

PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

zveřejněná podle § 31 zákona č. 527/1990 Sb.

(19)
ČESKÁ
REPUBLIKA



ÚŘAD
PRŮMYSLOVÉHO
VLASTNICTVÍ

(22) Přihlášeno: **26.07.2001**

(32) Datum podání prioritní přihlášky: **01.08.2000**

(31) Číslo prioritní přihlášky: **2000/10037389**

(33) Země priority: **DE**

(40) Datum zveřejnění přihlášky vynálezu: **14.08.2002**
(Věstník č. 8/2002)

(86) PCT číslo: **PCT/EP01/08657**

(87) PCT číslo zveřejnění: **WO02/09732**

(21) Číslo dokumentu:

2002 -1409

(13) Druh dokumentu: **A3**

(51) Int. Cl. ⁷:

A 61 K 35/22

C 07 J 75/00

(71) Přihlašovatel:

SOLVAY PHARMACEUTICALS GMBH, Hannover,
DE;

nutno očekávat žádný rozklad.

(72) Původce:

Ahnsorge Jürgen, Neustadt, DE;
Bán Ivan, Hannover, DE;
Rasche Heinz-Helmer, Burgdorf, DE;

(74) Zástupce:

PATENTSERVIS PRAHA a.s., Jivenská 1, Praha 4,
14000;

(54) Název přihlášky vynálezu:

Způsob a zařízení k obohacování a stabilizaci
konjugovaných estrogenů z moči klisen

(57) Anotace:

Je popsán způsob a zařízení k obohacování a stabilizaci konjugovaných estrogenů z moči březích klisen na pevných nosičích, aby byl získán vhodný výchozí materiál pro výrobu farmaceutik, která obsahují přirozenou směs těchto konjugovaných estrogenů jako účinnou složku. Dané zařízení podle vynálezu je charakterizováno svým sklonem k praktickému decentralizovanému a zejména místu ustájení a pastvinám blízkému obohacování a stabilizaci směsi konjugovaných estrogenů (CE) obsažené v moči březích klisen (PMU) na pevném nosiči (= adsorbentu) v příslušném sloupci nebo kartuši. Naplnění adsorpčních sloupců může být tak prováděno přímo na místě shromažďování moče. Tím odpadá jinak nutná denní přeprava velkých množství močové tekutiny k centrálnímu místu zpracování. Plnění může probíhat kontinuálně po delší dobu, až po několik týdnů, dokud adsorpční sloupec nebo kartuše není nasycen. Odtékající zbylá moč zůstává na místě určení, kde jsou pro příslušnou likvidaci stejně přítomna vhodná zařízení. Přepravován je jen zaplněný sloupec nebo kartuše a přeprava může probíhat ve větších časových intervalech, stejně jako může být nárokována i delší doba, např. až několik týdnů. Vzhledem k překvapující dobré stabilitě CE na adsorbéru není

CZ 2002 - 1409 A3

Způsob a zařízení k obohacování a stabilizaci konjugovaných estrogenů z moči klisen

Oblast techniky

Předložený vynález se týká způsobu a zařízení k obohacování a stabilizaci konjugovaných estrogenů z moči březích klisen na pevných nosičích, aby se získal vhodný výchozí materiál pro výrobu farmaceutik, která obsahují přirozenou směs těchto konjugovaných estrogenů jako účinnou složku.

Dosavadní stav techniky

Estrogeny jsou používány v lékařství k hormonální substituční terapii. Zejména jsou používány směsi estrogenů k léčbě a prevenci potíží vyskytujících se u žen v době přechodu po přirozené nebo umělé menopauze. Přitom se přirozené směsi konjugovaných estrogenů, jež existují v moči březích klisen, ukázaly jako obzvlášť účinné a dobře snášenlivé.

Obsah pevných látek rozpuštěný v moči březích klisen (= pregnant mares' urine, v následujícím textu zkráceno jako „PMU“) může přirozeně kolísat v širokých rozmezích a obecně leží v rozsahu 40 – 90 g sušiny na litr. Vedle močoviny a jiných běžných látek obsažených v moči jsou v obsahu pevných látek PMU obsaženy fenolické složky v množstvích 2 – 5 hmotn.%, %, vztaženo na sušinu. Mezi těmito fenolickými složkami se nacházejí krezoly a jako HPMF známý dihydro-3,4-bis[(3-hydroxyfenyl)methyl]-2(3H)-furanon. Tyto látky se mohou

nacházet ve volné nebo konjugované formě. V PMU je obsažena přirozená směs estrogenů, jež existuje dalekosáhle v konjugované formě, např. jako sodná sůl poloesteru kyseliny sírové (dále zkracováno jako „sulfátová sůl“). Obsah konjugovaných estrogenů (= conjugated estrogen, dále zkracováno jako „CE“) může být vypočten jako sulfátová sůl estrogenu a vztaženo na sušinu činí mezi 0,3 a 1 % hmotn.

K přímému zpracovávání a získávání konjugovaných estrogenů obsažených v PMU jsou za dnešního stavu techniky popsány různé způsoby postupů. Obvykle jsou extrakty obsahující konjugované estrogeny získávány z PMU extrakcí polárním, s vodou nemísitelným nebo jen málo mísitelným organickým rozpouštědlem, jako např. ethylesterem octové kyseliny, n-butanolem nebo cyklohexanolem. Při takových kapalino-kapalinových extrakcích se však vyskytuje velmi mnoho problémů, jako silná tvorba pěny, tvorba sedimentů a emulzí a špatné dělení fází. K zamezení těchto nevýhod byla proto k současnému stavu techniky navržena řada způsobů extrakce pevných fází.

Pro úpravu malých množství močových a plazmových kapalin pro analytické určení estrogenů pomocí plynové chromatografie popisují Heikkinen et al. (Clin. Chem. 27/7, (1981), 1186-1189) a Shackleton et al. (Clinica Chimica Acta 107(1980) 231-243) extrakci pevné fáze z estrogenů pomocí příslušné patrony či pouzdra náboje (kartuše) se silanizovaným křemičitým gelem obsahujícím oktadecylsilanové zbytky (Sep-Pak^R C¹⁸-cartridge, výrobce Waters Ass. Inc. Milford, MA, USA). Přitom jsou z patrony eluovány methanolem dané estrogeny.

H. L. Bradlow roku 1986 (viz Steroids 11(1968), 265-272) navrhl, aby se k extrakci konjugovaných estrogenů z moči použil Amberlite XAD-2^R, neutrální nepolární hydrofobní polystyrenová pryskyřice firmy Rohm a Haas. Uvedená adsorpční kapacita je malá. Podle Bradlowa se eventuálně zředěná moč vede nízkou průtokovou rychlostí sloupcem obsahujícím danou pryskyřici. Estrogeny jsou eluovány methanolem nebo ethanolem.

Novější patentové přihlášky popisují způsoby k získávání extraktu obsahujícího přirozené směsi konjugovaných estrogenů z moči klisen extrakcí pevné fáze směsi konjugovaných estrogenů z moči březích klisen např. RP-křemičitým gelem (WO 98/08525) nebo neiontových semipolárních polymerních adsorpčních pryskyřic (WO 98/08525).

Vedle výše popsané optimalizace přímé, úplné úpravy moči březích klisen (PMU) k získávání přirozených směsí konjugovaných estrogenů (CE) existují rovněž kroky předložené v dané úpravě, jako např. zaručení estrogen šetřícího skladování a manipulace s nashromážděnou močí na daném místě, jež mají zvláštní význam pro výtěžek a kvalitu surového materiálu obsahujícího estrogen a z toho se izolující přirozené směsi konjugovaných estrogenů. V této souvislosti je nutno usilovat též o optimalizaci přepravy nashromážděného, estrogeny obsahujícího surového materiálu z místa nashromáždění na místo vlastní úpravy a izolace konjugovaných estrogenů.

Úplná úprava PMU např. extrakcí pevné fáze vyžaduje chemicko-farmaceuticky kvalifikovaný odborný personál, aby

mohly být za dobře řiditelných podmínek dodrženy vysoké požadavky na čistotu a kvalitu látky nebo směsi látek používané jako farmaceutické účinné látky. Shromažďování či jímání moči (PMU) však probíhá obvykle v normálním životním prostředí březích klisen, tzn. v hřebčincích, selském okolním či životním prostředí a často rovněž na odlehlejších místech. Zpravidla zde jde jen o jednoduchou infrastrukturu a shromažďování moči (PMU) a manipulace s ní probíhá obvykle s jednoduchým, zaškoleným personálem, na nějž v souvislosti s manipulací se shromážděnou močí nemohou být kladeny žádné příliš vysoké požadavky.

Konjugované estrogeny (CE), v daném složení vylučovány ve formě moči březích klisen, jsou ale komplexní směsí, jež obsahuje zejména estronsulfát sodný, equilinsulfát sodný, jakož i další CE. Pro izolaci CE je velmi důležité, aby PMU byl zpracován co možná nejrychleji v čerstvém stavu. Při delším uchovávání se začíná moč rychle rozkládat. Moč se zbarvuje do tmava, páchne po amoniaku a obsah CE velmi rychle klesá. Rychlost rozkladu závisí na skladovacích podmínkách a kritériích čistoty. Shromážděná moč (PMU), přičemž se jedná o velká množství kapaliny, musí být proto denně přepravována z místa jímání na centrální místo zpracovávání, aby byla zaručena co nejrychlejší úprava.

Existuje proto naléhavá potřeba vhodných postupů a zařízení k co možná nejšetrnějšímu a jednoduše manipulovatelnému obohacování a stabilizaci konjugovaných estrogenů (CE), jež jsou obsaženy v moči březích klisen (CE), přímo na místě shromažďování moči (PMU), jakož i k co možná

nejúčinnější přepravě z místa shromažďování na místo zpracovávání a izolace.

Podstata vynálezu

Úkolem tohoto vynálezu je tak, při zamezení výše popsaným nevýhodám, vyvinout technický způsob vhodný pro získávání přirozené směsi konjugovaných estrogenů a vhodné zařízení pro obohacování a stabilizaci konjugovaných estrogenů (CE) ze shromážděné moči březích klisen (PMU). Zejména mají daný způsob a zařízení umožnit produkt šetřící, jednoduše manipulovatelné obohacování a stabilizaci konjugovaných estrogenů z PMU na místě jímání dané moči stejně jako co nejčinnější přepravu takto připraveného, estrogeny obsahujícího surového materiálu z místa shromažďování na místo vlastního zpracování a izolace přirozené směsi konjugovaných estrogenů.

Nyní bylo překvapivě zjištěno, že konjugované estrogeny (CE) jsou vázány velmi stabilně na pevných nosičích (= adsorbentech, adsorpčních činidlech) a lze je delší dobu uchovávat bez nějakých známek rozkladu.

Tento vynález se proto týká způsobu praktického, decentralizovaného, tzn. zejména blízko místa ustájení a/nebo místa pastvišť, obohacování a stabilizace směsí konjugovaných estrogenů (CE) z moči březích klisen (PMU), jenž se vyznačuje tím, že v

- moči březích klisen (PMU) obsažená přirozená směs konjugovaných estrogenů (CE) na pevném nosiči je obohacována a stabilizována, když (příčemž)
- předem dané maximální celkové množství nashromážděné, event. předem síťované močové tekutiny se ze zásobní

nádoby kontinuálně nebo v přerušovaných dílčích množstvích čerpá předem danou rychlostí proudění pomocí svisle uspořádané kartuše (patrony) a odtékající močová kapalina se vyřazuje, přičemž

- kartuše (patrona) je plněna (stále) kapalinou obklopeným adsorbentem, vhodným k adsorpci předem definovaného množství směsi konjugovaných estrogenů (CE), a přičemž
- jako kontrola konečného bodu (titrační kontrola) pro nakládku adsorbentu je odsouhlaseno předem dané, maximální celkové množství kartuší čerpané močové kapaliny na maximální nakládací (plnicí) kapacitu daného adsorbentu pro konjugované estrogény (CE) obsažené v močové kapalině.

Pojem „praktický“ přitom znamená, že daný způsob je přizpůsoben podmínkám jímací či shromažďovací praxe „vor Ort“, tedy že je jednoduchý a bezpečně manipulovatelný zaškoleným personálem; tzn. není komplikovaný a je proveditelný a dalekosáhlým vyloučením možných chybných zásahů.

Pojem „decentralizovaný“ zde znamená, že daný postup může být prováděn na jakémkoliv místě zařízení či provozu ke shromažďování moči bez speciálních chemicko-farmaceutických zařízení, tzn. zejména v blízkosti ustájení a/nebo pastvin. Jako „kartuše“ se přitom zde rozumí jakýkoliv druh uzavřeného sloupce s uzavíratelným přítokem a odtokem, jakož i připojovacími prvky, např. rychlospojkami. Pojem „kartuše“ zahrnuje tak v rámci tohoto vynálezu také sloupce, které se používají obvykle v laboratoři, techniku (technické odborné

škole), event. chemickém provozu, a jež jsou vybaveny, jak bylo výše popsáno, pro použití podle vynálezu.

Podle způsobu podle tohoto vynálezu se přednostně připraví surový, event. výchozí materiál sloužící pro výrobu farmaceutik, která obsahují přirozenou směs konjugovaných estrogenů z PMU jako účinnou složku, a v němž může být prakticky úplně obsah přirozené směsi estrogenů (PMU) obohacován na adsorbentu (nosiči) a po delší dobu za normálních podmínek daného shromažďovacího místa stabilizován. Po úplném (maximálním) naložení či naplnění může být příslušná patrona nebo kartuše snadno nahrazena kartuší (patronou) bez adsorbentu. Kartuše s naloženým adsorbentem mohou být ještě dlouhou dobu uchovávány přímo na samotném místě při okolní teplotě nebo, je-li to žádoucí, také za chlazení až asi do 4 °C a za určitých předpokladů hluboce ochlazeny až do -20 °C, např. dokud existuje určitý počet nabitých (naložených) sloupců (kartuší) pro účelnou shromažďovací přepravu až k centrálnímu místu zpracování. Přeprava může probíhat za okolních teplot nebo, jak bylo již popsáno pro dané uchovávání (skladování), za chlazení, resp. hlubokého chlazení. Vlastní zpracování a izolace přirozené směsi konjugovaných estrogenů (CE) může pak probíhat v centrálním místě zpracování způsobem obvyklým pro aktuální adsorbens, např. promýváním a elucí CE z adsorbentu a další zpracování eluátu obvyklým způsobem. Např. eluát může být pro něho známým způsobem dále zúžen, aby byl získán dalekosáhle nebo úplně organického rozpouštědla zbavený koncentrát vhodný k dalšímu galenickému zpracování. V žádoucím případě může být jinými vhodnými sušicími postupy, jako např. sušením rozprašováním, sušením ve fluidní vrstvě, sušením vymrazováním (sublimací ze zmrazeného stavu) nebo vakuovým

sušením, také vyrobena směs pevných látek zbavená elučního činidla. Jak eluát obsahující směs estrogenů, tak z něho vyrobený koncentrát nebo rozprašováním vysušený pevný produkt mohou být pro ně známým způsobem zpracovány na pevné nebo kapalně galenické přípravky, jako např. tablety, dražé, tobolky nebo emulze.

Vedle daného způsobu podle vynálezu se týká rovněž (v tomto způsobu použitelného) zařízení, jež lze použít v tomto způsobu, které je přizpůsobeno jednoduchým podmínkám na místě použití účelným či vhodným způsobem a zaručuje bezpečné provádění daného způsobu šetřící produkt. Toto zařízení podle vynálezu se hodí k praktickému, decentralizovanému, tzn. zejména v blízkosti míst ustájení nebo pastvin, obohacování a stabilizaci. Dále budou obecně vysvětleny ještě některé další parametry důležité pro provedení daného způsobu. S ohledem na speciální konstrukční, event. přístrojové formy příslušných zařízení, jež se hodí k provádění způsobu podle vynálezu, se dále odkazuje na podrobný popis zařízení podle vynálezu, k němuž je třeba navíc přihlížet vedle následujícího obecného popisu provádění daného způsobu.

Pro tento způsob podle vynálezu může být použit nashromážděný PMU jako takový a denně nashromážděné množství PMU se přitom nejprve uchovává v zásobní nádrži. V daném případě se doporučuje předchozí oddělení hrubých mechanických nečistot, jako slámy, sena apod., např. pomocí jednoduchého hrubozrnného síta při plnění zásobní nádrže čerstvě nashromážděným PMU. V žádoucím případě mohou být za účelem zmenšení počtu zárodků či klíčků a virů k moči

nashromážděné v zásobní nádrži přidávány konzervační prostředky, germicidy, baktericidy a/nebo antelmintika.

Ze zásobní nádrže se PMU čerpá pravidelně v závislosti na shromážděném množství moči, např. jednou až dvakrát denně, pomocí příslušného čerpadla, např. pomocí hadicového čerpadla, ke kartuši – patroně – obsahující dané adsorpční činidlo. Tato kartuše vykazuje obvykle rozměry a hmotnosti, jež dovolují manuální práci (zacházení) normálními silnými osobami. S ohledem na daný způsob se doporučuje vnitřní rozměry kartuše pro vzrůstající lože s adsorbentem dimenzovat tak, aby kartuše mohla zachytit asi 30 až 50 l adsorpčního činidla a PMU od vstupu až do výstupu musel urazit dráhu od 80 až do 120 cm, přednostně zpět. Podle vynálezu probíhá adsorpce konjugovaných estrogenů na adsorpční činidlo kontaktem PMU s adsorbentem, přičemž močová tekutina se zavede (uvede) do svisle uspořádané kartuše obsahující dané adsorpční činidlo, podle volby např. z horní nebo spodní strany, a v ní je během průtoku po dobu dostatečnou k adsorpci obsahu estrogenů udržována v kontaktu s daným adsorpčním činidlem, dokud zbylá moč konečně neopustí na opačné straně kartuše. PMU se přitom takto, např. z horní nebo spodní strany, zavádí do kartuše, aby se zaručilo, že adsorpční činidlo je stále obklopeno kapalinou, aby se pokud možno vyloučil nežádoucí chod nasucho kartuše.

Doba kontaktu, resp. rychlost proudění, je odsouhlasena či sladěna s aktuálním adsorpčním činidlem a měla by u adsorpčních činidel (= rychlosti nakládání či plnění) vhodných pro daný způsob ležet v rozsahu od 3 do 10 ložných objemů adsorbéru/h, přednostně 4 až 6 ložných objemů adsorbéru.

Příkladně vhodné nakládací (plnicí) rychlosti jsou např. 4,5 až 5,5 ložného objemu adsorbéru(adsorbentu)/h.

Speciální doby kontaktu a rychlosti proudění jsou pro zvlášť upřednostňovaná adsorpční činidla uvedena dále dole u popisu těchto adsorpčních činidel.

Maximální celkové množství močové kapaliny, jež může být vedeno přes kartuši, závisí na adsorpční kapacitě daného adsorpčního činidla a mělo by u adsorpčních činidel vhodných pro daný způsob ležet v rozsahu od 20 do 60 ložných objemů adsorbéru, raději od 30 do 40 ložných objemů adsorbéru. Obvykle by proto (s)mělo maximální celkové množství močové kapaliny, jež může být k nakládání (plnění) vedeno přes kartuši, ležet v rozsahu od 900 do 2.000 l. Aktuální konečná hodnota průtokového množství je obsluhujícím personálu na shromažďovacím místě pro aktuální typ kartuše pevně dána předem. K měření množství močové tekutiny čerpané přes kartuši může být proto použit jednoduchý průtokoměr, přednostně např. průtokový měřič. Po dosažení maximální nakládky (vsázky) se může eventuálně přepnout na paralelní druhý kartuši a adsorpční postup pokračuje přes tuto druhou kartuši.

Je-li pro danou kartuši dosaženo předem dané konečné hodnoty, pak se kartuše s adsorbovanými CE v žádoucím případě ještě promyje např. vodou a/nebo jiným vhodným vodným promývacím roztokem předtím, než se přeruší přívod kapaliny. Potom se odtok a přítok kapaliny uzavřou a pak se daná spojka, např. jednoduchá rychlospojka, přívodu kapaliny uvolní až ke kartuši. Naplněná kartuše se může potom odejmout, uloží se na vhodném

místě až do přepravy k centrálnímu místu zpracování a čerstvává, nenaložená kartuši se připojí k přívodu kapaliny.

Kartuše se může po naložení (vsazení) (s) PMU, např. před výměnou kartuše plně naložené PMU nebo rovněž před dosažením celkové nakládací kapacity po(dle) libovolných jednotlivých dílčích nakládacích krocích, propláchnout v žádoucím případě ještě vodou a/nebo jiným vhodným vodným roztokem, např. zásaditým vodným roztokem, jako je zejména např. zředěný vodný sodný louh (např. vodný 0,5-2 N NaOH), aby se z kartuše odstranila zbylá močová kapalina. Množství promývacího roztoku není kriticky důležité a může být přednostně voleno tak, aby dostačovalo k vytěsnění zbytkové močoviny z kartuše, aniž by se přitom současně vymývala pozoruhodná množství konjugovaných estrogenů. Jako účelné se např. ukazuje použití 1-3, přednostně asi 2 ložné objemy promývací kapaliny na ložný objem adsorpčního činidla. Přitom se promývací voda nebo promývací roztok účelněji vede přes kartuši obsahující adsorbens průtokovou rychlostí od 3 do 10, raději 5 až 7 objemových dílů promývací vody na 1 objemový díl adsorpčního činidla/hodinu. Adsorpční činidlo naložené či naplněné v kartuši CE může sloužit jako surovina, resp. výchozí materiál, pro izolaci čistého CE pro výrobu léčiv či léčivých prostředků obsahujících přirozenou směs konjugovaných estrogenů.

V jedné variantě daného vynálezu může být kartuše po promytí vodou a/nebo promývacím roztokem k další stabilizaci adsorbovaného CE propláchnuta nakonec ještě konzervujícím roztokem, vodným roztokem s nastaveným pH a/nebo vodným roztokem soli předtím, než je kartuše uvolněna z daného zařízení a nahrazena čerstvou kartuší. K zabránění vzkličení sloupců,

zvláště při skladování nebo přepravě bez chlazení by mohly být použity běžné konzervační prostředky a např. také germicidy, baktericidy a/nebo antelmintika. Nastavení pH promývací vody se bude řídit podle aktuálně použitého adsorpčního činidla. Jako solné roztoky mohou být používány různě koncentrované vodné roztoky anorganických solí, jež jsou uvedeny pro příklady v tabulce III.1. Použití solných roztoků se doporučuje zvláště také tam, kdy mají být Kartuše naložené CE uchovávány v chlazeném stavu nebo zejména v hluboce chlazeném stavu. Upřednostněné solné roztoky jsou roztoky kuchyňské soli s koncentracemi solí zhruba od 10 do 35 % hmotn., přednostně od 25 do 33 % hmotn.

V upřednostněném ztělesnění daného způsobu podle vynálezu se shromážděná moč dříve, než se načerpá ze zásobní nádrže ke kartuši, zbaví zvláště slizových látek a jemnozrnných pevných látek. Je proto účelné, aby se močová tekutina ze zásobní nádrže před čerpáním močové kapaliny pomocí Kartuše vedla především nejprve přes jeden nebo více předběžných filtrů. Tak může být PMU veden příkladně přes alespoň jedno ze známých dělicích zařízení, např. filtračním zařízením majícím nejméně jeden hloubkový filtr nebo náplavový filtr. Jako dělicí zařízení může sloužit např. hloubkový filtr s psíkovým ložem nebo obchodně běžná filtrační Kartuše nebo mohou být použity obchodně běžný náplavový filtr či deskový filtr, svíčkový filtr, filtrační plachetka nebo rovněž filtrační trubky. Filtry mohou být nasazovány jednotlivě nebo ve větším počtu i v libovolné kombinaci mezi sebou navzájem, např. v sérii za sebou navzájem a/nebo paralelně zapojeny. V žádoucím případě mohou být před filtrací přidávány k močové kapalině (PMU) ještě filtrační pomocné prostředky. Vhodnými filtračními pomocnými

prostředky jsou např. takové, jež váží uhličitán vápenatý a/nebo mucin a tím zlepšují filtraci moči. Eventuálně může být za filtrem zařazen ještě odlučovač částic, např. v případě pískového lože jako filtru dodatečně zařazený pískový odlučovač.

Odborníkovi jsou zásady či způsob provádění filtrace běžně známy. Se zřetelem k úkolu řešenému tímto vynálezem přicházejí proto v úvahu běžné zásady čiřicí filtrace pro použití podle tohoto vynálezu. Čiřicí filtrace je zaměřena na čištění kapalné fáze tak, aby čistota filtrátu byla podstatnou vyhodnocovací veličinou pro dosažení cílu daného způsobu. Dělicí způsob je realizován zásadně spolupůsobením mezi filtračním prostředkem a danou suspenzí. Toho je nutno dbát jak při výběru filtračního prostředku, modelování daného způsobu, tak při postupově-technickém dimenzování filtračních aparátů. Ve většině případů ovlivňuje vyloučená pevná látka průběh způsobu rozhodujícím způsobem. Tak přebírá při dostatečném podílu pevné látky a při její schopnosti tvorby mŕstků (částice se vyztužují působením filtračního prostředku, aniž by se ucpávaly) vznikající a průběžně rostoucí filtrační koláč funkci filtračního prostředku. V tomto případě náplavové filtrace, filtrace koláče, určuje struktura filtračního koláče průběh příslušného postupu, zatímco vlastní filtrační prostředek po počáteční fázi má již jen podpŕrnou funkci. Místo odlučování pevných látek je dalším podstatným znakem pro rozlišování filtračních postupů. U povrchové filtrace probíhá odlučování pevných látek na povrchu filtračního prostředku pomocí síta, tzn. na základě vztahů veličin mezi částicemi pevných látek a póry filtračního prostředku. Naproti tomu při hloubkové filtraci částice pevných látek vnikají do filtračního prostředku a usazují se v jeho vnitřku.

Adsorpčními látkami použitelnými v kartuši mohou být všechny anorganické nebo organické adsorpční látky, jež vykazují dostatečnou adsorpční kapacitu pro přirozenou směs konjugovaných estrogenů obsaženou v PMU. Jako adsorpční činidla pro daný způsob jsou proto vhodné polymerní adsorpční pryskyřice, křemičitý gel, RP-křemičitý gel nebo přednostně semipolární polymerní adsorpční pryskyřice pro použití v dané kartuši.

Hydrofobizovanými křemičitými gely použitelnými jako adsorpční činidlo jsou např. známé křemičité gely s vratnými fázemi (= s reverzními fázemi, zkráceno „RP-křemičité gely“), což jsou chemicky modifikované křemičité gely, jež nesou hydrofobní funkční skupiny, resp. ligandy. Tak se hodí např. silanizované RP-křemičité gely, jež obsahují jako hydrofobní funkční skupiny n-oktadecyldimethylsilyloxy-, n-oktyldimethylsilyloxy- nebo dimethylhydroxysilyloxyskupiny. Vhodné jsou např. silanizované křemičité gely se středními velikostmi zrn od 15 do 500 μm . Jako zvlášť účelný se ukázal křemičitý gel obsahující dimethylsilyloxyskupiny se střední velikostí zrn v rozsahu 0,05 až 0,3 mm, např. „Kieselgel 60/Dimethylsilanderivat“ firmy Merck. Ve vhodnějším případě může být močová tekutina vedena kartuší obsahující křemičitý gel takovou průtokovou rychlostí, aby doba kontaktu postačovala k adsorpci obsahu estrogenů. Vhodné jsou např. průtokové rychlosti, jež odpovídají průtoku 5 až 20 obj. dílů PMU na 1 obj. díl křemičitého gelu/hodinu. Adsorpce se provádí přednostně při teplotě místnosti. Průtoková rychlost močové kapaliny reaktorem může být účelně řízena pracemi při malém přetlaku (při regulaci výkonu čerpadla). Množství použitého

hydrofobizovaného křemičitého gelu může být měněno podle druhu použitého křemičitého gelu a množství obsahu pevných látek v nashromážděné močové kapalině. Při použití předfiltrovaného, tzn. slizu a pevných látek zbaveného PMU může být plněn jeden objemový díl hydrofobizovaného křemičitého gelu až s 80 objemovými díly předběžně upraveného PMU, aniž by byla dokazatelná viditelná množství estrogenů v odtékající močové tekutině.

Semipolárními polymerními adsorpčními pryskyřicemi používanými v kartuši jako adsorpční činidlo jsou přednostně porézní organické neiontové polymery, které na rozdíl od nepochopitelných hydrofobních polymerních adsorpčních pryskyřic mají střední polaritu (= např. s dipólmomentem aktivního povrchu pryskyřice v rozsahu 1,0 až 3,0, zejména 1,5 až 2,0 Debye) a trochu hydrofilnější strukturu, např. polyesterové pryskyřice karboxylových kyselin. Vhodně jsou nasazovány makroporézní semipolární pryskyřice s přednostně makroretikulární strukturou (s póry velkého průřezu) a s průměrnými průměry pory v rozsahu 50 až 150, přednostně 70 až 100, Angströmů a specifickým povrchem v rozsahu 300 až 900, přednostně 400 až 500, m^2/g . Jako zvlášť vhodné se ukazují makroporézní příčně zesíťované alifatické polyesterové pryskyřice karboxylových kyselin, zejména příčně zesíťované polyakrylesterové pryskyřice, jako např. Amberlite XAD-7^R firmy Rohm und Haas. Ve vhodnějším případě může být močová kapalina vedena kartuší, obsahující adsorpční pryskyřici, takovou průtokovou rychlostí, že doba kontaktu postačuje k adsorpci daného obsahu estrogenů. Vhodné jsou např. průtokové rychlosti, které odpovídají průtoku 3 až 10, přednostně 5 až 7, obj. dílům PMU na 1 obj. díl adsorpční

pryskyřice/hodinu. Adsorpce se přednostně provádí při teplotě místnosti. Průtoková rychlost močové kapaliny reaktorem může být účelně řízena pracemi při malém přetlaku (regulovaným výkonem čerpadla). Množství použité semipolární adsorpční pryskyřice může být měněno podle druhu použité adsorpční pryskyřice a množství obsahu pevných látek v nashromážděné močové kapalině. Při použití PMU může být např. plněn jeden objemový díl adsorpční pryskyřice až s 80 objemovými díly předběžně upraveného PMU, aniž by byla dokazatelná viditelná množství estrogenů v odtékající močové tekutině.

Vedle přednostně uvedených adsorpčních činidel mohou být používány také jiné adsorpční pryskyřice nebo typy křemičitých gelů. Jako adsorpční pryskyřice se přitom hodí jak nepolární, semipolární, tak polární adsorpční pryskyřice. Množství moči, jež může být načerpáno přes adsorbér, je třeba přitom určit předem podle aktuální kapacity adsorbéru. Příklady použitelných adsorpčních pryskyřic jsou obchodně běžné typy jako polymerní amberlitové adsorbenty se základními styroldivinylbenzenovými kostrami (např. typy XAD-1180, XAD-2, XAD-4, XAD-16), s akrylesterovými základními osnovami (např. XAD-7) nebo takové typy, jež mají vysoce polární základní kostry obsahující dusík a kyslík (např. XAD-12). Jinými adsorpčními pryskyřicemi jsou dowexové pryskyřice (kopolymery styrenu a divinylbenzenu), jako např. Dowex 112, Dowex Optipore, Dowex Optipore V 493; Lewatite (zesíťované polystyreny), např. Lewatit OC 1064, Lewatit OC 1066 nebo Lewatit OC 1163, polyaminanexové pryskyřice, např. dowexové pryskyřice. Výhodnými adsorpčními pryskyřicemi jsou zejména XAD-7, XAD-16 (typ HP), XAD 118 a Dowex Optipore, v přednostním

případě jako Dowex Optipore V 493, stejně jako Lewatite OC 1064, OC 1066 a OC 1163.

Vedle výše popsaného způsobu podle vynálezu se týká vynález rovněž zařízení použitelného v tomto způsobu, jež je přizpůsobeno jednoduchým podmínkám na místě nasazení vhodným způsobem a zaručuje bezpečné, produkt šetřící provádění daného způsobu.

Zařízení podle vynálezu je charakterizováno svou způsobilostí k praktickému, decentralizovanému, tzn. k místu pastvišť a ustájení blízkému, obohacování a stabilizaci směsí konjugovaných estrogenů (CE) obsažených v moči březích klisen (PMU) na pevném nosiči (= adsorbens), přičemž toto zařízení zahrnuje:

- svisle uspořádanou kartuši, obklopené (stále) příslušnou kapalinou, jež je naplněna adsorpčním činidlem vhodným k adsorpci předem definovaného množství směsi konjugovaných estrogenů (CE) obsažených v močové tekutině březích klisen, a přičemž daná Kartuše vykazuje buď a) na dolní straně umístěnou vpust (přívod) kapaliny a na horní straně umístěnou výpust (vývod) kapaliny nebo b) na horní straně umístěnou vpust (přívod) a na dolní straně umístěnou výpust (vývod) kapaliny,
- stejně jako před kartuší v uvedeném pořadí umístěné a hadicovými vedeními spolu navzájem spojené
- čerpadlo, reometr a průtokoměr.

Zařízení podle vynálezu je určeno k provádění výše popsaného způsobu k praktickému, decentralizovanému obohacování a

stabilizaci konjugovaných estrogenů (CE) obsažených v PMU. V žádoucím případě může dané zařízení obsahovat také dvě paralelně zapojené kartuše, jež mohou být provozovány za sebou nebo střídavě.

Kartuše použitá v zařízení podle vynálezu může být dimenzována v širokém rámci se zřetelem na výšku a průměr. Aby manipulace v praxi nebyla ovšem zhoršena, měla by být kartuše podle velikosti a hmotnosti dimenzována tak, aby se s ní mohlo běžně silnou osobou, např. při výměně naplněných kartuší za čerstvě vyložené kartuše, ještě dobře manuálně manipulovat a nosit. Příkladně by měla být proto kartuše dimenzována zhruba tak, aby kartuše vykazovala vnitřní rozměry pro adsorpční lože, jež dovolují pojmout 30 až 50 l adsorpčního činidla, přičemž zejména vnitřní výška leží v rozsahu 80 až 120 cm. Vnitřní průměr kartuše bude obecně činit 10 až 25 cm. Odborník je přitom v situaci, kdy musí provést přesné dimenzování kartuše, aby byly zaručeny optimální vztahy(poměry) proudění při provozu.

Dále existuje kartuše použitá v zařízení podle daného vynálezu účelněji z robustních, pevných a proti chemikáliím odolných materiálů, jaké jsou obvykle používány pro výrobu zařízení či přístrojů pro chemický průmysl, např. laboratorního skla odolného proti úderu, umělých hmot (plastů) a/nebo kovů, jako je např. ocelový plech.

V daném zařízení podle vynálezu mohou být používána libovolná, jednoduchá a robustně konstruovaná čerpadla, jako např. šroubová jednovřetenová čerpadla, hadicová čerpadla nebo

membránová čerpadla. Příkladně pro zařízení podle vynálezu se jako vhodné čerpadlo ukázalo hadicové čerpadlo.

V zařízení podle vynálezu mohou být používány libovolné, jednoduché a robustně konstruované průtokoměry, jako např. rotametry, hydraulické lopátkové excentrické průtokoměry nebo indukční průtokoměry. Např. jako průtokoměr pro zařízení podle vynálezu se ukázal účelným plovákový rotametr.

V daném zařízení podle vynálezu mohou být k měření množství močové kapaliny čerpané přes kartuši použity libovolné, jednoduché a robustně konstruované průtokoměry, jako např. vodoměry nebo induktivní průtokoměry. Jako účelný průtokoměr pro zařízení podle vynálezu se např. ukázal vodoměr (průtokový měřič).

Ve vhodné variantě zařízení podle vynálezu jsou mezi čerpadlem a průtokoměrem zařazeny navíc nejméně jeden nebo několik předběžných filtrů, např. hloubkový filtr nebo náplavový filtr. U těchto filtrů se může např. jednat o hloubkový filtr s pískovým ložem nebo obchodně běžnou filtrační kartuši, nebo obchodně běžné náplavové filtry nebo deskové filtry, svíčkové filtry, filtrační plachetky nebo rovněž filtrační trubky. Za předběžným filtrem může být eventuálně ještě zařazen odlučovač částic, např. v případě pískového lože jako předběžného filtru dále zařazený pískový odlučovač. Filtry mohou být nasazovány jednotlivě nebo ve větším počtu i v libovolné kombinaci mezi sebou navzájem, např. v sérii za sebou navzájem a/nebo paralelně zapojeny. Výhodné ztělesnění těchto variant se vyznačuje tím, že předběžným filtrem je modul ze dvou paralelně zapojených předběžných filtrů, které mohou být

střídavě provozovány jednotlivě a také při běžícím provozu zařízení mohou být vyměněny za čistý předčasný filtr. Další z výhodných ztělesnění těchto variant se vyznačuje tím, že filtrační zařízení se skládá z modulu do série zapojené předběžné filtrační jednotky z předfiltru (např. filtrační plachetky) a jednoho nebo dvou prohloubených filtrů a k nim paralelně připojených absolutních filtrů (např. membránových filtrů), přičemž absolutní filtry mohou být provozovány střídavě jednotlivě a také mohou být při běžícím provozu vyměněny za čistý filtr. Dále je v daném případě účelné, aby zařízení podle vynálezu mělo ke kontrole náležité funkce předfiltru vždy zapojen manometr mezi čerpadlem a předčišťovacím filtrem, jakož i jeden manometr v úseku za předfiltrem, umístěný přednostně až za průtokoměrem.

Přehled obrázků na výkresu

K dalšímu vysvětlení zařízení podle vynálezu v upřednostněném provedení slouží obr. 1, který ukazuje schématické zařízení ke stabilizaci a obohacování CE z PMU. Schématické zobrazení postupu varianty filtrace příslušnou trubicí je reprodukováno v obr. 2.

Způsob podle vynálezu a zařízení podle vynálezu ukazují řadu výhod, z nichž dále budou stručně uvedeny ty nejdůležitější. Obohacování CE, tzn. plnění či nakládání adsorpčních sloupců může být prováděno přímo na místě shromažďování. Odpadá tím denní přeprava velkých množství močové kapaliny do centrálního místa zpracovávání. Plnění (navážení) může ale kontinuálně probíhat po delší dobu až několika týdnů, dokud není adsorpční sloupec nasycen; např. u adsorpční pryskyřice XAD-7 činí množství adsorbované moči

přibližně 35 ložných objemů. Zbylá moč zbavená CE zůstává na místě, kde jsou pro likvidaci stejně přítomna vhodná zařízení. Přepravován je naplněný sloupec, tzn. jen 1/35 původní hmotnosti močové tekutiny. Přeprava může probíhat ve větších časových intervalech. Přeprava může vyžadovat rovněž delší dobu, např. až několik týdnů. Vzhledem k dobré stabilitě CE v adsorpčním sloupci nelze očekávat žádný rozklad. Odpadá manipulace velkých množství moči separačním a ultrafiltračním zařízením, jelikož oddělování slizových látek a sedimentů přítomných eventuálně ve výchozí moči probíhá robustními a obsluhu nevyžadujícími náplavovými nebo hloubkovými filtry (např. pískovými filtry, filtračními kartušemi, deskovými filtry, svíčkovými filtry, filtračními plachetkami nebo filtračními trubkami), které mohou být v případě potřeby snadno vyměněny.

Následující obrázky a příklady mají vysvětlit blíže daný vynález, aniž by však byl omezen jejich rozsah.

Obr. 1

Schématické výhodné zařízení ke stabilizaci a obohacování CE z PMU; prvky daného zařízení mají následující význam: 1 = přívod močové kapaliny ze zásobní nádrže; 2 = čerpadlo, např. hadicové čerpadlo; 3 = spojovací vedení; 4 = manometry; 5 = trojcestná dráha; 6 = rychlospojky; 7 = uzavírací ventily; 8 = filtry; 9 = měřič proudění s plovoucím tělískem (rotametrem); 10 = průtokoměr, např. vodoměr; 11 = kartuše; sloupec; 12 = adsorpční lože (lože adsorbéru); 13 = odtok.

Obr. 2

Schématické znázornění postupu způsobu filtrace surové moče, kdy se filtrační zařízení skládá z modulu předběžné filtrační jednotky zapojené do série (např. filtračního pytlíku) a jednoho

nebo dvou prohloubených filtrů a k nim nakonec dvěma paralelně zapojených absolutních filtrů (např. membránových filtrů).

Příklady provedení vynálezu

Příklad 1:

Obecný pracovní předpis k obohacování a stabilizaci konjugovaných (vázaných) estrogenů (CE) obsažených v moči březích klisen (PMU) přímo na shromaždišti (místě shromažďování) PMU adsorpcí na adsorpční činidlo obsažené v kartuši.

Shromážděný PMU se vždy plní do zásobní nádrže přes nálevku osazenou příslušným sítem. Síto má velkou velikost ok a slouží pouze k oddělování mechanických nečistot, jako slámy, sena atd.

Daný způsob se vysvětlí dále např. použitím adsorpčního sloupce (jako kartuše) se semipolární adsorpční pryskyřicí. Jsou-li použity Kartuše s jinými adsorpčními činidly, řídí se v daném případě manipulace, avšak zejména zpracovávání (úprava) naplněné Kartuše podle druhu příslušného adsorpčního činidla. Postup plnění a závěrečné promývání kartuší na shromaždišti moči se zachovává v podstatě tak, jak bylo popsáno pod A) nebo B) nebo se případně jen nepatrně přizpůsobí eventuálním zvláštním poměrům daného místa (vor Ort) nebo aktuálnímu adsorpčnímu činidlu.

A) Adsorpce obsahu estrogenů v PMU na příslušné adsorpční činidlo

Adsorpce obsahu CE PMU se provádí v adsorpčním zařízení, jak je např. načrtnuto na obr. 1. Celé množství PMU předem dané kapacitou kartuše nebo adsorpčních

sloupců se čerpá při okolní teplotě, případně po předchozím sítování a filtraci, najednou nebo po částech, předem danou průtokovou rychlostí pomocí sloupce nebo Kartuše naplněného příslušným adsorpčním činidlem. Jako adsorpční činidlo může být použita např. ve vodě nabobtnalá semipolární polyakrylesterová adsorpční pryskyřice (= Amberlite XAD-7 firmy Rohm und Haas, velikosti ok síta 0,3 až 1,2 mm, dipólmomentu 1,8 Debye, průměrného průměru pórů 80 Angströmů, specifického povrchu přibližně 450 m²/g sušiny) nebo jiné vhodné adsorbenty. Po dosažení předem daného maximálního plněného množství PMU se přívod PMU na daný sloupec nebo kartuši zastaví a v žádoucím případě se přečerpá z naplněného sloupce nebo Kartuše na paralelně zapojený volný sloupec nebo kartuši. Obsah estrogenů PMU je tak úplně adsorbován na takto naplněném adsorpčním sloupci.

B). Promývání naplněného adsorpčního sloupce

Naplněný adsorpční sloupec (sloupec s adsorpčním činidlem) nebo Kartuše se po skončení adsorpčního postupu fakultativně (nepovinně) promyje vodou nebo jiným vodným promývacím roztokem, např. bazickým promývacím roztokem, jako je zejména zředěný sodný louh (např. 0,5-2 A NaOH). Přitom se promývací voda nebo roztok čerpá daným sloupcem nebo kartuši při okolní teplotě předem danou průtokovou rychlostí např. 5,5 ložného objemu za hodinu. Odteklá promývací kapalina se vyřadí.

C) Skladování a přeprava

K přepravě nebo k meziskladování naplněného sloupce s adsorbérem nebo kartuše se sloupec či kartuše po ukončení adsorpčního postupu nebo po fakultativním promývání např. vodou (nebo jiným vodným, případně bazickým promývacím roztokem, jako je zejména zředěný roztok louhu sodného, např. 0,5-2 A NaOH) oboustranně uzavře, mechanicky odepne od plnicího zařízení a uloží na vhodném místě. Skladování (uložení) může probíhat při teplotě okolí, např. při 15 až 30 °C v normální skladovací hale nebo i v chladírně při teplotě snížené přibližně až na 4 °C. Je-li kapalina v adsorpčním sloupci chráněna proti zamrznutí, může být dokonce ochlazena i na nižší teploty, např. -20 °C. Naplněné sloupce nebo kartuše jsou v pravidelných intervalech od několika dní až do několika týdnů přepravovány z místa shromažďování nebo skladování na místo centrálního zpracovávání, kde jsou zaručeny chemická úprava a izolace konjugovaných estrogenů odborným způsobem.

D) Desorpce konjugovaných estrogenů z adsorpčního sloupce nebo Kartuše

Zpracovávání naplněných sloupců nebo kartuší probíhá způsobem obvyklým pro aktuální adsorpční činidlo k oddělení doprovodných látek a izolaci CE. Při použití semipolární adsorpční pryskyřice typu Amberlitu, např. XAD 7, může probíhat dané zpracovávání jako v mezinárodní patentové přihlášce WO 98/08526. Přitom se např. eluční tekutina vede vhodnou plynulou rychlostí daným sloupcem nebo kartuší předehřátou na 45 °C. Odteklý eluát se jímá v příslušných frakcích. První

frakce (= přibližně 1 ložný objem), zbývající frakce činí vždy přibližně 0,75 ložného objemu. Jednotlivé frakce jsou analyzovány pomocí HPLC ohledně jejich obsahu estronsulfátové soli, kresolů a HPMF. První frakce se shromažďuje, dokud je eluát bezbarvý až slaběžlutě zbarvený. Tato frakce obsahuje pravidelně jen stopy estrogensulfátové soli.

Po odtoku prvního ložného objemu eluátu dochází ke změně barvy eluátu na intenzivní tmavohnědou barvu. V následujících 2 až 4 frakcích je pak pravidelně obsaženo 80 až 98 % veškerého množství konjugovaných estrogenů adsorbovaných v daném sloupci. Zbývající frakce obsahují již jen malé množství estrogensulfátové soli. To je rovněž patrné na poklesu intenzity zbarvení. Eventuálně mohou být zbývající frakce rovněž ještě dále zpracovávány po oddestilování daného obsahu rozpouštědel a mohou být izolovány další CE.

Hlavní frakce obsahující konjugované estrogeny vykazují aktuálně vysoké obsahy sušiny (TS = sušina, určená HPLC) estronsulfátové soli a jsou zbaveny kresolů a HPMF tak dalece, že tyto frakce představují již vhodné extrakty pro další galenické zpracování.

E) Regenerace sloupců s adsorpční pryskyřicí

Regenerace naplněných sloupců nebo kartuší probíhá způsobem obvyklým pro příslušné adsorpční činidlo. Při použití semipolární adsorpční pryskyřice typu Amberlite, např. XAD 7, může regenerace probíhat jako v mezinárodní patentové přihlášce WO 98/08526. Při regeneraci se daný sloupec nebo kartuše nejprve promývá směsí ethanol/voda obsahující 50 % hmotn. ethanolu a

nastavené na pH 12, pak 10 %hmotn. vodným roztokem citranu sodného a znovu směsí ethanol/voda a nakonec destilovanou vodou. Celá regenerace probíhá provedenou adsorpční pryskyřicí při teplotě 45 °C, přičemž rovněž zde mohou být regenerační a promývací roztoky vedeny ze spodní nebo horní strany přes daný sloupec nebo kartuši. Sloupce, resp. Kartuše mohou být vícekrát, např. až 40krát, naplněny a zase regenerovány.

Příklad 2:

Testy stability naplněných adsorpčních sloupců k určení desorbovatelného obsahu GE

K průzkumu stability sloupců, tzn. stability adsorbovaných CE (conjugated estrogens) byly provedeny zkoušky stability adsorpčních sloupců naplněných výchozí močí. Obvykle byly za tím účelem naplněny adsorpční sloupce, pak byla adsorpční pryskyřice ze sloupců odebrána a skladována při dvou teplotách po různou dobu. Po uplynutí skladovací doby byl daný adsorbát eluován a analyzován na svůj obsah CE a doprovodných látek. Získaný výsledek byl srovnáván s výsledkem eluce kontrolních vzorků, tzn. vzorků bez příslušné doby skladování.

A) Provádění zkoušek

Adsorpce byla prováděna nyní známým způsobem ve 3 1-sloupci se semipolární adsorpční pryskyřicí typu XAD 7 (semipolární polyakrylesterovou pryskyřicí, tzn. Amberlitem XAD-7 firmy Rohm und Haas, o velikosti ok 0,3 až 1,2 mm, dipólmomentu 1,8 Debye, průměrném průměru pórů 80 Angströmů, specifickém povrchu 450 m²/g zasucha). Přitom na daný sloupec bylo dodáno množství 90 l (= 30 ložných

objemů) předem ultrafiltrované kobyli moči (původem z Polska) při teplotě místnosti průtokovou rychlostí 5 ložných objemů za hodinu. Obsah estrogenů PMU byl ve sloupci takto naplněném semipolární adsorpční pryskyřici úplně adsorbován. Po skončeném naplnění sloupce moči klisen byl tento dodatečně promyt 3 l vody a naplněná (vsazená) pryskyřice byla ze sloupce vyjmuta a rozdělena na 10 vzorků po 300 ml a tyto vzorky byly převedeny do menších sloupců. Příslušný vzorek byl vyřazen.

Pak se postupovalo, jak je uvedeno dále:

1. Okamžitá eluce kontrolního vzorku, tzn. bez uchovávání (skladování).
2. Skladování aktuálních zbývajících vzorků při 4 °C nebo při 25 °C.
3. Eluce vzorků 1 (4 °C) a 2 (25 °C) po jednotýdenním uchovávání (skladování).
4. Eluce vzorků 3 (4 °C) a 4 (25 °C) po dvoutýdenním skladování
5. Eluce vzorků 5 (4 °C) a 6 (25 °C) po pětitydenním skladování
6. Eluce vzorků 7 (4 °C) a 8 (25 °C) po osmitýdenním skladování

Eluce proběhla známým způsobem, přičemž naložená adsorpční pryskyřice byla nejprve promyta vodným roztokem hydroxidu sodného. Po každém promývacím kroku byla daná promývací kapalina analyzována na obsah estronu (jako sulfátové soli), equilinu, kresolů a HPMF.

Jako eluční kapalina byla použita přídavkem hydroxidu sodného alkalicky nastavená směs voda/ethanol (30

hmotn.%), hodnota pH 12) a eluce pryskyřice byla prováděna při eluční teplotě 45 °C. Eluát byl jímán do frakcí a jednotlivé frakce byly opět vyšetřovány pomocí HPLC na obsah estronu, kresolů a HPMF. První frakce byla jímána, dokud eluát vycházel bezbarvý až slab žlutě zbarvený. Tato frakce obsahuje jen stopy estronu (sulfátové soli estrogenu). Po odtečení prvního ložného objemu eluátu nastává změna barvy eluátu na intenzivní tmavohnědý barevný tón. V následujících 2 až 4 frakcích je pak obsaženo přibližně 80 až 98 % celkového množství konjugovaných estrogenů adsorbovaných na daném sloupci. Zbývající frakce pro regeneraci dané pryskyřice (vždy při 45 °C v uvedeném pořadí s 50 %hmotn. ethanolu při pH 12, 10 %hmotn. citranu amonného a vody) obsahují již jen malé množství sulfátové soli estrogenu. To je zřejmé rovněž na poklesu intenzity zbarvení.

B) Výsledky

Výsledky získané pro testy stability sloupců pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v tab. I.0 až I.9, resp. shrnuty v tab. I.10 a budou následně ještě dále vysvětleny.

Naplnění sloupce nebo kartuše močí, viz tab. I.0, stejně jako eluce kontrolního sloupce, tab. I.1, ukázaly normální průběh adsorpce a desorpce. Byly sice zjištěny zvýšené hodnoty krezolů a HPMF v eluátu, což však mohlo ukazovat na neúplné laminární proudění v daném sloupci nebo na velmi vysoké hodnoty kresolů (téměř 1000 mg/l) ve výchozí moči.

Tabulky I.2 až I.9 uvádějí výsledky pro eluci po jedno-, dvou-, pěti- nebo osmitýdenním skladování. V zásadě lze zjistit, že adsorbované hormony (CE) jsou zpravidla

kvantitativně desorbovány. Příležitostně, např. zejména jen po jednotýdenní skladovací době při 25 °C, se kvantitativní desorpce zjistí až při 50%-ní ethanolické regeneraci, přičemž se však zde jedná jen o desorpci zbývajících množství CE a největší část by mohla být izolována již předtím ve vlastní desorpci. Závislost desorpce na době skladování a teplotě se neprojevuje nebo je nanejvýš dána jen podmíněně, např. jestliže eventuálně neoptimální tokové poměry v malých sloupcích nemohou hrát žádnou větší roli. Eluát je ale ve všech případech dalekosáhle zbaven kresolů a HPMF. K docílení optimálních výsledků by se tak nezávisle na skladovací době mělo dbát (na) optimálního proudění sloupcem. Sloupce nebo kartuše by proto měly být neustále pod kapalinou, tzn. je nutno zamezit chodu nasucho.

Výsledky po pětítýdenním skladování, tabulky I.6 až I.7, ukazují pro teplotu 4 °C dobrý průběh eluce; při $T = 25\text{ °C}$ se ovšem v regenerátu vyskytují ještě hormonální podíly. Obsahy HPMF a krezolů v eluátu jsou v obou případech velmi malé.

Překvapivěji rovněž po velmi dlouhém skladování jsou docilovány velmi dobré výsledky, jak je to vidět po osmitýdenním skladování z výtečných výsledků v tab. I.8 až I.9. Eluční vrcholy pro estron a equilin jsou velmi strmé nebo ostré, tzn. objem CE-eluátu je malý. Hodnoty kresolů a HPMF se pohybují kolem nuly.

Tab. I.10 reprodukuje všechny zkoušky či pokusy v přehledné souvislosti. Souhrn např. obsahu estronu v eluátu a regenerátu činí ve všech případech přibližně 1055 mg $\pm$ 4 % a odpovídá tím očekávanému bilancování.

Souhrnně lze proto zjistit, že jedno- až osmi týdenní skladování naplněné pryskyřice XAD-7 při teplotách 4 °C a

25 °C vykazuje sice rozdíly v elučním chování, výšce a šířce hormonálních vrcholů, ne však v součtu celkově eluovaných hormonů, jež všechny s ohledem na obsah estronu leží v rozsahu $1055 \pm 4 \%$. Z toho lze vyvodit, že pozorované kvalitativní rozdíly existují jen v nehomogenních tokových poměrech a při použití praxi odpovídajících dimenzovaných sloupcích nebo kartuších jim lze snadno zabránit.

Tabulka I.0:

Zkouška sloupce ohledně stability sloupcového materiálu

Plnění sloupců přírodní ultrafiltrovanou močí z Polska

Adsorpční činidlo XAD 7, objem = 3 l

Po dodání se na sloupec vynese pryskyřice a sloupec se promyje 3 l vody. Pryskyřice se rozdělí na stejné díly po 300 ml a podrobí se zkoušce na stabilitu sloupce. Daný soubor pryskyřice se ihned eluuje, ostatní se uloží při teplotě místnosti a v chladničce.

a) Vzorky	Objem l	Estron mg/l	HPMF mg/l	Krezol mg/l	Equilin mg/l
Výchozí roztok (= po ultrafiltraci)					
Kontrolní roztok 1	30	85,4	67,2	908	50,1
Kontrolní roztok 2	30	117,7	96,9	990,4	70
Kontrolní roztok 3	30	137,6	105	997,5	80,2
	90	113,567	89,7	965,3	66,8
	=30 BV	= průměr			

b) Vzorky	Objem l	Čas h	Tok l/h	Tok BV/h	Estron mg/l	Equilin mg/l	HPMF mg/l	HPMF mg	Krezol mg/l	Krezol mg
Průběh 1	10	0,7	15	5	0	0	142,6	1426	2,7	27
Průběh 2	10	0,7	15	5	0	0	0	0	2,2	22
Průběh 3	10	0,7	15	5	0	0	0	0	0,8	8
Průběh 4	10	0,7	15	5	0	0	148,5	1485	1,4	14
Průběh 5	10	0,7	15	5	0	0	150,6	1506	5,2	52
Průběh 6	10	0,7	15	5	0	0	153,7	1537	27,3	273
Průběh 7	10	0,7	15	5	0	0	153,8	1538	81,9	819
Průběh 8	10	0,7	15	5	0	0	155,7	1557	322,4	3224
Průběh 9	10	0,7	15	5	0	0	154,2	1542	770,5	7705

Tabulka I.1:

Zkouška sloupce ohledně stability sloupcového materiálu

Eluce bez skladování (uchovávání)

Adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

Vzorky	Obj. n	Ča smi	Tok ml/ min	pH	TS %	Estron mg/l	Estron mg	HPMF mg/l	HPMF mg	Krezol mg/l	Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg
--------	--------	-----------	-------------------	----	---------	----------------	--------------	--------------	------------	----------------	--------------	-----------------	---------------

Výchozí roztok: 90 l naplňte na sloupec 3 l (tab. I.1, pryskyřice dělená na 10 dílů po 300 ml)

Výchozí obsah:	7700					113,6	874,7	89,7	690,7	965,3	7432,8	66,8	514,4
----------------	------	--	--	--	--	-------	-------	------	-------	-------	--------	------	-------

Promývání: vodou s NaOH (2%), pH 13

Praní 1	300	12	25	5,0	9,4	102,6	30,8	37,2	11,2	1423,1	426,9	53,6	16,1
Praní 2	300	12	25	5,0	13,1	29,5	8,9	216,0	64,8	5000	1500,0	48,8	14,6
Praní 3	300	12	25	5,0	13,1	12,8	3,8	110,8	33,2	5000	1500,0	30,5	9,2
Praní 4	300	12	25	5,0	13,2	9,8	2,9	45,7	13,7	2000	600,0	9,8	2,9
Praní 5	300	12	25	5,0	13,2	8,4	2,5	54,1	16,2	1023,3	307,0	5,0	1,5

Eluce: ethanol 30 %, 45 °C, pH 12

Eluát 1	300	12	25	5,0	13,1	3,6	109,2	32,8	585,1	175,5	565,8	169,7	56,3	16,9
Eluát 2	300	12	25	5,0	13,0	1,9	2099,2	629,8	0,0	0,0	394,8	118,4	1209,8	362,9
Eluát 3	300	12	25	5,0	12,7	0,6	815,6	244,7	1,0	0,3	119,9	36,0	466,9	140,1
Eluát 4	300	12	25	5,0	12,5	0,2	268,8	80,6	0,0	0,0	50,8	15,2	150,2	45,1
Eluát 5	300	12	25	5,0	12,3	0,1	87,2	26,2	0,0	0,0	21,6	6,5	44,8	13,4

Regenerace: 50 %, 45 °C, pH 12

Regenerát 1	600	24	25	5,0	12,2		39,1	23,5	0,0	0,0	12	7,2	18,8	11,3
-------------	-----	----	----	-----	------	--	------	------	-----	-----	----	-----	------	------

Regenerace: 10 % citran sodný / voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	600	24	25		11,7		2,9		0,0		5,9		1,1	
Regenerát 3	600	24	25		11,3		1,4		0,0		3,8		0,0	

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

[illegible]

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

	600	24	25	12,3	19,0	11,4	0,0	7,9	4,7	10,0	6,0
Regenerát 2											
Regenerát 3	600	24	25	11,3	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Tabulka I.4:

Test sloupce ohledně stability sloupcového materiálu

Eluce po 14 dnech skladování (uchovávání), 4 °C

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

Vzorky	Obj. sm. ml	Ča n	Tok ml/h	BV h/h	pH	TS %	Estron mg/l	HPMF mg/l	HPMF mg	Krezol mg/l	Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg
Výchozí obsah:	7700						113,6	874,7	89,7	690,7	965,3	7432,8	66,8

Výchozí roztok: 90 l naplněte na saloupec 3 L (tabulka I.1, pryskyňce rozdělena na 10 dílů po 300 ml)

Promývání: vodou s NaOH (2 %), pH 13

Praní 1	300	12	25	5,0	9,3		77,3	23,2	42,6	12,8	1255,9	376,8	55,9
Praní 2	300	12	25	5,0	13,1		28,0	8,4	454,6	136,4	6000,0	1800,0	139,3
Praní 3	300	12	25	5,0	13,1		8,8	2,6	30,2	9,1	494,3	148,3	9,4
Praní 4	300	12	25	5,0	13,1		8,2	2,5	0,0	0,0	44,3	13,3	5,3
Praní 5	300	12	25	5,0	13,2		8,0	2,4	0,0	0,0	14,5	4,4	4,7

Eluce: ethanol 30 %, 45 °C, pH 12

Eluát 1	300	12	25	5,0	13,1	3,5	79,8	23,9	5,0	1,5	34,2	10,3	45,6
Eluát 2	300	12	25	5,0	12,8	1,8	2528,0	758,4	0,0	0,0	0,0	1625,8	487,7
Eluát 3	300	12	25	5,0	12,6	0,4	577,8	173,3	0,0	0,0	56,8	17,0	335,6
Eluát 4	300	12	25	5,0	12,6	0,1	131,0	39,3	0,0	0,0	20,9	6,3	81,5
Eluát 5	300	12	25	5,0	12,6	0,1	38,5	11,6	0,0	0,0	8,8	2,6	23,6

Regenerace: 50 % ethanol, 45 °C, pH 12

Regenerát 1	600	24	25	5,0	12,6		21,2	12,7	0,0	0,0	9,6	5,8	12,1
-------------	-----	----	----	-----	------	--	------	------	-----	-----	-----	-----	------

Regenerace: 10 % citran sodný / voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	600	24	25		12,4		4,0	2,4	0,0	0,0	2,4	1,4	2,3
Regenerát 3	600	24	25		11,4		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

[illegible]

20.05.00

Tabulka I.6:

Zkouška sloupce ohledně stability sloupcového materiálu

Eluce po 35 dnech skladování (uchovávání), 4 °C,

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

Vzorky	Obj. ml	Čas ml/min	Tok min/BV/h	pH	TS %	Estron mg/l	F mg/l	HPMF mg	Krezol mg/l	Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg
Výchozí roztok: 90 l naplňte na saloupec 3 L (tabulka I.1, pryskyřice rozdělena na 10 dílů po 300 ml)												
Výchozí obsah:	7700					113,6	874,7	89,7	690,7	965,3	7432,8	66,8 514,4

Promývání: vodou s NaOH (2 %), pH 13

Praní 1	300	12	25	5,0	9,2	89,6	26,9	76,4	22,9	1687,2	506,2	64,0 19,2
Praní 2	300	12	25	5,0	13,0	48,9	14,7	16,9	5,1	6157,1	1847,1	176,2 52,9
Praní 3	300	12	25	5,0	13,1	9,2	2,8	40,5	12,2	899,7	269,9	13,5 4,1
Praní 4	300	12	25	5,0	13,1	8,9	2,7	3,0	0,9	96,8	29,0	6,9 2,1
Praní 5	300	12	25	5,0	13,0	7,6	2,3	0,0	0,0	42,0	12,6	4,3 1,3

Eluce: ethanol 30 %, 45 °C, pH 12

Eluát 1	300	12	25	5,0	13,0	3,6	73,3	22,0	5,4	1,6	62,1	18,6 38,9 11,7
Eluát 2	300	12	25	5,0	12,7	2,0	2437,2	731,2	0,0	0,0	147,1	44,1 1386,8 416,0
Eluát 3	300	12	25	5,0	12,3	0,5	769,5	230,9	0,0	0,0	69,0	20,7 438,8 131,6
Eluát 4	300	12	25	5,0	12,6	0,3	223,5	67,1	1,3	0,4	52,6	15,8 126,6 38,0
Eluát 5	300	12	25	5,0	12,5	0,1	66,7	20,0	0,0	0,0	20,6	6,2 39,8 11,9

Regenerace: 50 % ethanol, 45 °C, pH 12

Regenerát 1	600	24	25	5,0	12,4	15,5	9,3	0,0	0,0	14,3	8,6	15,3 9,2
-------------	-----	----	----	-----	------	------	-----	-----	-----	------	-----	----------

Regenerace: 10 % citran sodný / voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	600	24	25		12,0		1,4	0,8	0,0	0,0	7,5	4,5 1,1 0,7
Regenerát 3	600	24	25		10,9		0,0	0,0	0,0	0,0	0,8	0,5 0,0 0,0

Tabulka I.7:

Test sloupce ohledně stability sloupcového materiálu

Eluce po 35 dnech skladování (uchovávání), 25 °C,

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

Vzorky	Obj. ml	Čas/ml min.	Tok min. BV/h	pH	TS %	HPMF				Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg
						Estron mg	F mg/l	HPMF mg	Krezol mg/l			
Výchozí roztok: 90 l naplňte na saloupec 3 L (tabulka I.1, pryskyřce rozdělena na 10 dílů po 300 ml)												
Výchozí obsah:	7700					113,6	874,7	89,7	690,7	965,3	7432,8	66,8 514,4

Promývání: vodou s NaOH (2 %), pH 13

Praní 1	300	12	25	5,0	9,2	68,8	20,6	91,6	27,5	1595,4	478,6	34,5 10,4
Praní 2	300	12	25	5,0	13,0	46,6	14,0	17,0	5,1	6050,3	1815,1	151,6 45,5
Praní 3	300	12	25	5,0	13,1	8,8	2,6	3,6	1,1	1168,2	350,5	14,2 4,3
Praní 4	300	12	25	5,0	13,1	7,9	2,4	11,7	3,5	351,1	105,3	5,4 1,6
Praní 5	300	12	25	5,0	13,1	8,0	2,4	0,0	0,0	134,4	40,3	4,7 1,4

Eluce: ethanol 30 %, 45 °C, pH 12

Eluát 1	300	12	25	5,0	13,0	3,5	118,4	35,5	7,5	2,3	101,2	30,4 64,8 19,4
Eluát 2	300	12	25	5,0	12,9	1,6	1525,9	457,8	0,0	0,0	199,2	59,8 811,4 243,4
Eluát 3	300	12	25	5,0	12,6	0,7	987,7	296,3	0,0	0,0	139,1	41,7 512,4 153,7
Eluát 4	300	12	25	5,0	12,4	0,3	479,4	143,8	2,2	0,7	71,1	21,3 251,5 75,5
Eluát 5	300	12	25	5,0	12,3	0,3	241,0	72,3	0,0	0,0	22,5	6,8 125,7 37,7

Regenerace: 50 % ethanol, 45 °C, pH 12

Regenerát 1	600	24	25	5,0	12,3		110,9	66,5	1,5	0,9	15,9	9,5 58,3 35,0
-------------	-----	----	----	-----	------	--	-------	------	-----	-----	------	---------------

Regenerace: 10 % citran sodný / voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	600	24	25		11,9		9,6	5,8	0,0	0,0	6,7	4,0 5,6 3,4
Regenerát 3	600	24	25		10,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0 0,0 0,0

Tabulka I.8:

Zkouška sloupce ohledně stability sloupcového materiálu,

eluce po 56 dnech skladování (uchovávání) 4 °C,

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

Vzorky	Obj. ml	Čas min.	Tok ml/min	Tok BVH /h	pH	TS %	Estron mg/l	HPMF mg	HPMF mg/l	Krezol mg	Krezol mg/l	Equilin mg/l	Equilin mg
Výchozí obsah	7700						113,6	874,7	89,7	690,7	965,3	7432,8	66,8 514,4

Výchozí roztok: 90 l naplňte na saloupec 3 L (tabulka I.1, pryskyřice rozdělena na 10 dílů po 300 ml)

Promývání: voda s NaOH (2 %), pH 13

Praní 1	300	12	25	5,0	9,2		85,8	25,7	44,5	13,4	1171,3	351,4	44,6	13,4
Praní 2	300	12	25	5,0	13,0		74,8	22,4	457,2	137,2	5000,0	1500,0	113,5	34,1
Praní 3	300	12	25	5,0	13,1		9,6	2,9	34,1	10,2	702,2	210,7	7,5	2,3
Praní 4	300	12	25	5,0	13,2		8,9	2,7	4,3	1,3	63,5	19,1	4,0	1,2
Praní 4	300	12	25	5,0	13,1		8,9	2,7	0,0	0,0	23,9	7,2	3,7	1,1

Eluce: Ethanol 30 %, 45 °C, pH 12

Eluát 1	300	12	25	5,0	13,1	3,8	53,1	15,9	3,3	1,0	41,7	12,5	27,6	8,3
Eluát 2	300	12	25	5,0	12,8	2,0	2289,1	686,7	5,8	1,7	0,0	0,0	1288,2	386,5
Eluát 3	300	12	25	5,0	12,4	0,5	869,4	260,8	0,0	0,0	0,0	0,0	475,9	142,8
Eluát 4	300	12	25	5,0	12,3	0,2	228,2	68,5	2,4	0,7	0,0	0,0	122,0	36,6
Eluát 5	300	12	25	5,0	12,3	0,1	83,4	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	45,2	13,6

Regenerace: 50 % ethanolu, 45°C, pH 12

Regenerát 1	600	24	25	5,0	12,2		42,4	25,4	3,0	1,8	0,0	0,0	22,9	13,7
-------------	-----	----	----	-----	------	--	------	------	-----	-----	-----	-----	------	------

Regenerace: 10 % citran sodný/ voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	600	24	25		11,8		3,1	1,9	0,0	0,0	2,2	1,3	1,5	0,9
Regenerát 3	600	24	25		10,8		1,1	0,7	0,9	0,5	0,2	0,1	0,7	0,4

Tabulka I.9:

Zkouška sloupce ohledně stability sloupcového materiálu,
eluze po 56 dnech skladování (uchovávání), 4 °C,

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 300 ml

Výchozí roztok: přírodní moč z Polska, ultrafiltrovaná

Vzorky	Obj. ml	Čas min.	Tok ml/min	Tok BV/h	pH	TS %	Estron mg/l	Estron HPMF mg/l	HPMF mg	Krezol mg/l	Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg
--------	------------	-------------	---------------	-------------	----	---------	----------------	------------------------	------------	----------------	--------------	-----------------	---------------

Výchozí roztok: 90 l na plíthe na sloupec 3L (tab. I.1, pryskyřce rozdělená na 10 dílů po 300 ml)

Výchozí obsah	7700						113,6	874,7	89,7	690,7	965,3	7432,8	66,8	514,4
---------------	------	--	--	--	--	--	-------	-------	------	-------	-------	--------	------	-------

Promývání: Voda s NaOH (2 %), pH 13

Praní 1	300	12	25	5,0	9,2		85,8	25,7	44,5	13,4	1171,3	351,4	44,6	13,4
Praní 2	300	12	25	5,0	13,0		74,8	22,4	457,2	137,2	5000,0	1500,0	113,5	34,1
Praní 3	300	12	25	5,0	13,1		9,6	2,9	34,1	10,2	702,2	210,7	7,5	2,3
Praní 4	300	12	25	5,0	13,2		8,9	2,7	4,3	1,3	63,5	19,1	4,0	1,2
Praní 5	300	12	25	5,0	13,1		8,9	2,7	0,0	0,0	23,9	7,2	3,7	1,1

Eluce: Ethanol 30 %, 45 °C

Eluát 1	300	12	25	5,0	13,1	3,8	53,1	15,9	3,3	1,0	41,7	12,5	27,6	8,3
Eluát 2	300	12	25	5,0	12,8	2,0	2289,1	686,7	5,8	1,7	0,0	0,0	1288,2	386,5
Eluát 3	300	12	25	5,0	12,4	0,5	869,4	260,8	0,0	0,0	0,0	0,0	475,9	142,8
Eluát 4	300	12	25	5,0	12,3	0,2	228,2	68,5	2,4	0,7	0,0	0,0	122,0	36,6
Eluát 5	300	12	25	5,0	12,3	0,1	83,4	25,0	0,0	0,0	0,0	0,0	45,2	13,6

Regenerace: 50% ethanol, 45 °C, pH 12

Regenerát 1	600	24	25	5,0	12,2		42,4	25,4	3,0	1,8	0,0	0,0	22,9	13,7
-------------	-----	----	----	-----	------	--	------	------	-----	-----	-----	-----	------	------

Regenerace: 10% citran sodný / voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	600	24	25		11,8		3,1	1,9	0,0	0,0	2,2	1,3	1,5	0,9
Regenerát 3	600	24	25		10,8		1,1	0,7	0,9	0,5	0,2	0,1	0,7	0,4

Tabulka I.10:

Souhrn výsledků zkoušek sloupové stability

	Naplnění	Kartuše	Vzorek 1	Vzorek 2	Vzorek 3	Vzorek 4	Vzorek 5	Vzorek 6	Vzorek 7	Vzorek 8
	10221	874,7	874,7	874,7	874,7	874,7	874,7	874,7	874,7	874,7
	6009	514,4	514,4	514,4	514,4	514,4	514,4	514,4	514,4	514,4
Usazeniny ve vrstvách										
Teplota	---	RT	25	4	25	4	25	4	25	4
Doba trvání (den)	---	---	7	7	14	14	35	35	56	56
Promývání										
Estron (mg)	---	48,9	44,9	45,2	34,6	39,1	42	49,4	49,9	56,4
Equilin (mg)	---	44,3	39,5	34,4	60,4	64,4	63,2	79,6	44,5	52,1
Eluce										
Estron (mg)	Přyskyřice nanášena, rozdělena na 10 částí		1014,1	897,1	926,8	919,6	1006,5	1005,7	1071,2	1087,0
Equilin (mg)			578,4	512,7	536,7	553,3	633,7	529,7	609,2	536,8
Regenerace										
Estron (mg)			26,0	126,5	114,3	112,9	15,1	72,3	10,1	10,2
Equilin (mg)			13,8	67,6	57,7	68,3	8,7	38,4	9,9	6,0
Součet eluce + regenerace										
Estron			1040,1	1023,6	1041,1	1032,5	1021,6	1078,0	1081,3	1097,2
Equilin			592,2	580,3	594,4	5601,3	642,4	568,1	619,1	542,8

Příklad 3

Zkoušky stability s naplněnými adsorpčními sloupci k určení počtu zárodků

Mikrobiologická kvalita a nezávadnost přírodních výchozích materiálů k výrobě farmaceutických přípravků získává v novější době rostoucí měrou na významu. Proto byly prováděny analýzy za účelem určení počtu zárodků ve vzorcích po pěti-, resp. osmitýdenním skladování či uchovávání sloupců podle obvyklé metodiky (pharmacoepia ...).

Výsledky stanovování počtu zárodků jsou reprodukovány v tab. II. Celkové počty zárodků pro skladovací teplotu 4 °C lze označit za malé. Pro skladovací teplotu 25 °C vykazuje voda k promývání sloupců 1,2 až 4,6 · 10⁶ zárodků, v eluátu bylo nalezeno 80 až 170 zárodků. Je třeba ovšem poukázat na to, že skladovaná sloupcová adsorpční činidla nebyla předem ani promývána ani konzervována, byla zde tedy od začátku vystavena zvýšenému nebezpečí tvorby zárodků. Při skladování bez chlazení se proto doporučuje důkladné promývání naplněných sloupců přinejmenším vodou, vhodněji ale navíc s dodatečně stabilizovanými nebo konzervovanými promývacími roztoky, např. roztoky kuchyňské soli.

Tab. II:

Zkoušky stability k určení počtu zárodků

Doba skladování při °C	Skladovací doba 5 týdnů		Skladovací doba 8 týdnů	
	4 °C	25 °C	4 °C	25 °C
Voda k promývání sloupců	200	4,6* 10 ⁶	150	4,6* 10 ⁶
Bazická prací voda	< 1	18	3	14
Ethanolický eluát	20	80	3,5	170

*Údaje v KBE/ml (kolonie tvořící jednotky)

Příklad 4:

Zkoušky stability s hluboce chlazenými sloupci
naplněnými adsorpčním činidlem

V závislosti na ročním období a/nebo regionálně podmíněně se mohou při skladování nebo při přepravě naložených či naplněných sloupců nebo kartuší vyskytovat teploty pod bodem mrazu s nežádoucím důsledkem, že vodný obsah sloupců nebo kartuší ztuhne. Z odpovídajících zkoušek se dá potom vydedukovat, že se ukazuje, že mrznoucí proces působí negativně na eluci znovurozmrazeného sloupce nebo Kartuše. Pokud temperování sloupce nemůže být provedeno, nebo pokud skladování probíhá při hlubokých teplotách, doporučuje se k zabránění mrznutí, aby se poslední promývání provedlo místo s vodou vhodnými chladicími směsmi.

A) Provádění pokusů (zkoušek)

Z velkého počtu možných chladicích směsí, z nichž je pro vysvětlení několik takových směsí např. uvedeno v tab. III.1, byl pro další pokusy vybrán jako příklad jeden roztok kuchyňské soli. Při přidání 23 g NaCl na 100 g vody leží bod mrazu při teplotě -21°C .

Plnění či nakládání sloupce proběhlo obvyklým způsobem. Po ukončení plnění močí bylo provedeno příslušné proplachování 3 ložnými objemy vody a potom s 2 ložnými objemy 33 %hmotn. roztokem NaCl. Nakonec byl daný sloupec skladován při teplotě -19°C v hluboko mrazicím pultu.

Tab. III.1:

Dosažitelná teplota ve °C	Látka A	[g A/100 g chladiva]	Látka B
-3,4	NH ₄ Cl	23	Voda
-5,3	NaNO ₃	43	Voda
-7,8	BaCl ₂	22	Led
-10	NaCl	26	Voda
-12	CaCl ₂ · 6 H ₂ O	71	Voda
-16	NH ₄ SCN	57	Voda
-19	(NH ₄) ₂ SO ₄	38	Led
-21	NaCl	23	Led
-22	CaCl ₂ · 6 H ₂ O	45	Led
-28	NaBr	39	Led
-33	MgCl ₂	22	Led
-37	66,1% H ₂ SO ₄	48	Sníh
-40	CaCl ₂ · 6 H ₂ O	55	Led
-55	CaCl ₂ · 6 H ₂ O	59	Led

B) Výsledky

I po 9 dnech skladování při -19 °C zůstal obsah sloupce kapalný, a sice bez příznaků eventuálního částečného ztuhnutí. Zpracování, resp. úprava sloupce, tzn. bazické promývání, eluce a regenerace proběhly normálně. Celkový obsah hormonů na TS činil přibližně 22 %hmotn. Výsledky jsou zobrazeny v tab. III.2.

Negativní účinky vysokého obsahu NaCl na obsah CE a oddělování krezolů a HPMF nebyly identifikovány.

Souhrnně lze proto konstatovat, že stabilizace močí naplněných sloupců nebo kartuší se projevuje výhodně účinkem chladicí směsi, např. vodným roztokem kuchyňské soli, a skladování či uchovávání za chlazení, např. až do $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, po časová období 1,5 až 2 týdnů. Obsah sloupců nebo kartuší zůstane kapalný, zpracování sloupců či kartuší za účelem izolace CE promýváním, elucí a regenerací probíhá normálně. Negativní nálezy nebyly zjištěny ani při vysokých obsazích NaCl.

Tab. III.2:

Zkouška sloupců ohledně stability sloupcového materiálu

Eluce po 9 dnech skladování, -19,1 °C,

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 200 ml

Vzorky	Obj. l	Čas min.	Tok ml/min	Tok BV/h	pH	TS %	Krezol mg/l	Equilin mg/l	Equil n mg	Estro mg/ml	HPMF mg	Estro TS %
--------	--------	----------	------------	----------	----	------	-------------	--------------	------------	-------------	---------	------------

Výchozí roztok: 7 l naplňte na sloupec 3 L = 35 ložných objemů

Průběh 1	1	62	16,1	4,8			61	61	0	0	0	0
Průběh 2	1	61	16,4	4,9			96	96	0	0	0	0
Průběh 3	1	62	16,1	4,8			111	111	0	0	0	0
Průběh 4	1	61	16,4	4,9			111	111	0	0	0	6
Průběh 5	1	61	16,4	4,9			275	275	0	0	0	28
Průběh 6	1	61	16,4	4,9			267	267	0	0	0	27
Průběh 7	1	61	16,4	4,9			392	392	0	0	0	32

Proplachování: Voda a 33% roztok NaCl, k uložení (uskladnění) při -19,1 °C

vodou	0,6	36	16,7	5,0			646	388	0	0	0	88
solným roztokem	0,4	25	16	4,8			465	186	0	0	0	5

Promývání: vodou s NaOH (2%), pH 13

Praní 1	0,2	12	16,7	5,0			70	14	0	0	0	0
Praní 2	0,2	11	18,2	5,5			20038	4008	0	70	14	348 1898
Praní 3	0,2	11	18,2	5,5			4009	802	32	15	3	114 622
Praní 4	0,2	11	18,2	5,5			287	57	10	2	0	0 31
Praní 5	0,2	11	18,2	5,5			89	18	9	2	0	0 11

Eluce: Ethanol 30 %, 45 °C, pH 12

Eluát 1	0,2	12	16,7	5,0	12,1	4,1	81	16	13	3	8	2	5	25	0,02
Eluát 2	0,2	12	16,7	5,0	13,3	2,5	266	53	1135	227	2036	407	0	0	8,14
Eluát 3	0,2	11	18,2	5,5	12,6	0,5	114	23	493	99	854	171	0	0	17,08
Eluát 4	0,2	11	18,2	5,5	12,4	0,1	62	12	32	6	85	17	4	22	8,50
Eluát 5	0,2	12	16,7	5,0	12,4	0,1	24	5	8	2	17	3	2	10	1,70

Regenerace: 50% ethanol, 45°C, pH 12

Regenerát 1	0,4	24	16,7	5,0			14,0		n.b.		n.b.		n.b.		
-------------	-----	----	------	-----	--	--	------	--	------	--	------	--	------	--	--

Regenerace: 10% citran sodný / voda, obojí 45 °C

Regenerát 2	0,4	24	16,7	5,0			13,0		n.b.		n.b.		n.b.		
Regenerát 3	0,4	24	16,7	5,0					n.b.		n.b.		n.b.		

Příklad 5:

Obohacování a stabilizace moči v praktické zkoušce

A) Obecná část

V praktické zkoušce (testu z praxe) by se mělo ukázat, že při dostatečném obsahu hormonů v moči lze dosáhnout dobré výsledky nejen v laboratoři, nýbrž také za výrobních podmínek. Byl proveden pokus, jak může tato zkouška probíhat ve shromažďovacích kampaních (jímáních) na libovolných místech.

B) Provedení zkoušky (pokusu)

Čerstvá moč dostatečné kvality byla shromažďována (jímána) v příslušném hřebčinci. Při počtu tří koní a 15 až 20 l moči/den se po 10 dnech shromáždilo zhruba 150 až 200 l moči. K adsorpci byl proto zvolen adsorpční sloupec o velikosti (kapacitě, objemu) 5 l. Denní plnění moči bylo kromě víkendu prováděno při příslušné zkoušce (pokusu, testu) podle následujícího plánu:

Počátek jímání moči při víkendu

Pondělí : podávání moči ze soboty,
neděle a pondělí

Úterý až pátek : podávání moči vždy
z daného dne

Pondělí : podávání moči ze soboty,
neděle a pondělí

Úterý : eluce

Podávání či plnění moči při rychlosti plnění cca 4,5 ložných objemů/h proběhlo přímo na daný sloupec, pouze bavlněná svíčka s dělicí hranicí 20 μm sloužila jako předběžný filtr. Mezi jednotlivými podáními či plněními nebylo ke ztížení daných podmínek provedeno žádné proplachování vodou. V předběžných zkouškách či pokusech mohlo být přes bavlněnou svíčku dáno až 450 l moči bez ztráty tlaku. V tomto praktickém testu se ovšem filtrace ukázala na základě nečekaně vysokého obsahu sedimentu uhličitanu vápenatého a/nebo mucinů jako obtížná.

Vždy po 40 až 50 l došlo k zablokování s příslušným vzrůstem tlaku až na 4 bary, které učinily nutnou příslušnou výměnu filtru. Podle obsahu uhličitanu vápenatého a/nebo mucinů se proto eventuálně doporučuje přidavek filtračních pomocných prostředků.

Ačkoliv svíčka nechala projít podíly sedimentů $> 20 \mu\text{m}$, nedošlo k přidání do adsorpčního sloupce.

C) Výsledky

Obsahy hormonů

Výsledky těchto praktických zkoušek jsou uvedeny (reprodukovány) v tab. IV.

Obsahy estronu a equilinu v surové moči byly se 123 mg/l nebo 74 mg/l potěšitelně vysoké a odpovídají

moči střední až dobré kvality. Nečekaně velké však byly hodnoty krezolů s 531 mg/l v čerstvé moči, jež dosud nebyly pozorovány. Zde hraje roli otázka daného krmiva a je třeba k tomu přihlédnout. Ačkoliv se v zásadě zvládnou např. vyšší obsahy krezolů, mohou tyto obsahy přece jen v jednotlivém případě způsobit potíže. Může být proto nutné při zpracování prodloužit alkalický promývací postup, aby se krezolové hodnoty v ethanolickém eluátu minimalizovaly. Jinak adsorpce a desorpce proběhly jako obvykle. V eluátu docházelo k dobře vyjádřenému průběhu pro estron a equilin. V eluátech 2 a 3 se opět nacházelo více než 95 % estronu/equilinu. Vztaženo na obsah TS činí celkový obsah hormonů cca 30 %hmotn. Tím bylo očekávání vložené do daného pokusu(zkoušky) splněno a za obtížných zkušebních podmínek bylo dosaženo vynikajícího obohacení na obsah hormonů/TS > %hmotn.

20.05.00

Tab. IV.1:

Praktická zkouška (Zkušební test) ke stabilizaci a obohacení CE

Dny zkoušek (Trvání zkoušek): 1-10 dní, plnění sloupců (7 pracovních dní)

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 5 l

Sloupec se vyjíždí zezdola nahoru.

Vzorky	Obj. l	Čas min.	Tok ml/min.	Tok BV/h	pH	TS %	Estron mg/l	Estron mg	Krezol mg/l	Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg	HPMF mg/l	Estron/TS %
hhghghg														
Výchozí obsah	140				9,0	6	112,5		531,1		37,4		42,5	
Průběh 1	10	26	384,6	4,6			0		0,0	0	0		0	
Průběh 2	10	27	370,4	4,4			0		249	2490	0		0	
Průběh 3	10	27	370,4	4,4			0		245	2450	0		0	
Průběh 4	10	28	357,1	4,3			0		408	4080	0		0	
Průběh 5	10	27	370,4	4,4			0		358	3580	0		0	
Průběh 6	10	23	434,8	5,2			0		537	5370	0		0	
Průběh 7	10	29	344,8	4,1			0		901	9010	0		0	
Průběh 8	10	29	344,8	4,1	8,7		0		836	8360	0		0	
Průběh 9	10	29	344,8	4,1			0		581	5810	0		0	
Průběh 10	10	24	416,7	5,0			0		605	6050	0		0	
Průběh 11	10	25	400,0	4,8			0		621	6210	0		0	
Průběh 12	10	27	370,4	4,4			0		509	5090	0		0	
Průběh 13	10	27	370,4	4,4			0		668	6680	0		0	
Průběh 14	10	24	416,7	5,0			0		655	6550	0		0	

Tab. IV.1:

Praktická zkouška (Zkušební test) ke stabilizaci a obohacení CE

Dny zkoušek (Trvání zkoušek): 1-10 dní, plnění sloupců (7 pracovních dní)

adsorpční činidlo: XAD 7, objem = 5 l

Sloupec se vyjíždí zezdola nahoru.

Vzorky	Obj. l	Čas min.	Tok ml/min.	Tok BV/h	pH	TS %	Estron mg/l	Estron mg	Krezol mg/l	Krezol mg	Equilin mg/l	Equilin mg	HPMF mg/l	Estron/TS %
Výchozí obsah	140				9,0	6	112,5		531,1		37,4		42,5	
Průběh 1	10	26	384,6	4,6			0		0,0	0	0		0	
Průběh 2	10	27	370,4	4,4			0		249	2490	0		0	
Průběh 3	10	27	370,4	4,4			0		245	2450	0		0	
Průběh 4	10	28	357,1	4,3			0		408	4080	0		0	
Průběh 5	10	27	370,4	4,4			0		358	3580	0		0	
Průběh 6	10	23	434,8	5,2			0		537	5370	0		0	
Průběh 7	10	29	344,8	4,1			0		901	9010	0		0	
Průběh 8	10	29	344,8	4,1	8,7		0		836	8360	0		0	
Průběh 9	10	29	344,8	4,1			0		581	5810	0		0	
Průběh 10	10	24	416,7	5,0			0		605	6050	0		0	
Průběh 11	10	25	400,0	4,8			0		621	6210	0		0	
Průběh 12	10	27	370,4	4,4			0		509	5090	0		0	
Průběh 13	10	27	370,4	4,4			0		668	6680	0		0	
Průběh 14	10	24	416,7	5,0			0		655	6550	0		0	

Počty zárodků

Kromě adsorpce moče byl vyšetřován eventuální bakteriální vzrůst zárodků daného sloupce. Při existujících podmínkách:

1. podávání (plnění) kontaminované surové moče (filtrací pomocí bavlněných svíček nejsou odděleny žádné zárodky)
2. žádného proplachování po denním podávání (plnění)
3. provádění pokusu či zkoušky při teplotě místnosti
4. době trvání pokusu (zkoušky) 10 dní

nebylo možno osídlení sloupce zárodky a k tomu připojený vzrůst zárodků vyloučit. Určení celkového počtu zárodků při různých adsorpčních krocích dalo následující výsledek:

Vzorek	Celkový počet zárodků / ml
Surová moč	$1,1 \times 10_8$
Prací voda sloupců po 10 dnech	$1,1 \times 10_8$
Zásaditá prací voda	< 1
Hlavní eluát	1,5

D) Souhrn výsledků

Po dobu zkoušky 10 dní byla čerstvá moč dávána denně na sloupec adsorpčního činidla (adsorpční sloupec) o objemu 5 l. Celkový objem moči činil 140 l s průměrným obsahem estronu nebo equilinu 123 mg/l nebo 74 mg/l.

Proplachování sloupce vodou po denní adsorpci moči bylo vědomě opomíjeno. V obou velmi výrazně se vyskytujících hlavních eluátech se nacházelo cca 93 % estronu nebo equilinu.

Celkový obsah hormonů daného eluátu vztažený na TS činil přibližně 30 %hmotn. Další překvapující výsledek se vztahuje k eventuálnímu (představitelnému) zaklíčkování nebo početí zárodků ve sloupcích. Zde nebyl přes podávání vysoce zaklíčkované (zazárodkované) surové moče zaznamenán ani po 10 dnech nárůst daného sloupce. Příslušný eluát byl při 1,5 zárodcích/ml prakticky bez zárodků. Za obtížných podmínek se tím ve větším měřítku prokázalo, že při dostatečném obsahu hormonů v surové moči mohou být stabilizace a obohacení splněny na obsah hormonů/TS o více než 15 % s adsorpčním sloupcem v dobré kvalitě.

Příklad 6:

Filtrační zkoušky s filtračními svíčkami

V dalším praktickém testu byly provedeny filtrační zkoušky s filtračními svíčkami, jejichž výsledky mohou být shrnuty následovně:

Použitý materiál: čerstvá moč (původ z německého hřebčince)

Zčásti namíchaná, v sudech shromážděná či do sudů jímaná moč březích klisen byla ze sudů přečerpávána pomocí hadicového čerpadla přes předfiltr (váček či pytlík 5 μ) do příslušné nádrže či kontejneru. V kontejneru zůstal sediment o 0,5 %hmotn.

Schématické znázornění daného postupu filtrace surové moči je reprodukováno (uvedeno) na obr. 2.

1. zkouška:

Pytlík (sáček)	5 μ
Filtrační svíčky	5 μ , 3 μ , 1 μ zapojeny do série (řady)
Absolutní svíčky	2 x 1, 2 μ paralelně zapojeny
Naplnění sloupců	95 l filtrátu
Sediment ve filtrátu	0,000 %

2. zkouška:

Pytlík (sáček)	5 μ
Filtrační svíčky	5 μ , 3 μ , 1 μ zapojeny do série (řady)
Absolutní svíčky	2 x 3 μ paralelně zapojeny
Naplnění sloupců	142 l filtrátu
Sediment ve filtrátu	0,001 %

3. zkouška:

Pytlík (sáček)	5 μ
Filtrační svíčky	3 μ , 1 μ zapojeny do série (řady)
Absolutní svíčky	2 x 1 μ paralelně pojeny
Naplnění sloupců	160 l filtrátu
Sediment ve filtrátu	0,000 %

Na příslušný pokus či zkoušku byl odebírán příslušný vzorek za absolutní svíčkou (membránovým filtrem). Každých 100 l byl odebírán příslušný vzorek z odtoku za daným sloupcem.

Celkové (na)plnění sloupce: 397 l filtrátu

Obsah sušiny po zpracování (TS) činil 5,9 % hmotn.

1. Způsob praktického, decentralizovaného obohacování a stabilizace směsí konjugovaných estrogenů (CE) z moči březích klisen (PMU), vyznačující se tím, že
 - přirozená směs konjugovaných estrogenů (CE) obsažená v moči březích klisen (PMU) se obohacuje a stabilizuje na pevném nosiči (= adsorpčním činidle), přičemž
 - předem dané celkové množství předem hrubě mechanicky předčištěné močové kapaliny je čerpáno kontinuálně ze zásobní nádoby nebo v přetržitých dílčích množstvích předem danou rychlostí toku vzpřímeně uspořádanou kartuší a odtékající močová kapalina je vyřazována, přičemž
 - daná kartuše je plněna příslušnou kapalinou obklopeným adsorpčním činidlem vhodným k adsorpci předem definovaného množství směsi konjugovaných estrogenů (CE) obsažené v močové kapalině, a přičemž
 - jako kontrola konečného bodu pro naplnění adsorpčního činidla je za předem dané, maximální celkové množství kartuší čerpané močové kapaliny odsouhlasena maximální plnicí kapacita adsorpčního činidla pro konjugované estrogy (CE) obsažené v močové kapalině.

2. Způsob podle nároku 1, vyznačujícího se tím, že vnitřní rozměry kartuše pro adsorpční lože jsou dimenzovány tak, že daná kartuše může zaujímat 30 až 50 l adsorpčního činidla a že PMU či moč březích

klisen od vstupu do výstupu musí urazit cestu od 80 do 120 cm.

3. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že ve způsobu použita kartaše je složena z proti úderu odolného laboratorního skla, umělých hmot a/nebo kovu.
4. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že jako čerpadlo se použije šroubové jednovřetenové čerpadlo, hadicové čerpadlo nebo membránové čerpadlo.
5. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že jako měřič toku nebo proudění se použije rotametr s plovoucím tělískem, měřič proudění s nastavovacími křídly nebo indukční měřič proudění.
6. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že k měření množství močové kapaliny čerpané kartaší se použije průtokoměr, přednostně vodoměr nebo indukční průtokoměr.
7. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že rychlost proudění, což znamená rychlost plnění, leží v rozsahu 3 až 10 adsorpčních ložných objemů/h, přednostně 4 až 6 adsorpčních ložných objemů.
8. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že jako adsorpční činidlo jsou použity polymerní adsorpční pryskyřice, křemičitý gel nebo RP-křemičitý gel,

zejména polymerní adsorpční činidla, přednostně semipolární polymerní adsorpční činidla.

9. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím, že** maximální celkové množství močové kapaliny činí 20 až 60 adsorpčních ložných objemů, přednostně 30 až 40 adsorpčních ložných objemů.
10. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím, že** kartuše po naplnění adsorbentu je proplachována množstvím PMU odpovídajícím celkovou kapacitou zhruba kapacitě adsorbentu PMU nebo také již před dosažením celkové plnicí kapacity po libovolných jednotlivých dílčích plnicích krocích vodou a/nebo jiným vhodným vodným promývacím roztokem.
11. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím, že** kartuše po naplnění adsorbentu v žádoucím případě je nejprve propláchnuta vodou a/nebo jiným vhodným vodným promývacím roztokem a nakonec za účelem další stabilizace konzervujícím roztokem, např. roztokem obsahujícím konzervační prostředek, vodným roztokem k nastavování pH a/nebo vodným solným roztokem.
12. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím, že** močová tekutina ze zásobní nádrže je čerpána nejprve přes jeden nebo několik předběžných filtrů, výhodně nejméně přes jeden hloubkový filtr nebo jeden náplavový filtr předtím, než se močová kapalina čerpá přes kartuši.

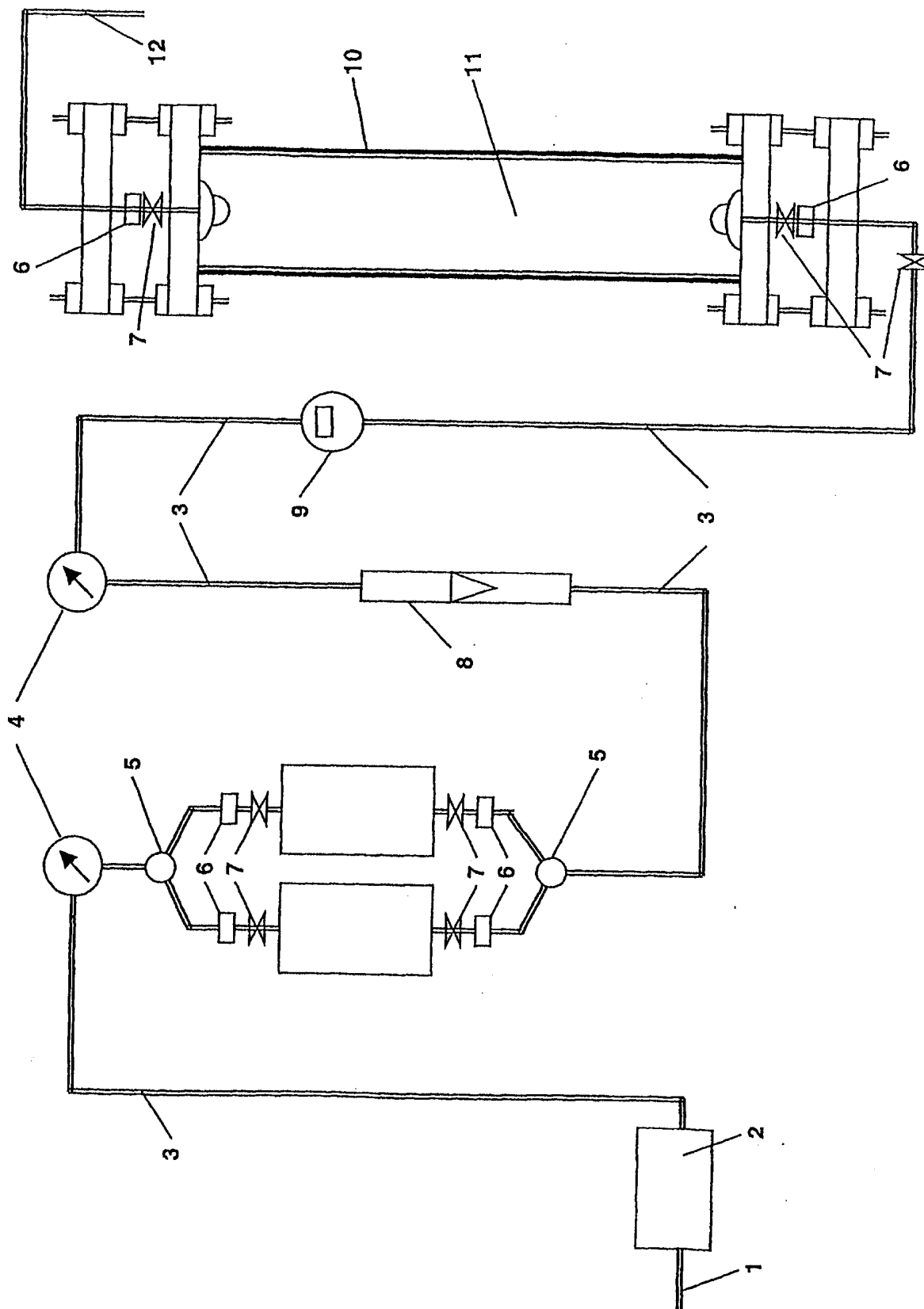
13. Způsob podle nároku 12, vyznačující se tím, že předběžným filtrem je hloubkový filtr s pískovým ložem nebo filtrační patrona, deskový filtr, svíčkový filtr, filtrační plachetka nebo filtrační trubka.
14. Způsob podle nároku 12 nebo 13, vyznačující se tím, že se k močové tekutině před filtrací přidává pomocný filtrační prostředek.
15. Zařízení k praktickému, decentralizovanému obohacování a stabilizaci směsi konjugovaných estrogenů (CE) z moči březích klisen (PMU) na pevném nosiči (adsorbéru), vyznačující se tím, že zahrnuje
- vzpřímeně uspořádanou kartuši, která je plněna, přičemž je stále obklopenou kapalinou, adsorpčním činidlem vhodným k adsorpci předdefinovaného množství směsi konjugovaných estrogenů (CE), obsažených v dané močové kapalině březích klisen, přičemž kartuše má buď a) vstup kapaliny umístěný u dna a výstup kapaliny umístěný v horní části nebo b) vstup kapaliny umístěný v horní části a výstup kapaliny umístěný u dna,
 - stejně jako před kartuší má umístěny v uvedeném pořadí a hadicovým vedením spolu navzájem spojeny
 - čerpadlo, měřič toku či proudění a průtokoměr.
16. Zařízení podle nároku 15, vyznačující se tím, že mezi čerpadlem a měřičem toku jsou dále zapojeny nejméně jeden předběžný filtr, přednostně jeden hloubkový filtr nebo náplavový filtr.

17. Zařízení podle nároku 16, vyznačující se tím, že daným předfiltrem je modul ze dvou paralelně zapojených předfiltrů, které mohou být střídavě provozovány jednotlivě a mohou být rovněž při běžícím provozu zařízení vyměňovány.
18. Zařízení podle nároku 16 nebo 17, vyznačující se tím, že ke kontrole řádné funkce předfiltru jsou mezilehle zapojeny v umístění manometr mezi čerpadlem a předfiltrem stejně jako manometr v rozsahu za předfiltrem, přednostně za měřičem toku nebo proudění.
19. Zařízení podle nároku 15, vyznačující se tím, že kartuše má vnitřní rozměry pro adsorpční lože s vnitřní výškou přibližně v rozsahu od 80 do 120 cm a vnitřním průměrem v rozsahu od 10 do 25 cm.
20. Zařízení podle nároku 15, vyznačující se tím, že zařízením obklopená kartuše se skládá z proti úderu odolného laboratorního skla, plastů a/nebo kovů.
21. Zařízení podle nároku 15, vyznačující se tím, že zařízením obklopeným čerpadlem je šroubové jednovřetenové čerpadlo nebo membránové čerpadlo.
22. Zařízení podle nároku 15, vyznačující se tím, že zařízením obklopeným měřičem proudění je rotametr s plovoucím tělískem, měřič proudění s otočnými křídly či rotorem nebo indukční měřič proudění.

23. Zařízení podle nároku 15, vyznačující se tím, že daným zařízením obklopené a k měření sloužícímu k průtoku močové kapaliny čerpané přes kartuši je vodoměr nebo indukční průtokoměr.

1/2

Obr. 1



Obr. 2

