



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

## Stanovení kofeinu v extraktu kávy metodou SPE

(vypracovaly: Mgr. Romana Kostrhounová, Ph.D., RNDr. Ivana Borkovcová, Ph.D.)

### 1. Princip

Metoda SPE je založena na rovnovážné distribuci analytu mezi vodnou a tuhous fází, přičemž rovnováha je posunuta ve prospěch tuhé fáze.

Roztok analytu je přiveden do kontaktu s tuhým aktivovaným sorbentem, který sorbuje analyt a pouze v minimální míře ostatní složky vzorku. Zachycený analyt je následně uvolněn elucí vhodným elučním činidlem a analyticky stanoven.

#### *Provedení SPE*

1. Kondicionace – příprava kolonky na reprodukovatelnou interakci složek vzorku s pevnou fází. Kolonka se propláchne předepsaným rozpouštědlem – aktivace pevné fáze pro interakci se vzorkem. Následně je promyta rozpouštědlem podobným vzorku – úprava prostředí pro vlastní vzorek.

2. Aplikace vzorku – podle druhu pevné fáze a vzorku dochází ke specifickým reakcím látek s pevnou fází.

Úprava vzorku – vhodné pH, iontová síla, ředění

Objem vzorku - ↑ objem odstraní kondicionované rozpouštědlo, ale klesá účinnost a výtěžnost, analyty mohou být vymývány již při aplikaci vzorku. Použitý objem vzorku je ovlivněn velikostí a typem kolonky, koncentrací analytu, množstvím interferencí, zadrží analytu sorbentem.

Průtok – musí být zajištěn dostatečný kontakt vzorku s pevnou fází.

3. Promytí - propláchnutí kolonky vhodným rozpouštědlem, odstranění kontraktů, analyty zůstávají sorbovány na pevné fází.

4. Sušení – pokud se eluční rozpouštědlo výrazně liší od promývacího roztoku, kolonku je třeba vysušit proudem vzduchu či inertního plynu, např. dusíku

5. Eluce – kolonka se promývá elučním rozpouštědlem, dochází k selektivní desorpci analytů z pevné fáze a k jejich vymytí z kolonky.

Volba rozpouštědla – podobné v podobném se rozpouští, snadno odpařitelné.

Eluát je dále jímán a upravován, např. pro chromatografickou analýzu.

### 2. Materiál

Extrakt rozpustné kávy

Destilovaná voda

Methanol

SPE aparatura Baker

SPE kolonky Oasis HLB 3cc, 60 mg

Rotační vakuová odparka

Odměrné baňky – 100 ml

Varné baňky – 50 ml

Analytické váhy

Automatické pipety



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost

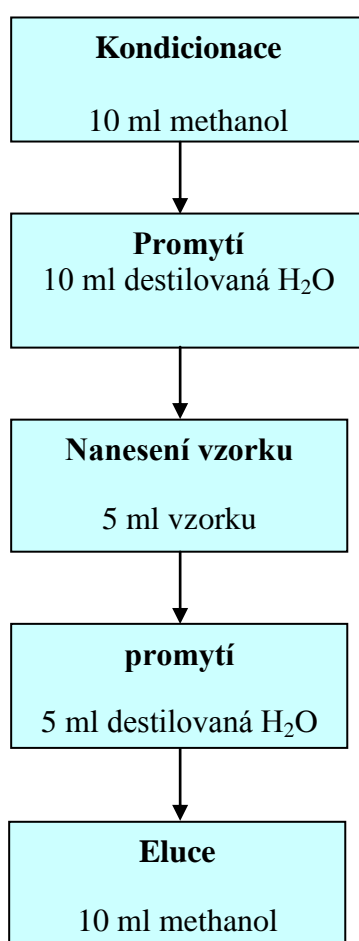


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vialky  
Kádinky

### 3. Pracovní postup

- 1 g vzorku obsahující kofein + 100 ml destilované vody
- Filtrace přes filtrační papír do 100 ml odměrné baňky
- alikvot 5 ml vzorku na SPE
- SPE sorbent : Oasis HLB 3cc, 60 mg



- Odpaření vzorku na RVO do poslední kapky + 1 ml MetOH