D5 (E2-D5)
- 17α -etinyloestradiol D4 (EE2-D4)
- Diklofenak D4 (DCF-D4)
- Ibuprofen D3 (IBP-D3)
- Karbamazepin D10
- Kyselina klofibrová D4
- Kyselina salicylová D4

Čistota min. 98 %, firma CDN Isotopes, kys. salicylová – firma CIL

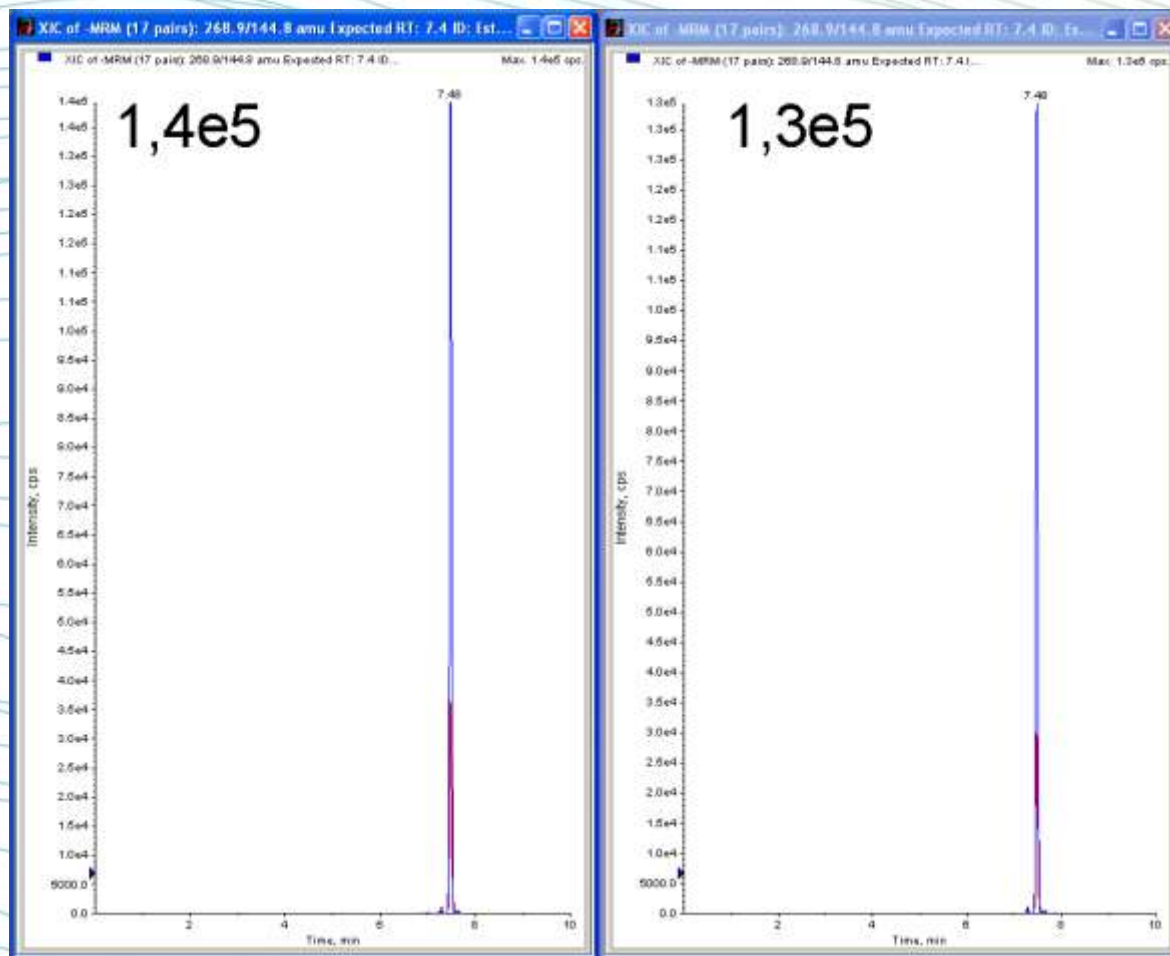
Chromatogram EE2 [60 ng/l]



Ve vzorku

V UHQ vodě

Chromatogram ESTRONU [60 ng/l]



Ve vzorku

V UHQ vodě

Nálezy léčiv v čistírenském kalu

číslo vzorku	klofibrová kyselina	salicylová kyselina	Diklofenak	Ibuprofen	Karbamazepin	E2	E1	EE2
	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg	µg/kg
5851	1,1	24,1	83,2	215,2	239,9	1,4	16,9	0,5
6596	0,8	24,7	27,2	45,1	86,6	4,4	35,8	0,9
6597	1,2	68,8	71,6	190,9	260,3	4,3	32,6	0,7
974	0,4	58,5	51,7	85,9	132,5	4,9	64,3	1,1
975	0,3	141,6	101,4	243,5	299,8	2,9	51,1	1,1
1395	0,5	62,4	82,2	98,5	140,6	2,8	57,6	1,5
1844	0,4	53,6	64,0	85,2	130,0	3,0	67,8	1,3
1845	0,4	107,6	108,8	125,6	234,8	2,0	75,0	0,9
2530	0,5	19,7	26,3	37,1	1,3	0,3	10,1	0,1
3029	0,7	36,1	26,5	67,3	73,3	1,0	27,0	0,2
3562	0,6	73,6	29,5	67,2	70,8	0,5	28,2	0,1
3563	0,4	74,8	40,0	102,4	111,2	0,1	4,5	0,0

PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za finanční podpory výzkumného záměru MZP0002071102 Výzkum pro hospodaření s odpady v rámci ochrany životního prostředí a udržitelného rozvoje (prevence a minimalizace vzniku odpadů a jejich hodnocení).

Děkuji za pozornost

VÚV
TGM

