

EKSTRAKCIJA ESTROGENIH HORMONA IZ VODE KORIŠĆENJEM UGLJENIČNOG KRIOGELA KAO SORBENTA

Danijela Prokić¹, Marija Vukčević², Marina Maletić¹, Ana Kalijadis³, Biljana Babić⁴, Ivona Janković-Častvan², Tatjana Đurkić²

- *¹Inovacioni centar Tehnološko-metalurškog fakulteta, Beograd*
- *²Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu*
- *³Institut za nuklearne nauke “Vinča”, Univerzitet u Beogradu*
- *⁴Institut za Fiziku, Univerzitet u Beogradu*



Uvod

- ❑ Steroidni estrogenski hormoni najčešće dospevaju u životnu sredinu preko komunalnih otpadnih voda
- ❑ U životnoj sredini su prisutni u veoma niskim koncentracijama (red veličine ng/L), ali i tako niske koncentracije mogu imati negativan uticaj na živi svet
- ❑ Njihova detekcija zahteva razvoj efikasne metode izolovanja i predkoncentrisanja, pre analize
- ❑ U ovom radu ispitana je mogućnost korišćenja ugljeničnog kriogela kao sorbenta u metodi ekstrakcije na čvrstoj fazi za izolovanje i predkoncentrisanje estrona, 17β -estradiola i 17α -etinilestradiola iz vodenih rastvora

Eksperimentalni deo

Sinteza ugljeničnog kriogela

- Priprema rezorcinol-formaldehid (RF) gela
- Sipanje rastvora u epruvete i ostavljanje uzoraka da se geliraju 7 dana
- Ispiranje uzoraka u t-butanolu
- Držanje uzoraka u zamrzivaču
- Sušenje
- Karbonizacija u konvencionalnoj peći na temperaturi do 800 °C u inertnoj atmosferi



Eksperimentalni deo

Ekstrakcija na čvrstoj fazi

- Punjenje kertridža kriogelom odgovarajuće mase
- Kondicioniranje kertridža i nanošenje vodenog rastvora hormona odgovarajuće zapremine i pH vrednosti
- Sušenje kertridža pod vakuumom i eluiranje odgovarajućim organskim rastvaračem
- Uparavanje sakupljenog eluenta do suva i rekonstituisanje u 1 cm³ metanola

Eksperimentalni deo

Ekstrakcija na čvrstoj fazi

Optimizacija parametara:

- Masa sorbenta (20, 50 i 100 mg)
- Zapremina uzorka (25, 50 i 100 cm³)
- pH vrednost uzorka (5, 6, 7, 8, 9, 10 i 11)
- Rastvarači za eluiranje: acetonitril (ACN), metanol (MeOH), smeša dohlormetan/metanol (DCM/MeOH)

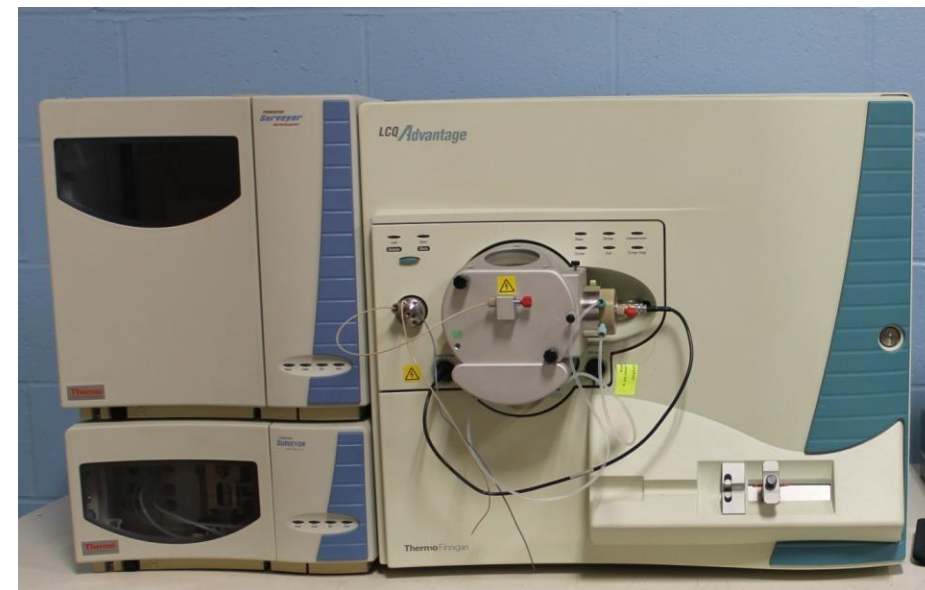


Nakon odrađene ekstrakcije, uzorci su analizirani metodom tečne hromatografije-tandem masene spektrometrije.

Eksperimentalni deo

LC-MS/MS analiza

- Surveyor HPLC sistem (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Zorbax Eclipse XDB-C18 reverzno-fazna kolona
- Mobilna faza: 75% metanola i 25% mravlje kiseline (0,1% vodeni rastvor)
- LCQ Advantage, kvadrupolni jonski trap
- ESI jonizacija, pozitivan mod



Rezultati

Optimizacija mase kriogela

Tabela 1 Prinosi SPE metode pri upotrebi različitih masa materijala

Hormon	Masa materijala, mg		
	20	50	100
Estron	83,66	66,51	46,20
17 α -etinilestradiol	84,83	58,16	49,30
17 β -estradiol	75,44	60,98	48,14

Rezultati

Optimizacija zapremine rastvora

Tabela 2 Prinosi SPE metode pri različitim zapreminama vodenog rastvora hormona

Hormon	Zapremina rastvora (cm ³)		
	25	50	100
Estron	67,91	78,11	73,58
17 α -etinilestradiol	63,29	65,14	71,70
17 β -estradiol	58,76	71,85	80,55

Rezultati

Optimizacija pH vrednosti rastvora hormona

Tabela 3 Prinosi SPE metode pri različitim početnim pH vrednostima vodenog rastvora hormona

Hormon	pH						
	5	6	7	8	9	10	11
Estron	77,43	77,51	79,27	79,44	79,69	75,11	89,35
17 α -etinilestradiol	88,23	92,88	91,31	87,70	95,72	70,90	94,77
17 β -estradiol	75,69	76,89	109,25	77,94	79,42	78,42	88,55

Rezultati

Optimizacija rastvarača za eluiranje

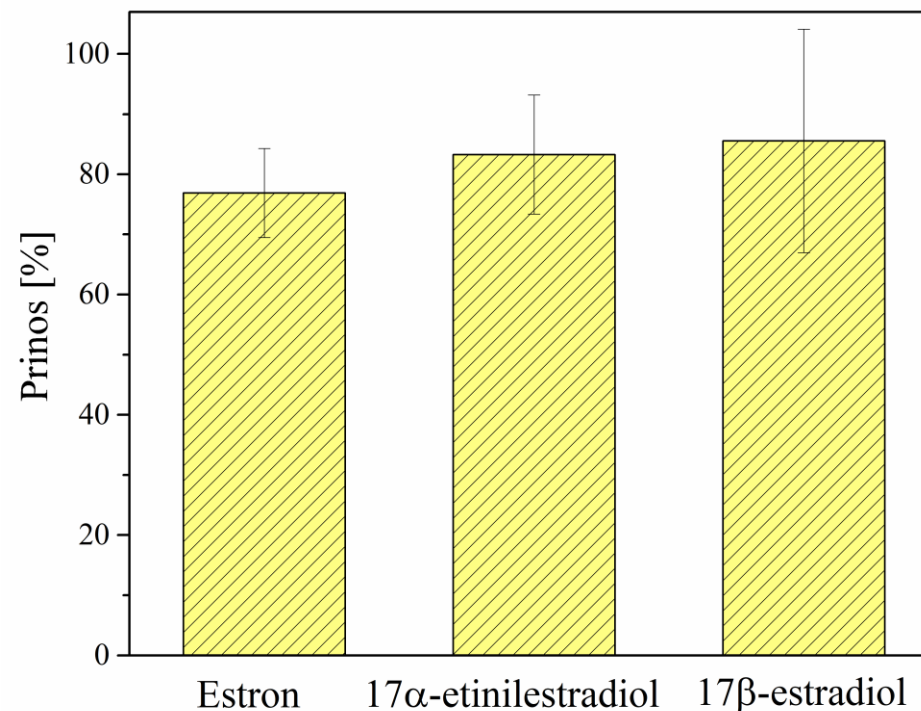
Tabela 4 Prinosi SPE metode dobijeni korišćenjem različitih organskih rastvarača za eluiranje

Hormon	Rastvarači		
	ACN	MeOH	DCM/MeOH
Estron	11,81	20,43	71,08
17 α -etinilestradiol	26,55	49,11	85,24
17 β -estradiol	7,32	23,21	76,95

Rezultati

Optimizovana metoda:

Na osnovu dobijenih rezultata optimizacije, odabrani su sledeći parametri SPE metode: 100 cm³ vodenog rastvora hormona; početna pH vrednost vodenog rastvora podešena na 7; SPE kertridži napunjeni sa 20 mg sorbenta i smeša MeOH/DCM za eluiranje



Zaključak

U ovom radu korišćen je ugljenični kriogel, kao sorbent u metodi ekstrakcije na čvrstoj fazi za izolovanje i predkoncentrisanje estrogenih hormona iz vode. Parametri SPE metode optimizovani su u cilju odabira optimalne mase sorbenta, zapremine i početne pH vrednosti vodenog rastvora hormona, kao i organskog rastvarača za eluiranje. **Optimizovana SPE metoda podrazumeva ekstrakciju hormona iz 100 cm³ vodenog rastvora, početne pH vrednosti podešene na 7, korišćenjem kertridža sa 20 mg sorbenta i smeše MeOH/DCM za eluiranje.** Primenom optimalnih parametara SPE metode dobijene su visoke vrednosti prinosa za sva tri ispitivana hormona, što ukazuje da se ugljenični kriogel može primeniti kao efikasan sorbent za ekstrakciju estrogenih hormona iz vode.

Hvala na pažnji!