

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Bc. Lenka Nápravníková

Konzultant: Prof. RNDr. Petr Solich, CSc.

Konzultant specialista: Doc. RNDr. Dagmar Solichová, Ph.D.

Název diplomové práce: Porovnání extrakčních postupů ze séra pro HPLC stanovení liposolubilních vitamínů

V diplomové práci byly porovnány metody extrakce na pevnou fázi (SPE) a extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE) použité pro separaci vitamínů rozpustných v tucích: A (retinol), E (α -tokoferol), D₂ (ergokalciferol), D₃ (cholecalciferol), 25-(OH)D₃ (kalcidiol) z lidského séra. Vitaminy byly následně stanoveny vysoce účinnou kapalinovou chromatografií (HPLC).

Jako výchozí metoda byl použit postup, který byl vyvinut a částečně zvalidován v rámci diplomové práce: Aplikace SPE a technologie monolitních kolon v HPLC analýze biologicky aktivních látek (Horčíčková 2009). Tento postup byl dále optimalizován za účelem navýšení výtěžnosti extrakce pro cílové analyty 25(OH)D₃, D₂ a D₃ a zkrácení preanalytické fáze. Byly testovány podmínky: objem vzorku, deproteinace séra (činitla, objem, teplota, čas), kondicionace SPE kolonek (promývání vodou, dávkování), různé SPE kolonky, postup eluce (činitla, dávkování, použití vakua), vliv centrifugace na čistotu extraktu, využití Eppendorf a skleněných zkumavek, podmínky odpaření vzorku.

Na základě výsledků při optimalizaci SPE metody extrakce byla vyvinuta nová metoda s využitím LLE extrakce, která byla rovněž optimalizována s ohledem na deproteinační a extrakční prostředí, provedení extrakce a způsob odpaření vzorku.

Při porovnání obou extrakčních metod bylo zjištěno, že metoda s využitím LLE, poskytla vyšší výtěžnost extrakce pro cílové analyty D₂ (ergokalciferol), D₃ (cholecalciferol), 25-(OH)D₃ (kalcidiol), zároveň zkrátila čas potřebný pro přípravu vzorku k HPLC analýze a také snížila spotřebu rozpouštědel.

Klíčová slova: extrakce na tuhou fázi (SPE), extrakce z kapaliny do kapaliny (LLE), A (retinol), E (α -tokoferol), D₂ (ergokalciferol), D₃ (cholecalciferol), 25-(OH)D₃ (kalcidiol), HPLC,