

RYCHLÉ ZJIŠŤOVÁNÍ LÉČIV A JEJICH REZIDUÍ V ŽP

MAREK MARTINEC

Vysoká škola chemicko-technologická v Praze
Fakulta technologie ochrany prostředí
Ústav chemie ochrany prostředí

*Centralizovaný rozvojový projekt MŠMT č. C29:
„Integrovaný systém vzdělávání v oblasti výskytu a eliminace reziduí léčiv v
životním prostředí“*



Vyučující:

Mgr. Ing. Marek Martinec

Ústav chemie ochrany prostředí, Fakulta technologie ochrany prostředí VŠCHT Praha

Teoretická část práce a princip úlohy:

Spotřeba léčiv je značná a stále se zvyšuje a tím také dochází k jejich většímu uvolňování do složek životního prostředí. K riziku pro životní prostředí nepřispívá jen samotná vysoká produkce a spotřeba léčiv, ale spíše jejich perzistence v prostředí a kritická biologická aktivita (např. vysoká toxicita, vysoký potenciál ovlivňovat klíčové biologické funkce, jako je reprodukce apod.).

Cílem této práce je identifikace neznámých látek - léčiv v různých typech vzorků, výběr vhodné metody pro jejich analýzu a interpretace získaných výsledků. Veškeré analýzy budou provedeny přenosným Ramanovým spektrometrem Ahura FirstDefender, přenosným infračerveným spektrometrem s Fourierovou transformací (FT-IR) Thermo Scientific TruDefender FT a přenosným rentgenovým fluorescenčním spektrometrem ElvaX Mobile.

Stručná charakteristika použitých analytických metod:

Ramanův spektrometr je schopen velice rychle a přesně určit značné množství organických a anorganických látek a směsí látek v kapalném, pevném a pastovitém stavu přímo v nádobách z průhledného skla či plastu. Zejména je schopen identifikovat léky, „bílé prášky“, drogy, jedy, chemikálie či výbušniny. Námi používaný Ramanův spektrometr není schopen identifikovat biatomové molekuly s iontovými nebo iontově polárními vazbami (např. chlorid sodný, chlorid draselný, jodid draselná apod.) dále vodu, většinu kovů, některé nekovové prvky, bílkoviny, vysoce fluoreskující látky, tmavé látky pohlcující laserové záření, plyny a B-agens.

Infračervený spektrometr s Fourierovou transformací je schopen na základě absorpce infračerveného záření rychle identifikovat velké množství organických a anorganických sloučenin. Uplatnění nachází zejména při analýze léků, drog, organických látek, výbušnin a chemických sloučenin zejména v případech, kdy výsledky poskytované Ramanovou spektrometrií nejsou průkazné. Infračervená spektrometrie je tak důležitou doplňkovou metodou k Ramanově spektrometrii. Nicméně i infračervená spektrometrie má svá omezení a nelze jí identifikovat většinu kovů, látky silně absorbující infračervené záření a látky obsahující velké množství vody, která svým silným signálem může stanovení rušit.

Pro stanovení kovů a obecně pro provedení prvkové analýzy a kvalitativní a kvantitativní určení všech prvků od hořčíku (sodíku) až po uran (plutonium) lze využít přenosný rentgenový fluorescenční spektrometr (XRF). Tento přístroj je schopen analyzovat látky v pevném kapalném a pastovitém stavu. Přístroj lze s výhodou využít pro analýzu těžkých kovů a stanovení elementárních prvků obsažených v lécích, jako jsou multivitaminy obsahující Ca, P, Mg, I, Cu, Mn, Cr, Mo, Se, Zn, Fe atd. Dále pak těžké kovy jako je platina v cytostatikách či zubních odpadech, dále pak rtuť přítomnou v diagnostických látkách (Thiomersal), desinfekci (Merbromin, Nitromersol), diuretikách (mercorophylin) či teploměrech. V neposlední řadě lze nalézt kovy vzácných zemin (gadolinium, indium, osmium) organokovové Gd – pro magnetickou rezonanci (MRI), dále v nemocničních odp. vodách 1 – 100 $\mu\text{g.l}^{-1}$ (přirozené pozadí – 0,001 $\mu\text{g.l}^{-1}$) a v kontrastních médiích s Gd (nebiodegradabilní).

Postup pro identifikaci neznámých látek:

Vzorek analyzujeme v případě Ramanovy spektrometrie buď přímo in-situ, nebo analyzujeme přes stěnu průhledných skleněných či plastových nádob či obalů, popřípadě vzorek pro analýzu přemístíme do skleněných vialek. V případě analýzy s FT-IR spektrometrem je nejprve nezbytné určit spektrum okolního prostředí. Následně kapalně vzorky analyzujeme kápnutím dostatečného množství vzorku na senzor přístroje. V případě pevných vzorků odebere reprezentativní vzorek, který umístíme do drtiče vzorku „Sample Crusher“ ke kterému následně připojíme FT-IR. V případě XRF spektrometru umístíme pevný vzorek na folii nad rentgenku v případě kapalného vzorku do speciální plastové vzorkovnice s mylarovou folií a uzavřeme olověný kryt detektoru.

Před vlastní analýzou předložených vzorků vždy popíšeme a zaznamenáme jejich vzhled, konzistenci, identifikační číslo a následně ke každému vzorku přiřadíme nalezenou látku zjištěnou pomocí Ramanov, FT-IR a XRF spektrometru.

Během práce se všemi přístroji používáme ochranné pomůcky a dbáme na bezpečnost práce, zejména při zacházení s neznámými vzorky. V případě Ramanova spektrometru udržujeme vzdálenost minimálně 35 cm od zdroje laseru (**laser třídy III.B**), který může i po odrazu nevratně poškodit zrak. V případě XRF spektrometru dbáme bezpečnostních pokynů sdělených vedoucím práce, jelikož se jedná o **zdroj rentgenového ionizujícího záření**. Rozdělení vzorků a instruktáž pro práci s přístroji budou provedeny před zahájením vlastní laboratorní práce.

Postup analýzy pomocí Ramanova spektrometru:

Pro analýzu vzorku nejprve vybereme vhodný měřicí nástavec, umístíme vialku se vzorkem do měřicí cely Ramanova spektrometru. Po zahájení analýzy dojde k ozáření vzorku koherentním laserem se stabilizovanou vlnovou délkou, který excituje molekuly vzorku do vyšších energetických vibračních hladin. Jelikož se jedná o nestabilní stav, navrátí se molekuly vzorku do stabilní základní energetické vibrační hladiny, při současném vyzáření fotonu. Většina vyzářených fotonů má stejnou vlnovou délku, jako měl excitační zdroj (Rayleighův rozptyl). Tyto fotony nenesou žádnou analytickou informaci a jsou tak ve sběrné optice odfiltrovány pomocí monochromátoru o stejné vlnové délce, jakou měl použitý laser. Nicméně u malého procenta fotonů dochází k Ramanovu rozptylu a jsou tak vyzářeny fotony s menší, popřípadě s větší vlnovou délkou, než měl excitační laserový paprsek. Tyto fotony projdou monochromátorem a jsou následně na difrakční mřížce rozděleny podle vlnových délek a analyzovány pomocí CCD čipu měřicího intenzitu dopadajícího záření. Právě intenzita dopadajícího záření umožňuje určování kvantity měřeného vzorku. Po změření vlnových délek a intenzit dopadajících fotonů získáme spektrum charakterizující konkrétní látku, popřípadě směsi látek. Toto spektrum je automaticky po skončení měření porovnáno se spektry uloženými v databázi a při nalezení shody je látka přesně identifikována.

Postup analýzy pomocí FT-IR spektrometru:

Před vlastní analýzou vzorků pomocí FT-IR vždy nejprve změříme spektrum „pozadí“ okolního prostředí. Tyto hodnoty budou v přístroji odečteny od výsledků měření vzorku, čímž získáme vlastní spektrum stanovované látky. V případě analýzy kapalných vzorků pokryjeme senzor FT-IR dostatečným množstvím kapaliny. Pevné vzorky umístíme do drtiče vzorků „Sample Crusher“ a připojíme k němu FT-IR. Po zahájení analýzy je vzorek ozářen modulovaným svazkem záření, u něhož postupně dochází k interferenci jednotlivých vlnových délek, což zajišťuje Michelsonův interferometr. Interferenční záření je po průchodu vzorkem různou měrou zeslabováno absorpcí konkrétních vlnových délek, které jsou specifické pro funkční skupiny a vazby přítomné v měřené látce. Takto získáme výsledný interferogram, jež představuje závislost intenzity prošlého záření na čase. Pro získání klasického záznamu spektra je v přístroji prováděna Fourierova transformace, převádějící interferogram na běžné spektrum závislosti intenzity dopadajícího záření na frekvenci (vlnočtu). Výsledné naměřené spektrum je pak porovnáno s vnitřní databází spekter a v případě nalezení shody je konkrétně identifikována měřená látka či směs látek.

Postup analýzy pomocí XRF spektrometru:

Před vlastní analýzou vzorků pomocí se důkladně seznámíme s bezpečnostními pokyny a s prací se softwarem a ovládáním přístroje. V případě analýzy pevných vzorků umístíme vzorek na folii ve vzorkovacím prostoru nad rentgenku, v případě kapalného vzorku nalijeme vzorek do speciální plastové vzorkovnice s plastovou folií. Před vlastním měřením vždy uzavřeme olověný kryt detektoru. Po spuštění analýzy dojde k ozáření vzorku rentgenovým zářením. Rentgenové záření vyrazí elektron z orbitalů nejbližší atomového jádra. Toto prázdné místo je zaplněno přeskokem elektronu z orbitalů vzdálenějších od jádra, přičemž rozdíl v energii elektronů je kompenzován vyzářením energie v podobě fluorescenčního záření. Detektor posléze detekuje energii a intenzitu vyzářeného fluorescenčního záření a jednotlivé peaky ve spektru pak představují prvky přítomné ve vzorku. Přístroj provede vyhodnocení a zobrazí obsah prvků (Mg – U) v analyzovaném vzorku.



Přenosný Ramanův spektrometr Ahura FirstDefender



Přenosný FT-IR Thermo Scientific TruDefender FT



Přenosný ED-XRF spektrometr ElvaX Mobile

Úkoly práce:

- 1) Identifikace léčiv a jejich reziduí v odpadech
- 2) Identifikace léčiv a jejich reziduí v odpadních vodách
- 3) Identifikace léčiv v reálných vzorcích
- 4) Identifikace léčiv v předem připravených vzorcích

Závěr:

U každého analyzovaného vzorku запиšte do protokolu vzhled vzorku, proved'te analýzu všemi dostupnými přístroji a запиšte látky a prvky analyzované přístroji a rozhodněte, o jaké léčivo se jedná a v jakém přibližném množství.

Literatura:

¹ ZÝKA, J. Analytická příručka: Díl I a II. 4. vyd. Praha: SNTL, 1988, 832 s.

Poznámky a výpočty: