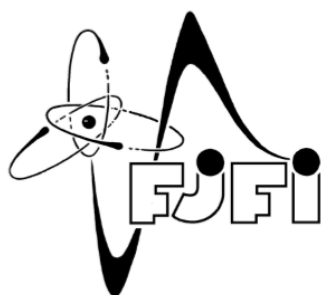


České vysoké učení technické v Praze

Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská

Katedra jaderné chemie



**Stanovení radionuklidové čistoty vybraných medicijních
nuklidů pomocí extrakční chromatografie na papíře**

Determination of radionuclidic purity of selected medicinal nuclides
using extraction paper chromatography

Bakalárska práca

Odbor: Jadrová chémia

Vedúci práce: Doc. RNDr. Ján Kozempel, Ph.D.

Konzultant: RNDr. Martin Vlk, Ph.D.

Klaudia Bátorová

Praha 2020

Prehlásenie

Vyhlasujem, že som túto bakalársku prácu vypracovala samostatne, pod odborným vedením Doc. RNDr. Jána Kozempela, Ph.D., a že správne citujem všetky použité informačné zdroje a literatúru.

V Prahe dňa

.....

Podpis

Pod'akovanie

Touto cestou by som rada poďakovala všetkým, ktorý mi pomohli pri písaní tejto práce. Najmä by som chcela poďakovať Ing. Ekaterine Kukleve za jej odborné vedenie pri písaní tejto práce. Ďalej ďakujem môjmu konzultantovi RNDr. Martinovi Vlkovi, Ph.D. a vedúcemu práce doc. RNDr. Jánovi Kozempelovi, Ph.D. za cenné rady a konzultácie.

Nakoniec by som zo srdca rada poďakovala mojej mamke za jej podporu a láskavosť po celú dobu štúdia.

Názov práce: Stanovenie rádionuklidovej čistoty vybraných medicínálnych nuklidov pomocou extrakčnej chromatografie na papier

Autorka: Klaudia Bátorová
Odbor: Jadrová chémia
Druh práce: Bakalárska práca
Vedúci práce: Doc. RNDr. Ján Kozempel, Ph.D., Katedra jaderné chemie, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, ČVUT v Praze
Konzultant: RNDr. Marin Vlk, Ph.D., Katedra jaderné chemie, Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská, ČVUT v Praze

Abstrakt:

Táto práca sa zameriava na separácie vybraných medicínálnych rádionuklidov za účelom stanovenia rádionuklidovej čistoty, pomocou diglykolamidov impregnovaných na chromatografickom papieri. Teoretická časť je venovaná základným princípom separácie pomocou chromatografie na papieri, využitiu diglykolamidov a popisu vybraných rádionuklidov, menovite ^{68}Ge a ^{68}Ga . V experimentálnej časti je pozornosť venovaná príprave chromatografických papierov a ich následné využitie pri separačných experimentoch. Boli pripravené chromatografické papiere impregnované dvoma diglykolamidmi TODGA a iso-TODGA, ktoré boli využité na separáciu rovnovážnej zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ v rôznych mobilných fázach, následne boli vyhodnotené pomocou TLC scenru. Bola nájdená vhodná metóda na stanovenie rádionuklidovej čistoty ^{68}Ga .

Kľúčové slová: extrakčná chromatografia na papieri, diglykolamidy, rádionuklidová čistota, ^{68}Ge , ^{68}Ga , TODGA, iso-TODGA.

***Title:* Determination of radionuclidic purity of selected medicinal nuclides using extraction paper chromatography**

Author: Klaudia Bátorová

Branch: Nuclear Chemistry

Type of thesis: Bachelor 's

Advisor: Doc. RNDr. Ján Kozempel, Ph.D., Department of Nuclear Chemistry, Faculty of Nuclear Sciences and Physical Engineering, CTU in Prague

Consultant: RNDr. Marin Vlk, Ph.D., Department of Nuclear Chemistry, Faculty of Nuclear Sciences and Physical Engineering, CTU in Prague

Abstract:

The thesis focuses on separation of selected medicinal nuclides to determine the radionuclidic purity. As a separation method diglycolamides impregnated on chromatographic paper was chosen. The theoretical part is devoted to the basic principles of paper chromatography separation, use of diglycolamides and description of selected radionuclides, namely ^{68}Ge and ^{68}Ga . The experimental part is focused on preparation of chromatographic papers and their application in separation experiments. Chromatographic papers were impregnated with two diglycolamides TODGA and iso-TODGA and used for separation of mixture $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ in different mobile phases. Separation experiments were evaluated with help of TLC scanner. It was found, that prepared paper was suitable for Germanium and Gallium separation and the method for radionuclidic purity determination of ^{68}Ga was found.

Keywords: extraction paper chromatography, diglycolamides, radionuclidic purity, ^{68}Ge , ^{68}Ga , TODGA, iso-TODGA.

Zoznam skratiek

DGA	Diglykolamid
GS/MS	Plynová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou
HPLC – MS	Vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou
iso-TODGA	<i>N,N,N'N'</i> -tetrαιοctyldiglykolamid
LET	Lineárny prenos energie
PET	Pozitrónová emisná tomografia
TBP	Tributylfosfát
TLC	Tenkovrstvová chromatografia
TODGA	<i>N,N,N'N'</i> -tetraoktyldiglykolamid

Obsah

Úvod	
1 TEORETICKÁ ČASŤ	10
1.1 Chromatografia	11
1.1.1 Rozdeľovacia chromatografia	12
1.1.2 Papierová rozdeľovacia chromatografia	12
1.1.3 Extrakčná chromatografia	15
1.1.4 Extrakčná chromatografia na papieri	16
1.2 Diglykolamidy	17
1.2.1 Stabilita diglykolamidov	20
1.2.2 Vplyv mocenstva a veľkosti extrahovaných iónov na komplexačné vlastnosti diglykolamidov	21
1.2.3 Vplyv teploty na komplexačné vlastnosti	22
1.2.4 TODGA	22
1.2.5 Využitie TODGA v nukleárnej medicíne	23
1.3 Vybrané medicínálne rádionuklidy	24
1.3.1 ^{68}Ge	24
1.3.2 ^{68}Ga	25
1.3.3 Rádionuklidové generátory	25
1.3.4 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátor	26
1.4 Stanovenie rádionuklidovej čistoty	27
2 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	28
2.1 Pomôcky	29
2.1.1 Materiály a prístroje	29
2.2 Postup práce	30
2.2.1 Impregnácia chromatografického papiera	30
2.2.2 Postup získania chromatogramu	30

3	Výsledky a diskusia	32
3.1	Impregnácia chromatografických papierov	32
3.2	Výsledky chromatografie	34
3.2.1	Čisté ^{68}Ga	35
3.2.2	Separácie $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na TODGA s použitím HNO_3	37
3.2.3	Separácie $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na TODGA s použitím HCl	38
3.2.4	Separácie $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na iso-TODGA s použitím HNO_3	40
3.2.5	Separácie $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na iso-TODGA s použitím HCl	41
3.3	Zhrnutie výsledkov separácie	44
4	Záver	45
5	Literatúra	46
6	Prílohy	52

Úvod

Liečba nádorových ochorení a s tým spojená diagnostika je naďalej veľkou pretrvávajúcou výzvou pre súčasnú medicínu.

V oblasti diagnostiky nachádzajú vysoké uplatnenie rádiofarmaká, ktorých dôležitou súčasťou je rádionuklid. Jeden z mnohých svetovo používaných rádionuklidov je napríklad ^{68}Ga , ktoré sa používa vo forme prípravku SomaKit pri diagnostike neuroendokrinných tumorov pomocou pozitronovej emisnej tomografie PET. [1]

Rádionuklid ^{68}Ga sa získava najmä eluovaním $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátorapomocou 0,1 M HCl. Takto získavané ^{68}Ga , avšak môže obsahovať stopy materského ^{68}Ge , ktoré je pre použitie v nukleárnej medicíne nežiadúce a ďalej tiež neaktívne nečistoty Zn, Ti, Fe. Dôležitým parametrom pri využití $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátora je výsledná rádionuklidová a chemická čistota používaného rádionuklidu. [2]

Jedna z metód zaoberajúca sa stanovením rádionuklidovej čistoty farmaceutického ^{68}Ga využíva pre separáciu metódu extrakčnej chromatografie na papieri pomocou diglykolamidov, vynikajúcich extrakčných činidiel. Táto metóda je veľmi jednoduchá na vykonanie, lacná a rýchla. [3]

Štúdiu diglykolamidov bola venovaná veľká pozornosť posledných približne 40 rokov. Boli syntetizované z dôvodu potreby, čo najbezpečnejšieho a najviac ekologického nakladania s vysoko aktívnym odpadom z prepracovaného vyhoretého jadrového paliva. Vynikajúce extrakčné vlastnosti diglykolamidov je, avšak možné využiť aj v nukleárnej medicíne pre stanovenie rádionuklidovej čistoty. [4]

Táto práca sa zameriava na prípravu materiálov a techniky na separáciu zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ a následné využitie diglykolamidov menovite TODGA a iso-TODGA na stanovenie rádionuklidovej čistoty danej zmesi.

Ciele bakalárskej práce

1. Vykonanie literárnej rešerše a vytipovanie vhodných medicínálnych nuklidov a separačných systémov na báze diglykolamidov.
2. Príprava materiálov pre separáciu.
3. Vykonanie a vyhodnotenie separačných experimentov. Návrh prípadných modifikácií doterajších metód.
4. Vyhodnotenie výsledkov získaných v štúdiu.

1 TEORETICKÁ ČASŤ

1.1 Chromatografia

Pod pojmom chromatografické metódy rozumieme súbor deliacich metód, ktorých spoločným znakom je rôzna afinita zložiek delenej zmesi k dvom vzájomne nemiešateľným fázam s ktorými sú v styku. Existuje mnoho definícií, pokúšajúcich sa vystihnúť všeobecné princípy chromatografie, z ktorých sú uvedené aspoň dve:

1. Chromatografia je fyzikálne chemická metóda vhodná k deleniu kvapalných alebo plyných zmesí, využívajúca rozdielu v separačných funkciách jednotlivých zložiek zmesi medzi dvoma fázami. Delenie medzi dve fázy sa opakuje v spojitom prechode v rôznych miestach nepohyblivého nosiča, ktorým prúdi delená zmes. [6]
2. Termín chromatografia označuje procesy, ktoré umožňujú rozdeľovanie zmesi rozpustených látok tým, že ich selektívne fixujú/uvolňujú na pevnom povrchu nosiča pomocou kvapaliny alebo plynu, prechádzajúcej v určitom smere. [6]

Z týchto definícií vyplýva všeobecný znak chromatografických metód : rozdelenie zmesi látok prebieha na základe postupného ustanovovania rady fázových rovnováh jednotlivých zložiek delenej zmesi medzi dve vzájomne nemiešateľné fázy, ktoré sú voči sebe relatívne v pohybe. [6]

Principiálne postupuje chromatografické delenie tak, že zmes látok určená k rozdeleniu je fixovaná nepohyblivou (stacionárnou) fázou, cez ktorú určitou rýchlosťou prechádza pohyblivá (mobilná) fáza. Mobilná fáza vymýva (eluuje) jednotlivé zložky delenej zmesi a odnáša ich v smere svojho toku. Kinetická rovnováha delenej zložky medzi oboma fázami, ktorá sa neustále obnovuje, je potom príčinou selektivity a veľkej separačnej mohutnosti chromatografických metód. [6, 7]

Chromatografické metódy sa delia podľa mechanizmu delenia na rôzne typy ako napríklad rozdeľovacia, adsorpčná, zrážacia či iónová chromatografia. Zvolený typ chromatografie je možné experimentálne previesť rôznymi spôsobmi: chromatografia na kolóne, na papieri či na tenkej vrstve. Kolónová chromatografia je výhodnejšia pre preparatívne účely, papierová pre analytické. [7, 8]

Chromatografické metódy sú veľmi vhodné k rýchlej analýze zloženia zmesi látok. Sú pomerne lacné a často nevyžadujú špecifickú aparatúru. V rámci tejto práce sú chromatografické metódy, konkrétne extrakčná chromatografia na papieri, aplikované na separáciu zmesi dvoch rádionuklidov. [6, 7, 8, 9]

1.1.1 Rozdeľovacia chromatografia

Základom rozdeľovacej chromatografie v systéme kvapalina – kvapalina je postupné, mnohokrát opakované delenie rozpustených látok medzi dve kvapalné fázy. Delenie je spôsobené rôznou rozpustnosťou látok medzi dvoma kvapalnými, nemiešateľnými fázami, z ktorých jedna (stacionárna) je zakotvená na vhodnom nosiči a druhá (mobilná) preteká stacionárnou fázou. Rozdelenie látok medzi príslušné fázy je určené príslušným rozdeľovacím pomerom D . Ak je organická fáza zakotvená na hydrofóbnom nosiči, hovoríme o rozdeľovacej chromatografii s prevrátenými fázami alebo o extrakčnej chromatografii. Výhodou rozdeľovacej chromatografie je a) možnosť separácie zmesi o malom objeme, b) možnosť separácie väčšieho množstva vzoriek vedľa seba, c) možnosť dvojdimenzionálnej elúcie. [6, 7, 8, 9]

1.1.2 Papierová rozdeľovacia chromatografia

Papierová chromatografia sa vyznačuje tým, že nepohyblivá fáza – voda je pevne viazaná do komplexu s celulózu spracovanou do formy špeciálneho filtračného papiera. Priemerný obsah viazanej vody v papieri sa pohybuje okolo 5% až 20%. Druhou, pohyblivou fázou je najčastejšie organické rozpúšťadlo alebo jeho zmes s vodným roztokom minerálnej kyseliny. Taktiež môže byť papier stacionárnou (organickou) nepohyblivou fázou napustený alebo impregnovaný, takto vzniká papier používaný pre extrakčnú chromatografiu. Počas delenia zmesi látok, pôvodne nanosených na stacionárnu fázu (nanesením roztoku delených látok na určité označené miesto papiera, tzv. štart), sa tieto plynulo vymývajú mobilnou fázou. Rýchlosť ich vymývania je určená v prvej rade hodnotou rozdeľovacieho pomeru D , ktorý je definovaný vzťahom

$$D = \frac{c_{org}}{c_{aq}} \quad (1)$$

kde c_{org} je celková analytická koncentrácia látky v organickej fáze, c_{aq} je celková analytická koncentrácia látky vo vodnej fáze. Látka s najvyššou hodnotou D sa vymýva najviac a pohybuje sa najrýchlejšie v smere toku mobilnej fázy. [6, 8, 9]

Charakteristickou veličinou, udávajúcou aj kvalitu chromatografovanej látky, je hodnota R_F , definovaná ako pomer vzdialeností stredu škvrny (koncentrácie, rádioaktivity) chromatografovanej látky od miesta štartu, a vzdialenosti čela (frontu, F) rozpúšťadla od

miesta štartu. Hodnota R_F sa teda môže meniť v rozmedzí od nuly (delená látka sa nepohybuje) do jedna (delená látka sa pohybuje súčasne s čelom mobilnej fázy). Pre určitý druh papiera, rozpúšťadlovú sústavu a teplotu je táto hodnota pre danú látku konštantná, závisí však na spôsobe akým bol chromatogram získaný. [6, 8, 9]

Papier používaný pri papierovej chromatografii musí mať homogénnu štruktúru, vhodnú schopnosť zmáčania a obsahovať čo najmenej nečistôt. Homogenita papiera je zaručená strojovou výrobou. [6, 8, 9]

Rozpúšťadlová sústava

Vhodná rozpúšťadlová sústava pre delenie určitých prvkov je prevažne určovaná na základe analógie v literatúre tj. chemickej povahe analytov atď. Pri výbere zloženia mobilnej fázy sa riadime hodnotou rozpustnosti delených látok vo vode a vo zvolenom rozpúšťadle. [6, 9]

Významnou súčasťou rozpúšťadlovej sústavy sú činidlá vytvárajúce s analyzovanými prvkami málo disociované neutrálne soli či komplexné kyseliny, ktoré sa vyznačujú malou hydrofilnosťou. Sú to predovšetkým halogenovodíkové kyseliny, kyselina dusičná a kyselina chlorovodíková. [6, 9]

Spôsoby získania chromatogramu

Roztok zmesi delených látok sa nanáša na papier obvykle v množstve niekoľko jednotiek až desiatok μl vo forme kruhovej škvrny, alebo vo forme vodorovného prúžku. Roztok zmesi delených prvkov je možné vo väčšine prípadov použiť bez značnej úpravy, no zmes nesmie obsahovať komponenty rozrušujúce papier. Vysušený papier obsahujúci delenú zmes, sa preniesie do uzavretej chromatografickej nádoby, v ktorej je umiestnené na dne rozpúšťadlo spolu s nasýtenými parami rozpúšťadla. Je dôležité, aby sa rozpúšťadlo z papiera čo najmenej vyparovalo a papier nevysychal alebo sa nemenilo zloženie rozpúšťadla v papieri. [6, 9]

Vlastné delenie, t. j. vyvíjanie chromatogramu, sa môže robiť rôznymi spôsobmi, rozlíšenými podľa smeru toku mobilnej fázy:

1. *vzostupné - stúpajúce*
2. *zostupné - klesajúce*

3. vodorovné

Pri zostupnom usporiadaní je papier zasunutý do zásobníku s rozpúšťadlom, voľne splýva cez okraj zásobníku. Papier nasáva rozpúšťadlo, ktoré steká ku spodnému okraju papiera. Štart musí byť v mieste, kde rozpúšťadlo už voľne steká po papieri. Rozdelené zložky môžu byť stekajúcim rozpúšťadlom z chromatogramu vymyté. Vzostupné usporiadanie je najrozšírenejším spôsobom vyvíjania chromatogramu. Je charakterizované opačným tokom mobilnej fázy než v predchádzajúcom prípade. Delené látky nemôžu byť vymyté z chromatogramu, pretože u horného konca papiera sa čelo mobilnej fázy zastaví. Pri horizontálnom usporiadaní je chromatogram uložený v chromatografickej nádobe na sklenených tyčinkách vo vodorovnej polohe. Jeden koniec papiera zasahuje do nádoby s mobilnou fázou. [6, 9]

Po ukončení vyvíjania chromatogramu sa papier usuší a na chromatograme sa vyhodnotí poloha jednotlivých škvŕn. Okrem hodnoty R_F , ktorá určuje kvalitu rozdelenia zložiek, je možné previesť i kvantitatívnu analýzu látky v škvŕne po jej vymytí z papiera. Pre hodnotenie sa nesmie zanedbať i tvar výslednej škvŕny. [6, 9]

Podstata papierovej chromatografie

Akonáhle prenikne mobilná fáza k miestu, kam bola nanosená zmes látok, dôjde k rozdeleniu molekúl jednotlivých zložiek analyzovanej zmesi medzi mobilnou a stacionárnou fázou. Ak prietok pohyblivej fázy nie je príliš rýchly, dosiahne pomer koncentrácií, určitej zložky delenej zmesi vo fáze pretekajúcej k fáze stacionárnej, rovnováhu, určenej príslušnou separačnou - distribučnou funkciou (rozdeľovací koeficient, adsorpčná izoterma). [9]

Tá časť molekúl, ktorá sa dostane do mobilnej fázy, je unášaná do susedného miesta chromatogramu, kde sa stretne s čerstvou stacionárnou fázou, dovtedy neobsahujúcou tento druh molekúl. Tu však už koncentrácia látky v stacionárnej fáze nie je v rovnováhe s koncentráciou takto vzniknutého roztoku v mobilnej fáze, takže opäť nastane prechod látky z jednej fázy do druhej, spejúce k obnoveniu rovnováhy. Tá časť látky, ktorá ostala v mobilnej fáze, je opäť unášaná ďalej. Tým sa nanosená škvŕna látky na zadnom okraji narúša a odplavuje a na prednom okraji prirastá, škvŕna putuje po papieri v smere toku pretekajúcej fázy s relatívnou rýchlosťou, ktorá je daná separačnou funkciou príslušnej látky. [9]

Ak sa za rovnováhy ocitá omnoho viac molekúl vo fáze pretekajúcej než vo fáze stacionárnej, putuje škvrna pomerne rýchlo. Ak je naopak rovnováha posunutá v prospech stacionárnej fáze, posúva sa škvrna pomaly. Látky, ktoré sa navzájom aspoň trochu líšia hodnotami konštant v separačnej funkcii (napr. veľkosťou rozdeľovacieho koeficientu, strmou adsorpčnej izotermy) sa preto na chromatograme rozdelia. [9]

Hromadenie látok u povrchu pevnej fáze nazývame adsorpcia. Príčina tohto javu vychádza z síl pôsobiacich tesne u povrchu. Tieto sily zachycujú častice z okolitého prostredia, ktoré vplyvom tepelného pohybu narazili na povrch. Druh a veľkosť povrchu má pri adsorpcii rozhodujúci význam. K adsorpcii môže dôjsť len vtedy, ak má látka k povrchu afinitu v chemickom zmysle. Tá je spravidla daná zbytkovými valenciami oboch druhov reagujúcich zložiek. Charakter tepelnej rovnováhy medzi povrchovou koncentráciou adsorbovanej látky a jej koncentráciou v okolitom prostredí vystihuje adsorpčná izoterma. [9]

Detekcia píkov

Väčšinou je papier pred detekciou vysušený pre odstránenie prebytočnej mobilnej fáze. Sušenie môže prebiehať voľne pomocou prúdu vzduchu, či za zvýšenej teploty. Kvalitatívne vyhodnotenie škvŕn na chromatograme je možné urobiť priamo na papieri (metóda in situ). Podľa povahy delenej látky, detekujeme chemickými alebo fyzikálnymi metódami, napríklad reakciou s inou vhodnou látkou, pri ktorej vzniká charakteristické zafarbenie. Výhodnejšie než metódy chemické sú metódy fyzikálne, pri ktorých nedochádza k znečisteniu separovanej látky. Najpoužívanjšie detekčné postupy sú založené na absorpcii žiarenia vo viditeľnej alebo ultrafialovej oblasti spektra, je možné použiť fluorescenčné, elektrochemické alebo rádiometrické metódy ako napríklad skener plošnej aktivity AR – 2000 TLC Scanner. [6, 9, 10]

1.1.3 Extrakčná chromatografia

Pri extrakčnej chromatografii prebieha delenie zmesi látok na základe postupného ustanovovania fázových rovnováh jednotlivých zložiek delenej zmesi medzi dve nemiešateľné fáze, ktoré sa voči sebe relatívne pohybujú. Pri extrakčnej chromatografii slúži ako stacionárna fáza organické činidlo zakotvené na pevnom hydrofóbnom nosiči (pevný extrahent). Mobilnú fázou tvoria vodné roztoky. Organická fáza nie je miešateľná s vodnou,

a preto je rozdelenie látky určené len hodnotou rozdeľovacieho pomeru D . Toto usporiadanie je výhodné, pretože je možné jednoducho meniť pH, koncentráciu či mobilnej fáze. [6, 7, 8]

Vďaka dynamickému usporiadaniu procesu môžeme oddeliť aj tak chemicky podobné prvky, ako sú lanthanoidy a transuránové prvky. Použitá aparátúra je jednoduchá, čo je zvlášť dôležité pri práci s rádioaktívnymi látkami alebo pri práci v agresívnom prostredí. Výhodou pri práci s rádioaktívnymi látkami je malá spotreba činidiel. Obmedzením môže byť kapacita sorpčného materiálu a potreba dostatočne rýchlej kinetiky prechodu delenej látky z jednej fáze do druhej, aby došlo k ustanoveniu rovnováhy. [6, 7, 8]

Extrakčné chromatografické delenie prvkov je možné robiť rôznou experimentálnou technikou: na chromatografickej kolóne, na papieri alebo na tenkej vrstve. Pri kolónovej extrakčnej chromatografii tvorí pevný extrahent so zabudovanou organickou aktívnou zložkou stĺpec v kolóne a vodný roztok s delenou zmesou preteká kolónou. Je teda nutné nájsť optimálnu veľkosť častíc nosiča. Spôsob získania chromatogramu a detekcie prvkov sú analogické ako u papierovej chromatografie. [6, 7, 8]

1.1.4 Extrakčná chromatografia na papieri

Príprava chromatografického papiera ako nosiča organickej fáze spočíva v impregnácii nosiča vhodným organickým činidlom. Obvykle sa používa 0,01 – 2 M roztok činidla vo vhodnom rozpúšťadle, napríklad v čistom *n*-hexáne, pentáne, petrolétere alebo ich zmesi. Nanesenie roztoku extrakčného činidla je možné previesť napríklad ponorením chromatografického papiera do roztoku alebo nasprejovaním roztoku na chromatografický papier. Po impregnácii papiera ponorením do roztoku extrakčného činidla a rozpúšťadla o známej koncentrácii napríklad jeden krát na 5 s, sa nechá rozpúšťadlo odpariť pri laboratórnej alebo zvýšenej teplote, napríklad 50 °C. Výhodou papiera je jednoduchosť prípravy a vykonania chromatografie, a zároveň to, že je možné určiť pomer aktivít skúmaných rádionuklidov bez nutnosti použitia gama spektrometrie, len meraním aktivity nastrihaných častí chromatogramu. [3, 7, 9]

Metódu extrakčnej chromatografie je možné využiť pri stanovení rádionuklidovej čistoty. V práci [5] chromatografický papier impregnovaný di-(2-ethylhexyl)-fosfonovou kyselinou, bol použitý na spoľahlivé, jednoduché a veľmi citlivé stanovenie stôp ^{90}Sr z ktorého rozpadom vzniká ^{90}Y . Rádionuklid ^{90}Y používaný v terapii by mal byť veľmi vysokej rádionuklidovej čistoty (viac ako 99,998%), teda stanovenie ^{90}Sr je pre tieto účely kľúčové.

Extrakčná chromatografia môže byť takýmto spôsobom použitá ako rutinné stanovenie rádionuklidovej čistoty rádiofarmak.

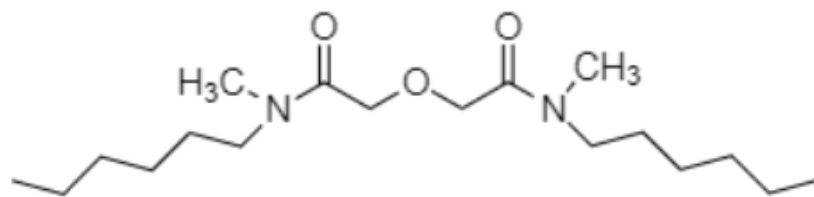
1.2 Diglykolamidy

Diglykolamidy patria do skupiny diamidov. Sú to amfifilné molekuly, ktorých vnútorná časť je polárna a vonkajšia je nepolárna. Vo svojej štruktúre obsahujú éterový kyslík, vďaka ktorému sú DGA tridentátne ligandy, majú teda tri donorové atómy. Vyznačujú sa vyššou extrakčnou schopnosťou pre prechodné kovy než bidentátne diamidy. [11]

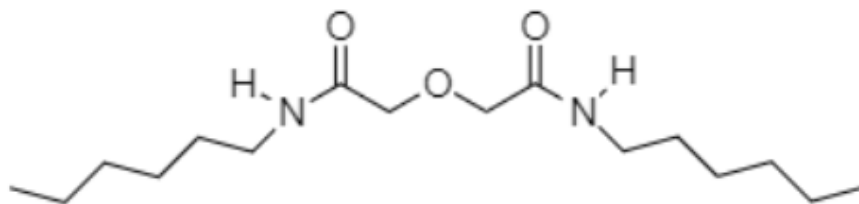
Diglykolamidy (DGA) boli cielene syntetizované, za účelom separácie lanthanoidov a aktinoidov z vysokoaktívneho vyhoretého jadrového paliva [11], kvôli ich dobrým komplexačným vlastnostiam. Pričom DGA tvoria výrazne silnejšie komplexy s trojmocnými iónmi než s šesťmocnými. V prípade bidentátnych diamidov nie sú vytvárané komplexy tak silné. [12]

Prvé štúdie DGA boli vykonané v práci [13], kde bolo zistené, že diglykolamidy vykazujú vysoké rozdeľovacie pomery pri separácii trojmocných lanthanoidov, napríklad La^{3+} a Yb^{3+} , z vodných roztokov kyseliny pikrovej a kyseliny dusičnej o $\text{pH}=5$. Na rozdiel od toho, pri separácii Ca^{2+} a Sr^{2+} bol rozdeľovací pomer o niekoľko radov nižší pri rovnakých extrakčných podmienkach.

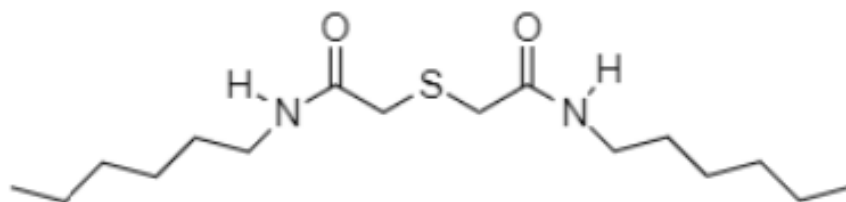
Sasaki a Choppin sa venovali extrakcii aktinoidov pomocou diglykolamidov. Syntetizovali **1)** N,N'-dimetyl-N,N'-dihexyl-diglykolamid (viď Obr. č. 1) a jeho dva štruktúrne analógi, **2)** N,N'-dihexyl-diglykolamid (viď Obr. č. 2) a **3)** N,N'-dihexyl-3thiopentándiamid (viď Obr. č. 3). Tieto diglykolamidy boli použité na separáciu aktinoidov a lanthanoidov z vodných roztokov o pH v rozmedzí od 1 do 4. Bolo zistené, že pri použití diglykolamidu **1)** rozdeľovací pomer nevykazoval závislosť na pH u trojmocných iónov Eu^{3+} a Am^{3+} a to v celom rozmedzí sledovaného pH , zatiaľ čo rozdeľovacie pomery iónov Th^{4+} a U^{6+} boli závislé na pH , pričom najvyššie hodnoty rozdeľovacieho pomeru boli zaznamenané v najkyslejšom roztoku. Ďalej bolo ukázané, že hodnoty rozdeľovacieho pomeru pri použití tohto diglykolamidu klesajú v rade $\text{Eu}^{3+} > \text{Am}^{3+} > \text{Th}^{4+} > \text{U}^{6+} > \text{Np}^{5+}$, pričom Np^{5+} sa vôbec nesePARovalo. [14]



Obr. č. 1 N,N'-dimetyl-N,N'-dihexyl-diglykolamid

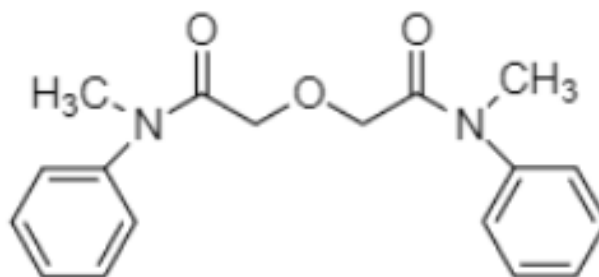


Obr. č. 2 N,N'-dihexyl-diglykolamid



Obr. č. 3 N,N'-dihexyl-3thiopentándiamid

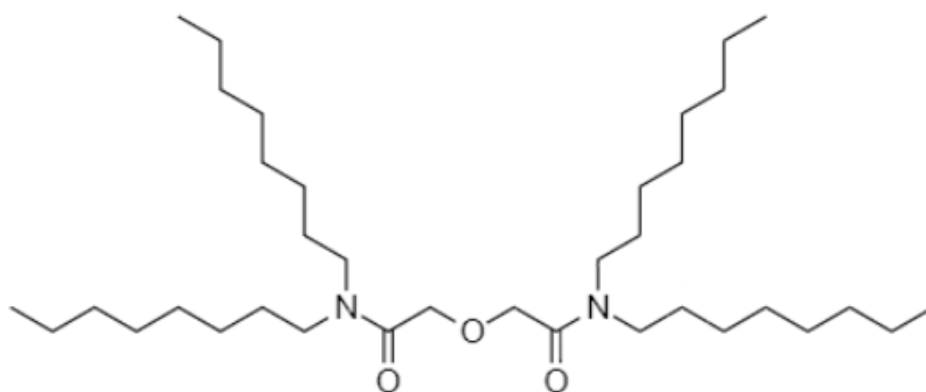
V práci [15] boli separované trojmočné lanthanoidy pomocou 4) N,N'- dimetyl- N,N'- difenyl - 3 – oxapentandiamidu z kyseliny dusičnej a chlorovodíkovej. Bolo dokázané, že diglykolamidy tvoria tridentátne komplexy pri separácii lanthanoidov.



Obr. č. 4 N,N'- dimetyl- N,N'- difenyl - 3 – oxapentandiamid

V práci [16] bolo zistené, že na komplexačné vlastnosti DGA má vplyv aj dĺžka reťazca. Bolo syntetizovaných šesť diglykolamidov s rôznou dĺžkou alkylových reťazcov od $n=3$ až $n=10$, kde n je počet uhlíkov v reťazci, ktoré využívali na extrakciu aktinoidov a lanthanoidov z kyseliny dusičnej do n -dodekánu. Bola sledovaná závislosť rozpustnosti diglykolamidov vo vode na dĺžke alkylových reťazcov. Bolo zistené, že diglykolamidy s alkylovým reťazcom kratším ako 6 uhlíkov mali výraznejšie hydrofilnú povahu. Avšak diglykolamidy s oktylovými a decylovými skupinami boli neobmedzene rozpustné v n -dodekáne a dobre extrahovali trojmocné, štvormocné a šesťmocné aktinoidy, a zároveň trojmocné lanthanoidy z kyslých vodných roztokov. Bola zisťovaná závislosť rozdeľovacieho pomeru Eu^{3+} a Am^{3+} na dĺžke alkylového reťazca v systéme 1M kyseliny dusičnej/0,1 M diglykolamidu/rozpúšťadlo. Boli použité rôzne rozpúšťadlá a diglykolamidy s dĺžkou reťazca od $n=3$ až $n=10$. Bolo ukázané že diglykolamidy s kratšími reťazcami mali vyšší rozdeľovací pomer a že schopnosť extrakcie Am^{3+} klesá s narastajúcou dĺžkou alkylového reťazca. [16]

Diglykolamid používaný v tejto práci - **5** *N,N,N',N'*-tetraoktyldiglykolamid (**TODGA**) sa ukázal ako najvýhodnejší pre extrakciu aktinoidov a lanthanoidov. TODGA má niekoľko zásadných výhod: (1) veľké hodnoty rozdeľovacieho pomeru pre separáciu aktinoidov z koncentrovanej kyseliny dusičnej do dodekánu, (2) vysoká stabilita v alifatických rozpúšťadlách, (3) jednoduchá syntéza a (4) fakt, že jeho molekula je zložená z atómov C, H, N, O, čo dovoľuje deštrukciu spaľovaním bez vzniku sekundárneho odpadu.



Obr. č. 5 *N,N,N',N'*-tetraoktyldiglykolamid

1.2.1 Stabilita diglykolamidov

Chemická stabilita

V práci [17] bola TODGA podrobená štúdiu hydrolyzy. Zmes 0,1M TODGA v n-dodekáne s prídavkom 3 M HNO₃ bola po dobu 4 týždňov miešaná pri izbovej teplote. Roztok po analýze GS/MS nevykazoval žiadne známky degradácie TODGA.

V práci [18] bola zmes 0,2 M TODGA/0,5 M TBP v hydrogenovanom tetrapropyléne ponechaná po dobu 60 dní v kontakte s 3M HNO₃. V súlade s prácou [17] neboli pozorované žiadne známky degradácie.

Na základe týchto štúdií je možné usudzovať, že kyslé prostredie nemá na chemickú stabilitu diglykolamidov vplyv.

Radiačná stabilita

Radiačná stabilita TODGA bola študovaná v práci [17]. Za rôznych podmienok bola TODGA vystavená gama žiareniu ⁶⁰Co a dávke 0,1 – 0,5 MGy na jeden amid po dobu štyroch dní pri teplote v rozmedzí od 25-30 °C . Každých 24 hodín bola odobraná časť vzorky a pomocou GC bol stanovený úbytok diglykolamidu v ožarovanej vzorke. Bolo zistené, že s klesajúcou koncentráciou TODGA v n-dodekáne klesá aj jeho stabilita. Na základe tohto zistenia, bolo usúdené, že kation radikály n-dodekánu reagujú s DGA. Pri ožarovaní n-dodekán teda pôsobí ako senzibilizátor. Tento efekt je možné potlačiť pridaním vhodného rozpúšťadla, napríklad benzénu. Bolo taktiež potvrdené, že prítomnosť HNO₃ má vplyv na radiačnú stálosť diglykolamidov. Bolo ukázané, že v molekule TODGA sú väzby éterové a amidové najnáchylnejšie voči ožarovaniu. Bolo potvrdené, že prítomnosť HNO₃ nemá vplyv na radiačnú stabilitu.

Účinkom alfa žiarenia na radiačnú stabilitu TODGA sa venovali v práci [19]. Roztok 0,01 M TODGA v n-dodekáne bol ožarovaný prúdom alfa častíc z urýchľovaču častíc až do dávky 193 kGy. Vzorka bola taktiež ožarovaná gama žiarením Co⁶⁰ až do dávky 345 kGy. Po ožarovaní alfa žiarením až do dávky 193 kGy nastala degradácia n-dodekánu, avšak gama žiarenie spôsobovalo degradáciu TODGA.

Ďalej sa vplyvu gama žiarenia na TODGA venovali v práci [20]. Vzorky zmesi 0,1 M TODGA, 3M HNO₃ a hydrogenovaného tetrapropylénu s oktanolom v rôznom pomere, boli ožarované gama žiarením ⁶⁰Co až od dávky 100 kGy do 1 MGy. Bolo ukázané, že po

ožarování dávkou 100 kGy nenastali výrazné zmeny v zložení vzoriek, avšak po ožarování dávkou 1 MGy sa koncentrácia TODGA výrazne znížila, najmä vo vzorkách bez prítomnosti HNO₃. Boli pozorované rôzne degradačné produkty, ktorých prítomnosť zapríčiňovala zníženie rozdeľovacích pomerov. Tieto výsledky potvrdzujú dôležitú rolu HNO₃ pri ochrane TODGA počas ožarovania.

1.2.2 Vplyv mocenstva a veľkosti extrahovaných iónov na komplexačné vlastnosti diglykolamidov

Veľkosť extrahovaných iónov a ich mocenstvo má najzásadnejší vplyv na extrakčné schopnosti diglykolamidov. Táto závislosť bola podrobne sledovaná v štúdiu [21], v ktorej extrahovali 75 prvkov z vodného roztoku HNO₃ do n-dodekánu s použitím TODGA.

Z dvojmocných iónov sa najlepšie extrahovali ióny o iónovom polomere okolo 100 pm, a najväčšie hodnoty rozdeľovacieho pomeru dosahovali ióny Ca²⁺. Dvojmocné ióny s iónovým polomerom menším ako 80 pm nebolo možné extrahovať. V prípade trojmocných iónov bolo zistené, že najvyššie rozdeľovacie pomery dosahovali lanthanoidy a aktinoidy, pričom najväčšiu hodnotu dosahovali ióny Lu³⁺ s iónovým polomerom 97,7 pm. Hodnoty rozdeľovacieho pomeru sa zvyšovali postupne od ľahších k ťažším lanthanoidom. [21]

Ďalej bolo zistené, že najväčšie hodnoty rozdeľovacieho pomeru boli dosiahnuté pri extrakcii iónov s iónovým polomerom medzi 87 – 113 pm. V porovnaní s dvojmocnými iónmi, boli tieto hodnoty až o tri rady vyššie. Z pomedzi štvormocných iónov sa najlepšie extrahovali ióny Zr⁴⁺ o iónovom polomere 84 pm. Najväčšie hodnoty rozdeľovacieho pomeru boli pozorované u iónov s iónovým polomerom medzi 83 – 105 pm. Ióny o veľkosti iónového polomeru menej ako 70 pm neboli extrahovateľné, naproti tomu hodnoty rozdeľovacieho pomeru iónov o veľkosti iónového polomeru viac ako 83 pm boli veľmi veľké, čo naznačuje veľkú závislosť komplexačných vlastností na veľkosti iónu. Najhoršie sa extrahovali ióny menšie ako 80 pm u jednomocných a dvojmocných iónov, menšie ako 70 pm u trojmocných iónov a menšie ako 60 pm u štvormocných iónov, pričom päťmocné ióny boli len veľmi málo extrahovateľné. [21]

Tvorba komplexov bola závislá taktiež na koordinačnom čísle extrahovaných iónov, tie s vyšším koordinačným číslom tvoria komplexy s vyšším počtom molekúl TODGA a ľahšie prechádzajú do organickej fázy. Najlepšie boli extrahované dvojmocné ióny s koordinačným číslom 6, pričom tvorili komplexy v pomere 1:2, trojmocné a štvormocné s koordinačným číslom 8 tvorili komplexy v pomere 1:3 a 1:4. [21]

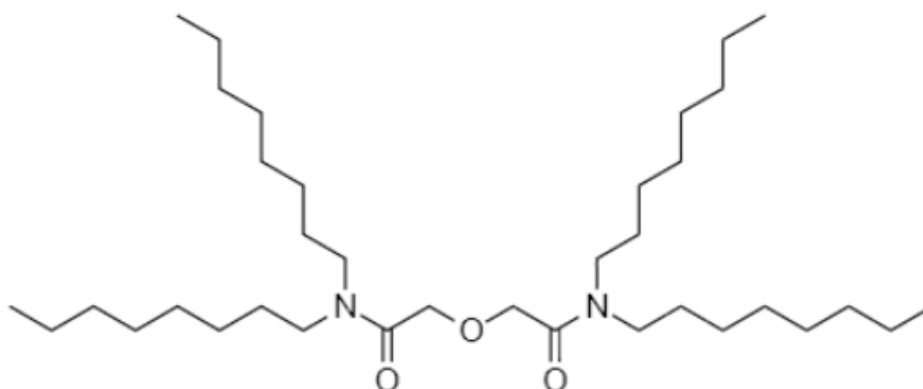
1.2.3 Vplyv teploty na komplexačné vlastnosti

Bolo potvrdené, že teplota má vplyv na extrakčné vlastnosti diglykolamidov. V práci [22] boli skúmané zmeny rozdeľovacieho pomeru TODGA v závislosti na teplote pri extrakcii Am^{3+} , Pu^{4+} a U^{6+} z 1 M HNO_3 do systému 0,1 M TODGA/n-dodekán v teplotnom rozmedzí 15 – 45 °C. Bolo zistené, že extrakčná schopnosť sa so zvyšujúcou sa teplotou znižuje.

Rovnaké výsledky boli zaznamenané v práci [23] pri extrakcii Am^{3+} , Sr^{2+} a Eu^{3+} z 1 M HNO_3 do benzénu pomocou TODGA, v rozmedzí 15 – 55 °C.

Z výsledkov týchto pozorovaní, je možné usadzovať, že proces extrakcie diglykolamidmi je exotermický proces.

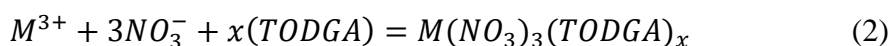
1.2.4 TODGA



Obr. č. 6. *N,N,N',N'*-tetraoktyldiglykolamid - TODGA

Diglykolamid *N,N,N',N'*-tetraoktyldiglykolamid (TODGA, Obr. č. 6) patrí medzi tridentátne diamidy. Molárna hmotnosť TODGA je 580,98 g.mol⁻¹. Vo svojej štruktúre má tri atómy kyslíku, ktorými vytvára komplex s príslušným trojmocným kovom. [4]

V prácach [24], [25] boli preukázané komplexačné schopnosti TODGA, čo bi sľubného extrakčného činidla trojmocných lanthanoidov a aktinoidov. Podľa štúdie [26] prebieha adsorpčná reakcia TODGA a trojmocných kovov (M) podľa:

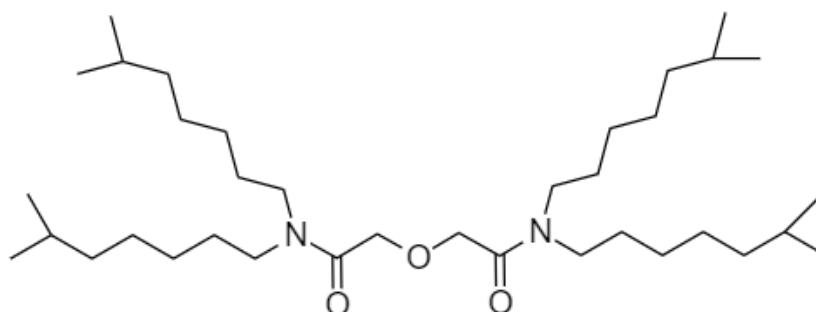


kde x je rovné 3 alebo 4, v závislosti na veľkosti extrahovaného iónu. Pri extrakcii ľahších lanthanoidov vznikajú komplexy s tromi molekulami TODGA u ťažších so štyrmi

molekulami [27]. Podľa [28] je TODGA veľmi dobre rozpustný v alifatických rozpúšťadlách ako n-dodekán.

Tieto vlastnosti môžu byť využité pre separáciu rádionuklidov, nie len na chromatografickej kolóne [25, 29], ale taktiež na chromatografickom papieri [3,30].

Ďalší diglykolamid ktorý je možné využiť na separáciu rádionuklidov je DGA s rozvetvenými uhl'ovodíkovými reťazcami *N,N,N',N'*-tetraisoooktyldiglykolamid ďalej označovaný ako iso-TODGA. Je to DGA s veľmi podobnými vlastnosťami ako TODGA.



Obr. č. 7. *N,N,N',N'*-tetraisoooktyldiglykolamid

1.2.5 Využitie TODGA v nukleárnej medicíne

Pri použití chromatografického papiera impregnovaného extrakčným činidlom TODGA je možné deliť rádionuklidy zo zmesi $^{227}\text{Ac}/^{227}\text{Th}/^{223}\text{Ra}/^{211}\text{Pb}$ v HNO_3 tak, že thorium ostáva na štarte, aktínium má retenčný faktor cca 0,2 a naopak olovo cca 0,7 a rádium cca 0,9. [3]. Delenie tejto zmesi má význam pri kontrole eluátu ^{223}Ra [30].

Extrakčných vlastností TODGA je možné využiť pre získavanie beznosičového ^{90}Y z jeho zmesi s ^{90}Sr z vyhorelého jadrového paliva. V práci [31] bol Chromosorb – W použitý ako pevný podporný materiál. Bolo pozorované, že takmer žiadne ióny Sr^{2+} neboli separované, pričom hodnoty rozdeľovacieho pomeru Y^{3+} vykazovali rastúci charakter až do koncentrácie 4 M HNO_3 , pričom s ďalším zvýšením koncentrácie HNO_3 hodnoty rozdeľovacieho pomeru klesali.

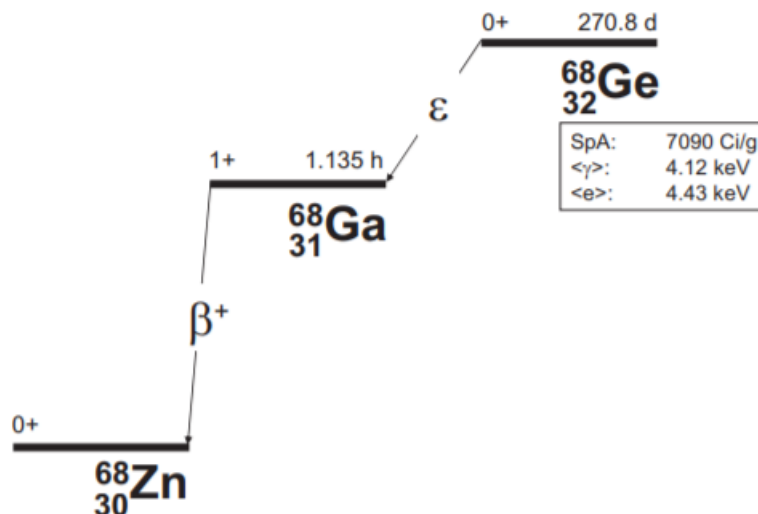
V štúdiu [32] bola TODGA využitá na separáciu ^{90}Y z ^{90}Sr . Boli porovnané viaceré chromatografické systémy, no vysoké hodnoty rozdeľovacieho pomeru boli dosiahnuté pri použití chloroformu, tetrachlórmetánu, 1-decanolu a hexánu ako organickej fázy a 6 M HNO_3 ako vodnej fázy. Dobré výsledky boli taktiež dosiahnuté pri použití systému 6

M HCl s viacerými rozpúšťadlami ako napríklad xylén, n – dodekán, hexán, tetrachlórmetán. Systémy 3 M HNO₃/chloroform a 6 M HCl/xylén boli vyhodnotené ako najlepšie.

1.3 Vybrané medicínálne rádionuklidy

1.3.1 ⁶⁸Ge

Germánium je sivý polokov, radení do skupiny IV. A, s elektrónovou konfiguráciou [Ar] 3d¹⁰ 4s² 4p². Germánium – 68 má spomedzi všetkých rádioizotopov germánia najdlhší poločas rozpadu, ktorý činí 270,93 dní. Rozpadom ⁶⁸Ge elektrónovým záchytom vzniká dcérsky produkt ⁶⁸Ga podľa rozpadovej schémy uvedenej na Obr. č. 8 [33,34]



Obr. č. 8 : Rozpadová schéma ⁶⁸Ge, kde SpA je teoretická maximálna špecifická aktivita, <γ> je priemerná elektromagnetická energia na jeden rozpad, <e> priemerná energia elektrónu na jeden rozpad

Materský rádionuklid ⁶⁸Ge sa väčšinou pripravuje pomocou cyklotrónu a následným oddelením od terčového materiálu. Germánium – 68 môže byť pripravené rôznymi jadrovými reakciami, z ktorých najúčinnějšía je reakcia (p,2n) s prírodným Ga, ktoré nie je obohatené izotopom ⁶⁹Ga. Protóny použité pri tejto reakcii majú energiu od 20 do 30 MeV. Je dosahovaná rádionuklidová čistota vyššia ako 99,9%. [33]

1.3.2 ⁶⁸Ga

Gálium je striebrolesklý kov, radení do III. A skupiny, s elektrónovou konfiguráciou [Ar] 3d¹⁰ 4s² 4p¹. Gálium sa nachádza v stopových množstvách v zemskej kôre vo forme galitu. Najčastejšie sa gálium vyskytuje v oxidačnom stave Ga³⁺ a má iónový polomer 47-62 pm.. [35]

Kvôli vysokej hustote náboja, Ga³⁺ ión je radený medzi silné Lewisovské kyseliny. Z tohto dôvodu prevažne tvorí cheláty s ligandami s koordinačným číslom 6 obsahujúcimi donorové atómy kyslíku a dusíku. Ako voľný atóm je Ga³⁺ stabilný len v silne kyslom prostredí. Pri zvýšení hodnoty pH v rozmedzí 3 – 9,5 tvorí nerozpustný Ga(OH)₃. Po prekročení pH 9,5 sa hydroxid rozpúšťa na ión [Ga(OH)₄]⁻. Pre použitie v nukleárnej medicíne musí byť zlúčenina gália buď termodynamicky stabilná voči hydrolyze pri fyziologickom pH, alebo byť kineticky stabilná v počas prebiehajúcej procedúry. [35]

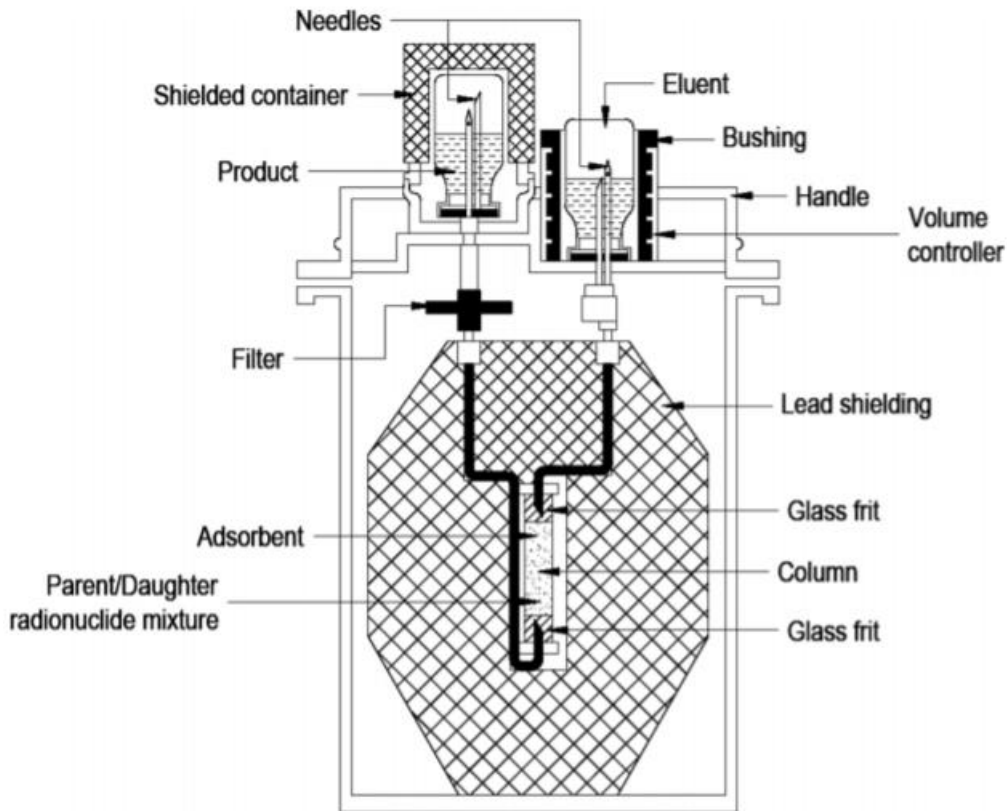
Najvýznamnejšie využitie v nukleárnej medicíne nachádza rádioizotop ⁶⁸Ga, ktorý sa ako pozitronový žiarič využíva v pozitronovej emisnej tomografii (PET). Analóg somatostatínu značený ⁶⁸Ga sa používa ako prípravok SomaKit pri diagnostike neuroendokrinných tumorov. Získava sa najmä z gálievého generátora alebo produkciou pomocou cyklotrónu. [1,36]

Gálium – 68 sa rozpadá β⁺ prechodom a elektrónovým záchyтом na neaktívny ⁶⁸Zn s poločasom rozpadu 67,71 minút. Najvýznamnejšie energie častíc je pre pozitronové žiarenie 836,02 keV (87,72%) a pre elektrónový záchyt 2921,1 keV (8,92%). Pri β⁺ rozpade sa detekuje anihilačné gama žiarenie o energii 511 keV. [36]

1.3.3 Rádionuklidové generátory

Rádionuklidový generátor slúži ako zdroj krátko-žijúcich rádionuklidov vznikajúcich rozpadom dlhodobjšieho materského rádionuklidu. V generátore vzniká postupom času posuvná či trvalá rádioaktívna rovnováha. Dcérsky rádionuklid je chemicky odlišný od materského rádionuklidu a preto je možné ich rozdelenie pomocou vhodnej techniky. Najčastejšie je to elúciou generátora, tj. Vymývanie dcérskeho rádionuklidu z kolóny. Takto získaný dcérsky rádionuklid je možné využiť ako rádiofarmakum. [37]

Schématické zobrazenie rádionuklidového generátora je na Obr. č. 9 [38]



Obr. č. 9 Schématické znázornenie rádionuklidového generátora

Plastová alebo sklenená kolóna býva naplnená sorbentom (napr. iónomenič, oxidy alebo polyméry), na ktorom je adsorbovaný materský rádionuklid. Po ustavení aspoň čiastočnej rádioaktívnej rovnováhy medzi oboma rádionuklidmi je možné dcérsky rádionuklid z kolóny vymyť elučným roztokom. [38]

1.3.4 $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátor

Rádionuklidový generátor $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ je jeden z najdôležitejších zdrojov pre prípravu rádiofarmak pre klinickú pozitronovú emisnú tomografiu. Gáliový generátor je výhodný zdroj pozitron-emitujúceho gália pre inštitúcie, ktoré nemajú prístup k cyklotrónu, ale je v ich záujme vykonávať PET diagnostiku.

Dnešné komerčne dostupné generátory obsahujú ^{68}Ge absorbované na pevný nosič, avšak prvý generátor „a positron cow“ bol založený na kvapalinovej rozdeľovacej chromatografii. [39].

Posledných 50 rokov bola venovaná veľká pozornosť vývoju $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátoras rôznymi pevnými podpornými materiálmi - sorbentmi, ako napríklad TiO_2 [40], [41], SnO_2 , organickými materiálmi [42] alebo polymér modifikovaný nano-zirkóniom [43].

V štúdií [44] boli porovnávané gálievé generátory s sorbentami CeO_2 , SiO_2 , TiO_2 a SnO_2 . Bolo preukázané, že generátory s sorbentom SiO_2 a CeO_2 sú najlepšou voľbou pre získavanie veľmi čistého gália a eluát nie je pre následné použitie potrebné prečisťovať.

1.4 Stanovenie rádionuklidovej čistoty

Rádionuklidová čistota je definovaná ako pomer aktivity daného rádionuklidu a celkovej aktivity prípravku. Vyjadruje sa v percentách, pričom ak prípravok neobsahuje žiaden iný rádionuklid ako ten ktorý nás zaujíma, rádionuklidová čistota prípravku je 100%.

Stanovenie rádionuklidovej čistoty je pri príprave rádiofarmák vitálne. Bežnou metódou stanovenia je použitie gama spektrometrie.

Ďalšia metóda, ktorá by mohla byť použitá pre stanovenie rádionuklidovej čistoty, využíva diglykolamidy, impregnované na chromatografickom papieri, ako komplexačné látky schopné separácie jednotlivých rádionuklidov.

Metóda extrakčnej chromatografie na papieri bola sledovaná v tejto práci, pričom ako komplexačné látky boli použité TODGA a iso-TODGA impregnované na chromatografickom papieri. Po účinnej separácii a identifikácii jednotlivých píkov by takto vzniknutý chromatogram slúžil pre stanovenie rádionuklidovej čistoty. Ak by bola nájdená spoľahlivá metóda separácie, mohla by byť použitá pre stanovenie rádionuklidovej čistoty. Výhodou tejto metódy je jej jednoduchosť, rýchlosť a nízka cena. V tejto práci boli hľadané optimálne podmienky separácie zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$.

2 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

2.1 Pomôcky

2.1.1 Materiály a prístroje

Na impregnáciu TODGA na chromatografický papier bol použitý hexán (Mach Chemikálie, Česká Republika). Kyseliny použité pri príprave mobilnej fáze pri chromatografii boli kyselina chlorovodíková (trace free, VWR, Francúzsko), kyselina dusičná (trace free – PENTA, Česká Republika). Na prípravu mobilnej fáze bola použitá super čistá voda (Millipore, USA). Ako oxidačné činidlo bol použitý peroxid vodíka (30% – PENTA, Česká Republika). Všetky chemikálie boli použité bez ďalšieho čistenia. TODGA a iso-TODGA boli pripravené kolegyňou Ing. Kateřinou Fialovou a poskytnuté pre túto prácu. Postup prípravy je uvedený v práci [45].

Pre všetky chromatografie bol použitý chromatografický papier Whatman č. 3 od GE Healthcare Life Science. Jeho hrúbka je 0,36 mm, plošná hmotnosť je 185 g m⁻². Rýchlosť pohybu mobilnej fáze po tomto papieri je stredne rýchla. [6]

Ako zdroj zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga boli použité dva preparáty od firmy Ecker&Ziegler. Prvý preparát s referenčným dátumom 15.4.2018 s kódom produktu 6068-74MBQ a aktivitou 74 MBq v 5 ml o rádionuklidovej čistote vyššej než 99%, s nosičom 10 µg Ge/ml, bez detekovateľných nečistôt. Druhý preparát s referenčným dátumom 15.5.2019 s kódom 6068-185MBQ a aktivitou 185 MBq v 5 ml o rádionuklidovej čistote vyššej než 99%, s nosičom 10 µg Ge/ml, bez detekovateľných nečistôt.

Ako zdroj ⁶⁸Ga bol použitý rádionuklidový generátor ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga od firmy Ecker&Ziegler (USA), alebo rádionuklidový generátor ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga GalliAd od firmy IRE Elit (Belgicko).

Pre meranie plošnej aktivity bol použitý skener názvom AR-2000 radio-TLC Imaging Scanner od spoločnosti Bioscan.

Pre meranie aktivity eluátu z Gáliového generátorabola použitá ionizačná komora (PTW – Curiementor 2, Nemecko).

2.2 Postup práce

2.2.1 Impregnácia chromatografického papiera

Impregnácia

Boli nastrihané prúžky chromatografického papiera Whatman 3 o veľkosti 20x10 cm. Ďalej bol pripravený 1% roztok TODGA alebo iso-TODGA v hexáne. Do širokej sklenenej nádoby s hlbokým dnom bol naliaty pripravený roztok. Prúžky chromatografického papiera boli namáčané do roztoku po dobu cca 5 sekúnd a následne ponechané v digestori počas noci kde boli vysušené voľne na vzduchu.

2.2.2 Postup získania chromatogramu

Chromatografia zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$

Do 100 ml odmerného valcu bolo pridané približne 5 ml mobilnej fázy. Valec bol utesnený parafilmom, ponechaný aspoň 2 hodiny pre vytvorenie pary mobilnej fázy.

Boli vystrihnuté prúžky chromatografického papiera o veľkosti približne 20 x 2 cm. Ceruzkou bol označený štart vo vzdialenosti 3 cm od spodného okraju papiera.

Na pripravený papier bola nanosená kvapka delenej zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ o objeme 0,5 – 3 μl . Papier bol ponechaný v digestori po dobu približne 3 minút pre vysušenie škvŕny.

Do valca s mobilnou fázou bol vložený vysušený papier s nanosenou škvŕnou tak, aby do objemu mobilnej fázy zasahoval papier len málo. Mobilná fáza nikdy nepresahovala úroveň štartu. Valec bol opäť utesnený parafilmom.

Po dosiahnutí určitej vzdialenosti od štartu (14-15 cm) bol papier odobraný z valcu a ponechaný v digestori kde bol sušený prúdom vzduchu. Takto vzniknutý chromatogram bol vložený do plastových obalov a bola zmeraná plošná aktivita pomocou TLC skenera hneď po vyvinutí chromatogramu.

Plošná aktivita bola na TLC skeneri meraná po dobu 5 minút a vzniknutý graf závislosti počtu impulzov na mieste papiera bol vyhodnotený. Boli označené jednotlivé píky a tieto dáta boli uložené.

Chromatografia zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ s pridaním peroxidu vodíka

Postup získania chromatogramu je takmer zhodný ako v prípade spomenutom vyššie, avšak po nanosení zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ bola na to isté miesto pridaná kvapka koncentrovaného H_2O_2 o objeme 3 μl . Nasledujúci postup je zhodný s predchádzajúcim.

Meranie chromatogramu po dobe potrebnej na rozpad ^{68}Ga

Pre identifikáciu jednotlivých píkov bol daný chromatogram premeraný na druhý deň od jeho získania, kedy bolo všetko pôvodne rozdelené ^{68}Ga rozpadnuté, čiže tento pík ^{68}Ga sa už na chromatograme nenachádzal. Meranie chromatogramu bolo vykonané v rovnakej geometrii po rovnakú dobu ako pri prvom meraní v deň získania.

Chromatografia čistého ^{68}Ga

Pre získanie chromatogramu ^{68}Ga bola pri väčšine prípadov skrátaná dĺžka dráhy mobilnej fázy. Z tohto dôvodu bol použitý menší valec o objeme 50 ml. Na dno valcu bola naliata príslušný mobilná fáza o objeme približne 5 ml. Valec bol utesnený parafilmom, ponechaný aspoň 2 hodiny pre vzniknutie výparov mobilnej fázy.

Boli vystrihnuté prúžky chromatografického papiera o veľkosti približne 10x2 cm. Ceruzkou bol označený štart vo vzdialenosti 2 cm od spodného okraju papiera. Na pripravený papier bola nanosená kvapka ^{68}Ga o objeme 0,5 – 3 μl , získaného eluovaním $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátora. Papier bol ponechaný v digestori po dobu približne 3 minúty pre vysušenie škvŕny.

Do valca s mobilnou fázou bol vložený vysušený papier s nanosenou škvŕnou tak, aby do objemu mobilnej fázy zasahoval papier len málo. Mobilná fáza nikdy nepresahovala úroveň štartu. Valec bol opäť utesnený parafilmom. Po dosiahnutí určitej vzdialenosti od štartu (7 - 8 cm) bol papier odobraný z valcu a ponechaný v digestori kde bol sušený prúdom vzduchu. Takto vzniknutý chromatogram bol vložený do plastových obalov a bola zmeraná plošná aktivita pomocou TLC skenera hneď po vyvinutí chromatogramu. Plošná aktivita bola na TLC skeneri meraná po dobu 5 minút a vzniknutý graf závislosti počtu impulzov na mieste papiera bol vyhodnotený. Boli označené jednotlivé píky a tieto dáta boli uložené.

3 Výsledky a diskusia

3.1 Impregnácia chromatografických papierov

Bolo náhodne vybraných 10 chromatografických papierov. Vybrané papiere boli zmerané pomocou pravítka pre výpočet plochy papiera. Papiere boli následne zvážené pred a po impregnácii stacionárnou fázou TODGA/iso-TODGA. Bola vypočítaná priemerná hodnota výslednej hmotnosti stacionárnej fázy a smerodajná odchýlka.

Na chromatografický papier bolo v priemere nanosené impregnáciou **69,77 ± 0,7 mg TODGA** a **71,43 ± 0,2 mg iso-TODGA**.

Bola vypočítaná hmotnosť naimpregnovanej stacionárnej fázy na 1 cm² papiera. Bolo vypočítané látkové množstvo n TODGA na papieri pomocou vzťahu (3)

$$n = \frac{m}{M_r} = \frac{70,60 \cdot 10^{-3}}{580,98} = 121,51 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \quad (3)$$

Bol vypočítaný počet molekúl N TODGA na papieri pomocou vzťahu (4)

$$N = n \cdot N_A = 121,51 \cdot 10^{-6} \cdot 6,022 \cdot 10^{23} = 7,31 \cdot 10^{19} \quad (4)$$

Bol vypočítaný počet molekúl N_T TODGA na 1 cm² papiera pomocou vzťahu (5)

$$N_T = \frac{7,31 \cdot 10^{19}}{100,20} = 7,30 \cdot 10^{17} \text{ cm}^{-2} \quad (5)$$

Priemerne bolo na chromatografickom papieri naimpregnované **7,23 * 10¹⁷ cm⁻² molekúl TODGA**.

Pomocou vzťahov (3), (4), (5) bolo vypočítané látkové množstvo, počet molekúl na chromatografickom papieri a následne počet molekúl N_I iso-TODGA na 1 cm² papiera

$$N_I = \frac{7,38 \cdot 10^{19}}{99,80} = 7,39 \cdot 10^{17}$$

Priemerne bolo na chromatografickom papieri naimpregnované $7,40 * 10^{17} \text{ cm}^{-2}$ molekúl iso-TODGA.

Výpočet pomeru počtu molekúl TODGA na počet atómov ^{68}Ge

Bol vypočítaný počet atómov ^{68}Ge v zdroji (zdroj zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ - Ecker&Ziegler – nominálna aktivita 185 MBq, 5 ml) k dňu chromatografie – 1.7. 2020 (413 dní). Ako prvé bola vypočítaná aktivita k dňu chromatografie pomocou vzťahu (6)

$$A = A_0 * e^{-\lambda t} = 185 * 10^6 * 2^{-\frac{413}{270,93}} = 64,3113 \text{ MBq} \quad (6)$$

Následne bola aktivita vzorku prepočítaná na celkový počet atómov ^{68}Ge pomocou vzťahu (7)

$$N_{vz} = \frac{A}{\lambda} = \frac{A}{\frac{\ln 2}{T}} = \frac{643113}{\frac{\ln 2}{270,93 * 24 * 3600}} = 2,1718 * 10^{15} \quad (7)$$

Tento počet atómov ^{68}Ge bol prepočítaný na počet atómov N_k v objeme kvapky nanášanej na chromatografický papier (3 μl) pomocou vzťahu (8)

$$N_k = 2,1718 * 10^{15} * \frac{3 * 10^{-6}}{5 * 10^{-3}} = 1,3031 * 10^{12} \quad (8)$$

Kvapka nanášaná na chromatografický papier bola veľkosti približne $0,125 \text{ cm}^2$.

Následne bol prepočítaný počet atómov ^{68}Ge - N_1 na 1 cm^2 kvapky pomocou vzťahu (9)

$$N_1 = 1,3031 * 10^{12} * 0,125 = 23,8435 * 10^9 \quad (9)$$

Nakoniec bol vypočítaný pomer počtu molekúl TODGA a počtu atómov ^{68}Ge pomocou vzťahu (10)

$$\frac{\text{počet molekúl TODGA}}{\text{počet atómov } ^{68}\text{Ge}} = \frac{7,23 * 10^{17}}{23,8435 * 10^9} = 3,03 * 10^7 \quad (10)$$

Výpočet pomeru počtu molekúl iso-TODGA na počet atómov ^{68}Ge

$$\frac{\text{počet molekúl iso-TODGA}}{\text{počet atomov } ^{68}\text{Ge}} = \frac{7,40 \cdot 10^{17}}{23,8435 \cdot 10^9} = 3,10 \cdot 10^7$$

3.2 Výsledky chromatografie

Boli vykonané rôzne separačné experimenty zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ pomocou stacionárnej fázy TODGA/iso-TODGA s použitím kyseliny chlorovodíkovej alebo kyseliny dusičnej o rôznej koncentrácii (0,1 M – 6 M) ako mobilnej fázy. Bolo zistené, že najlepšie výsledky separácie zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ boli dosiahnuté pri použití 6M HNO_3 . Pri použití HCl neboli dosiahnuté tak dobré výsledky ako pri použití HNO_3 , čo mohlo byť spôsobené vznikom GeCl_4 , prípadne komplexu $[\text{GeCl}_4]^-$.

Po získaní chromatogramu zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ je možné identifikovať pík ^{68}Ga tak, že sa zmeria plošná aktivita hneď po získaní chromatogramu a taktiež po uplynutí doby ekvivalentnej desiatim poločasom rozpadu ^{68}Ga tj. približne 12 hodín, kedy sa všetko ^{68}Ga z pôvodnej zmesi rozpadlo. Druhé meranie bolo vždy vykonané na druhý deň od dňa separácie. Porovnaním týchto dvoch chromatogramov môžeme identifikovať pík pôvodného ^{68}Ga . Pre zistenie správania sa ^{68}Ga bola vykonaná chromatografia čistého ^{68}Ga získaného eluovaním $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generátora. Bolo potvrdené, že pri použití 6M HNO_3 ako mobilnej fázy sa ^{68}Ga pohybuje v smere toku mobilnej fázy, avšak pri použití 6M HCl sa ^{68}Ga komplexuje s TODGA/ iso-TODGA a tak ^{68}Ga ostáva na štarte.

Detekcia ^{68}Ge bola vykonaná podobným spôsobom. Ihneď po separácii bol pík ^{68}Ge malý, ale na ďalší deň zostával na tom istom mieste, prípadne sa zväčšoval, pretože sa na danom mieste ustalovala rovnováha $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$.

Možný problém pri snahe separovať ^{68}Ge a ^{68}Ga mohol byť spôsobený vznikom nerozpustného hydroxokomplexu $\text{Ge}(\text{OH})_4$. Pre lepšie rozdelenie zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ bol použitý koncentrovaný peroxid vodíka. Toto oxidačné činidlo zabraňovalo vzniku zrazeniny $\text{Ge}(\text{OH})_4$.

V práci [46] boli stanovené rozdeľovacie pomery ^{68}Ge a ^{68}Ga použitím TODGA pri rôznej koncentrácii HNO_3 a HCl . Bolo ukázané, že v 6M HNO_3 rozdeľovací koeficient štvormocného ^{68}Ge je mnohokrát vyšší ako než u ^{68}Ga . Naproti tomu, v 6M HCl je to naopak. Z týchto výsledkov vyplýva, že pri použití HNO_3 ostáva ^{68}Ge na štarte a ^{68}Ga sa pohybuje k čelu s mobilnou fázou, pričom pri použití HCl je to opačne.

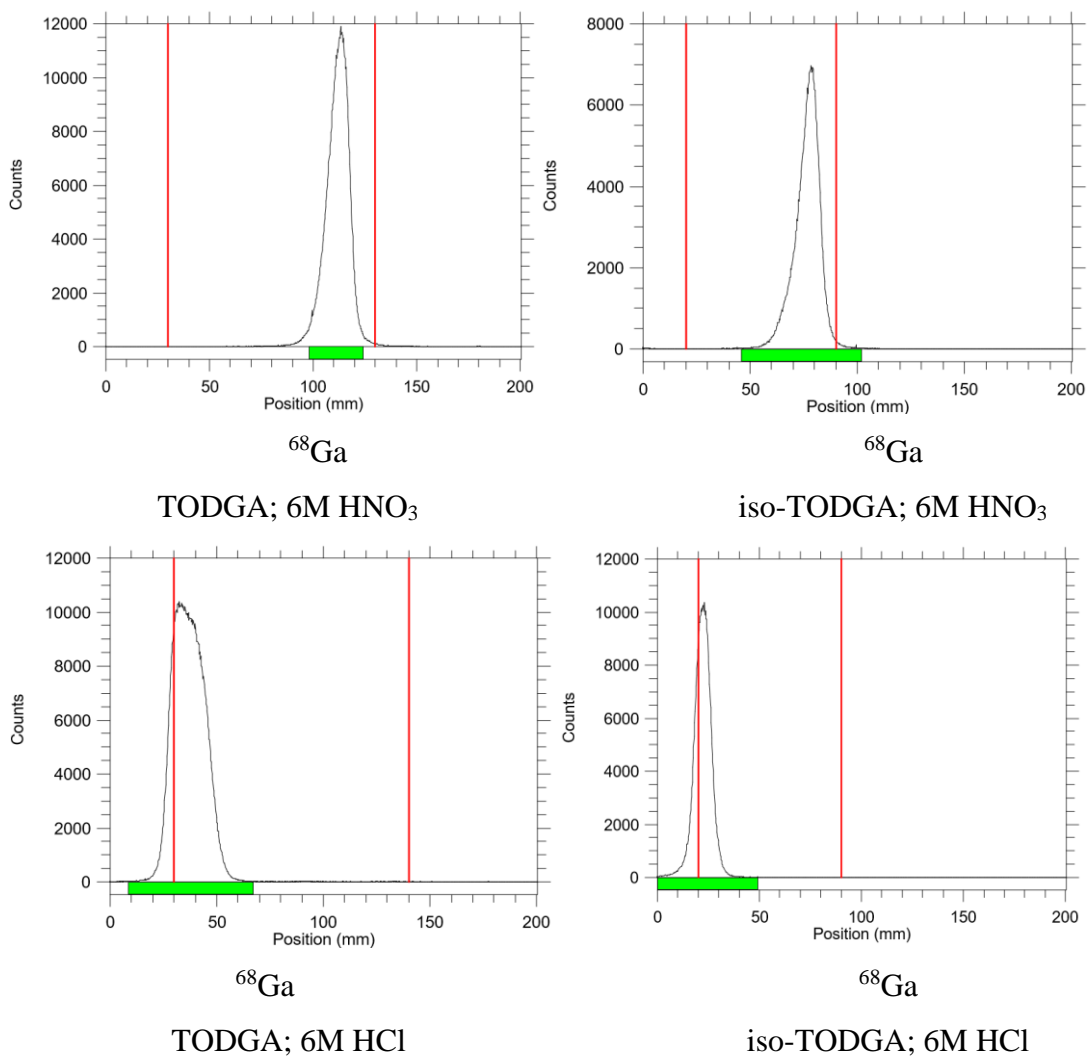
Bolo potvrdené že pri použití TODGA aj iso-TODGA s 6M HNO₃ ako mobilnou fázou, štvormocné ⁶⁸Ge vytvára so stacionárnou fázou komplex a teda ostáva na štarte, pričom trojmocné ⁶⁸Ga komplex nevytvára a pohybuje sa v smere toku mobilnej fázy. Pri takýchto podmienkach – TODGA alebo iso-TODGA /6M HNO₃ + H₂O₂ – je možné zmes ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga rozdeliť. Tieto výsledky sa zhodujú s výsledkami v práci. [46]

Pri použití 6M HCl ako mobilnej fázy bolo potvrdené, že ⁶⁸Ga vytvára komplex so stacionárnou fázou či už TODGA alebo iso-TODGA, preto ostáva pri vyvíjaní chromatogramu na štarte. Štvormocné ⁶⁸Ge by sa podľa [46] nemalo na stacionárnu fázu vôbec viazať, no bol pozorovaný opak. Časť atómov ⁶⁸Ge bola zadržovaná na papieri, kvôli čomu nebolo dosiahnuté úplné rozdelenie zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga, píky sa prekrývali a dochádzalo k rozmývaniu píku ⁶⁸Ge. Pri takýchto podmienkach je veľmi náročné určiť retenčný faktor ⁶⁸Ge, pretože je vzniknutá škvrna veľmi veľká, pík je veľmi široký. Pri použití oxidačného činidla - H₂O₂ bol pozorovaný mierny posun vzniknutého širokého píku ⁶⁸Ge bližšie ku štartu. Takto vzniknutý pík je viac symetrický a určenie retenčného faktoru je jednoduchšie a spoľahlivejšie. Pri takýchto podmienkach - TODGA alebo iso-TODGA /6M HCl + H₂O₂ nebola dosiahnutá dostatočná separácia zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga.

Spomedzi všetkých výsledkov chromatografie zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga sú uvedené tie, ktoré potvrdzujú potenciál TODGA alebo iso-TODGA ako vhodných komplexačných činidiel pri separácii zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga. Ďalej sú pre porovnanie uvedené grafy chromatogramov pri ktorých k separácii nedošlo.

3.2.1 Čisté ⁶⁸Ga

Na Obr. č. 10 sú uvedené grafy získané pomocou TLC skenera po chromatografii čistého ⁶⁸Ga na TODGA alebo iso-TODGA s použitím 6M HNO₃ alebo 6M HCl.



Obr. č. 10 Grafy získané pomocou TLC skenera čistého ^{68}Ga použitím TODGA/iso-TODGA s 6M HNO_3 alebo 6M HCl

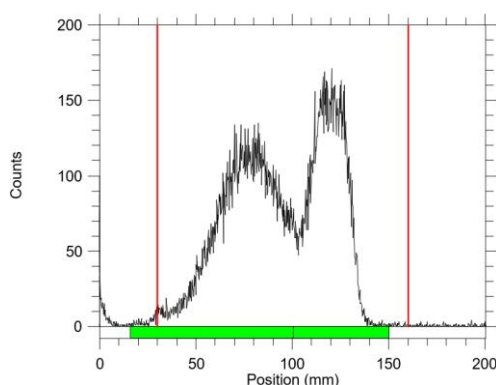
V Tab. č. 1 sú uvedené retenčné faktory ^{68}Ga pri použití TODGA/iso-TODGA s 6M HNO_3 alebo 6M HCl

	Retenčný faktor ^{68}Ga	
	TODGA	iso-TODGA
6M HNO_3	0,850	0,805
6M HCl	0,054	0,030

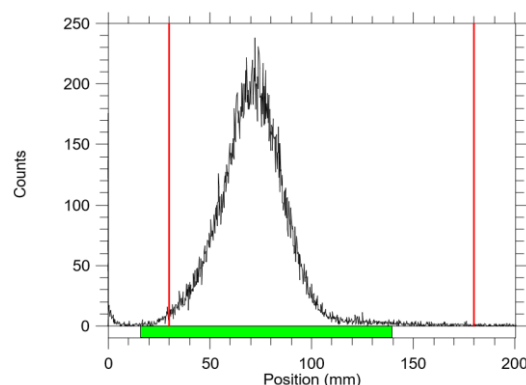
Tab. č. 1 Retenčné faktory čistého ^{68}Ga pri použití TODGA/iso-TODGA s 6M HNO_3 alebo 6M HCl

3.2.2 Separácie $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na TODGA s použitím HNO_3

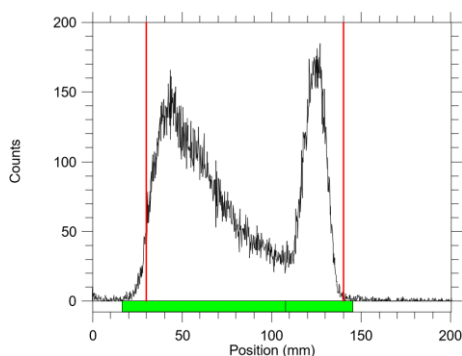
Na Obr. č. 11 sú uvedené získané chromatogramy pomocou chromatografie na TODGA, s použitím HNO_3 . Naľavo sú uvedené chromatogramy získané v deň separácie a v pravej časti chromatogramy získané na druhý deň. V pravej časti sú uvedené chromatogramy získané bez použitia H_2O_2 a v druhej s prídavkom 3 μl koncentrovaného H_2O_2 .



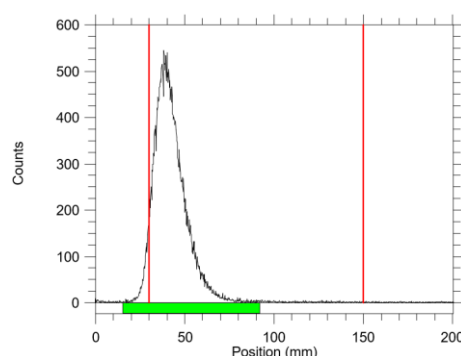
Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ hneď po separácii
TODGA; 6M HNO_3



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na druhý deň
TODGA; 6M HNO_3



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ hneď po separácii
TODGA; 6M $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na druhý deň
TODGA; 6M $\text{HNO}_3 + \text{H}_2\text{O}_2$

Obr. č. 11 Grafy získané pomocou TLC skenera s použitím TODGA, 6M HNO_3 ;
porovnanie chromatogramov bez prídavku H_2O_2 a s prídavkom H_2O_2

Z grafov uvedených na Obr. č. 11 je vidieť, že pri použití 6M HNO_3 sa ^{68}Ga pohybuje v smere mobilnej fázy a teda putuje s čelom. Pri separácii zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ bez prídavku

H₂O₂ sa jednotlivé píky prekrývajú. Po pridaní H₂O₂ sa vytvára komplex ⁶⁸Ge s TODGA a pík ⁶⁸Ge má teda nižší retenčný faktor a je užší. Takto použitá kombinácia stacionárnej a mobilnej fázy je účinná pre separáciu zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na chromatografickom papieri.

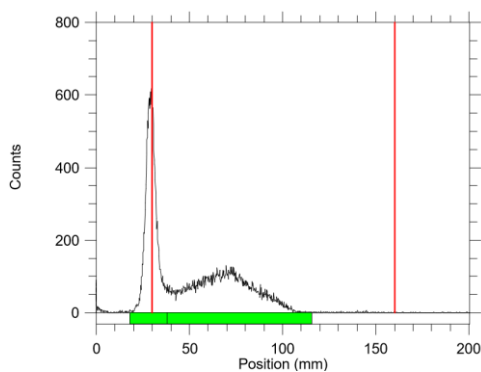
V Tab. č. 2 sú porovnané retenčné faktory pre píky ⁶⁸Ge a ⁶⁸Ga pri použití TODGA a 6M HNO₃ s/bez prídavku H₂O₂. Označenie ✕ znamená bez prídavku H₂O₂, označenie ✓ znamená s prídavkom H₂O₂.

	Prídavok H ₂ O ₂	R _f (⁶⁸ Ge)	R _f (⁶⁸ Ga)
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✕	0,452	0,849
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✓	0,100	0,850

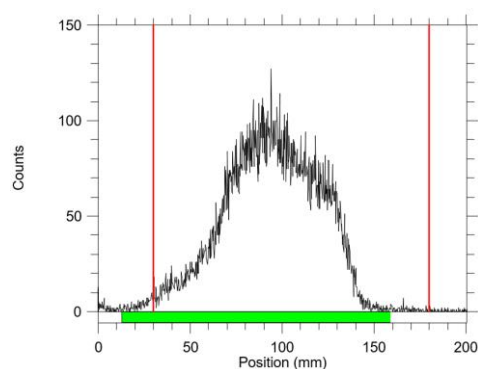
Tab. č. 2 Retenčné faktory ⁶⁸Ge a ⁶⁸Ga získané pri separácii ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na TODGA s 6M HNO₃ porovnané pre chromatografie s/bez prídavku H₂O₂.

3.2.3 Separácie ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na TODGA s použitím HCl

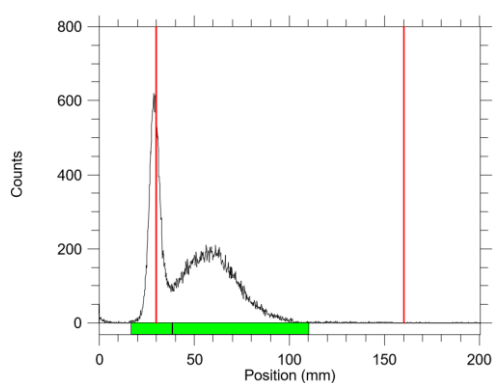
Na Obr. č. 12 sú uvedené získané chromatogramy pomocou chromatografie na TODGA, s použitím HCl. Naľavo sú uvedené chromatogramy získané v deň separácie a v pravej na druhý deň. V prvej časti sú uvedené chromatogramy získané bez použitia H₂O₂ a v druhej s prídavkom 3 μl koncentrovaného H₂O₂.



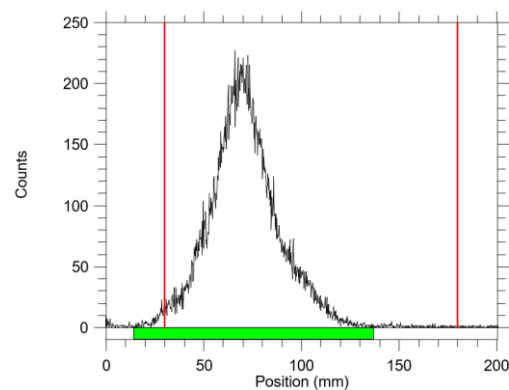
Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ hneď po separácii
TODGA; 6M HCl



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na druhý deň
TODGA; 6M HCl



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ hneď po separácii
TODGA; 6M HCl + H_2O_2



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na druhý deň
TODGA; 6M HCl + H_2O

Obr. č. 12 Grafy získané pomocou TLC skenera s použitím TODGA,
6M HCl; porovnanie chromatogramov bez prídavku H_2O_2 a s prídavkom H_2O_2

Z grafov uvedených na Obr. č. 12 je vidieť, že pri použití 6M HCl ^{68}Ga vytvára komplex s TODGA a ostáva na štarte. Ďalej je pozorovaný široký pík ^{68}Ge ktorý sa čiastočne prekrýva s píkom ^{68}Ga . Po pridaní H_2O_2 nebol pozorovaný výrazný posun píku ^{68}Ge , no pík bol viac symetrický. Takto použitá kombinácia stacionárnej a mobilnej fázy nebola účinná pre separáciu zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na chromatografickom papieri.

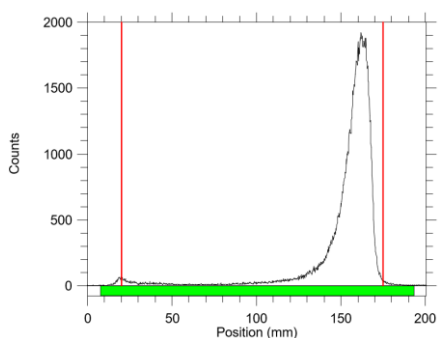
V Tab. č. 3 sú porovnané retenčné faktory pre píky ^{68}Ge a ^{68}Ga pri použití TODGA a 6M HCl s/bez prídavku H_2O_2 . Označenie **X**/**✓** znamená to isté ako v predchádzajúcej tabuľke.

	Prídavok H ₂ O ₂	R _f (⁶⁸ Ge)	R _f (⁶⁸ Ga)
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✘	0,568	0,052
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✓	0,427	0,055

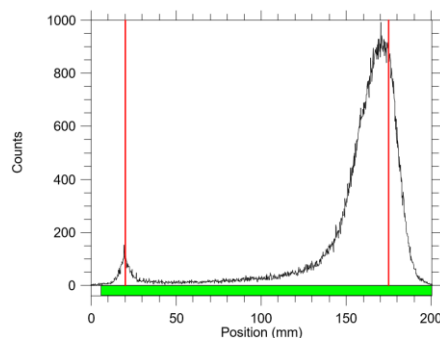
Tab. č. 3 Retenčné faktory ⁶⁸Ge a ⁶⁸Ga získané pri separácii ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na TODGA s 6M HCl porovnané pre chromatografie s/bez prídavku H₂O₂.

3.2.4 Separácie ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na iso-TODGA s použitím HNO₃

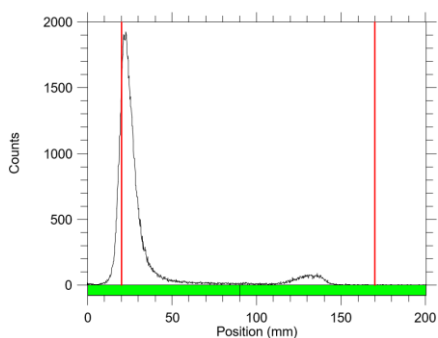
Na Obr. č. 13 sú uvedené získané chromatogramy pomocou chromatografie na iso-TODGA, s použitím HNO₃. Naľavo sú uvedené chromatogramy získané v deň separácie a v pravej časti chromatogramy získané na druhý deň. V prvej časti sú uvedené chromatogramy získané bez použitia H₂O₂ a v druhej s prídavkom 3 μl konc. H₂O₂.



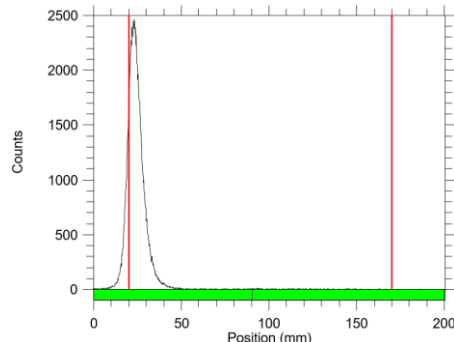
Zmes ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga hneď po separácii
iso-TODGA; 6M HNO₃



Zmes ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na druhý deň
iso-TODGA; 6M HNO₃



Zmes ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga hneď po separácii
iso-TODGA; 6M HNO₃ + H₂O₂



Zmes ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na druhý deň
iso-TODGA; 6M HNO₃ + H₂O

Obr. č. 13 Grafy získané pomocou TLC skenera s použitím iso-TODGA, 6M HNO₃; porovnanie chromatogramov bez prídavku H₂O₂ a s prídavkom H₂O₂

Z grafov uvedených na obr. č. 13 je vidieť, že pri použití 6M HNO₃ sa ⁶⁸Ga pohybuje v smere toku mobilnej fázy a teda putuje s čelom. Pri separácii zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga bez prídavku H₂O₂ sa jednotlivé píky prekrývajú, pričom ⁶⁸Ge sa nepatrne komplexuje s iso-TODGA po celej dráhe. Pri chromatografii s prídavkom H₂O₂ má pík ⁶⁸Ge omnoho nižší retenčný faktor než u chromatografie bez použitia prídavku H₂O₂, okrem toho retenčný faktor píku ⁶⁸Ga sa znížil. Takto použitá kombinácia stacionárnej a mobilnej fázy je účinná pre separáciu zmesi ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na chromatografickom papieri.

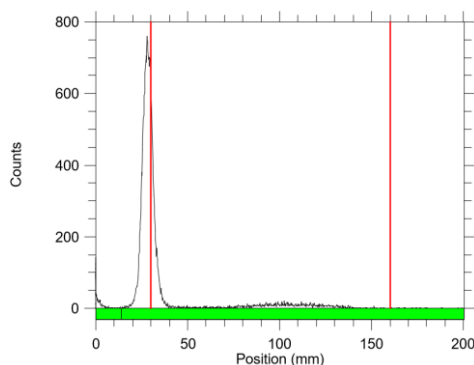
V Tab. č. 4 sú porovnané retenčné faktory pre píky ⁶⁸Ge a ⁶⁸Ga pri použití iso-TODGA a 6M HNO₃ s/bez prídavku H₂O₂. Označenie ✘/✔ znamená to isté ako v predchádzajúcej tabuľke.

	Prídavok H ₂ O ₂	R _f (⁶⁸ Ge)	R _f (⁶⁸ Ga)
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✘	0,828	0,828
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✔	0,040	0,765

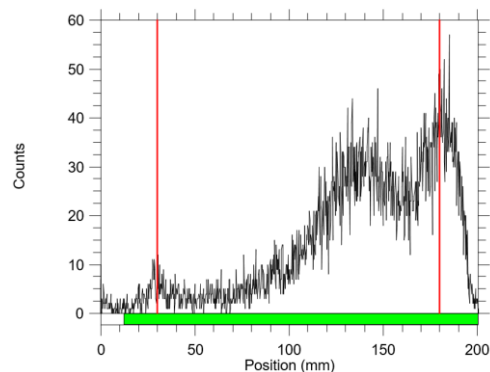
Tab. č. 4 Retenčné faktory ⁶⁸Ge a ⁶⁸Ga získané pri separácii ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na iso-TODGA s 6M HNO₃ porovnané pre chromatografie s/bez prídavku H₂O₂.

3.2.5 Separácie ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na iso-TODGA s použitím HCl

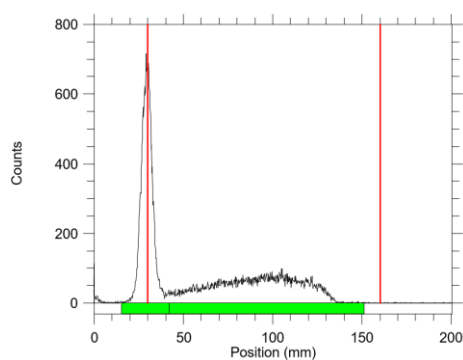
Na Obr. č. 14 sú uvedené získané chromatogramy pomocou chromatografie na iso-TODGA, s použitím HCl. Naľavo sú uvedené chromatogramy získané v deň separácie a v pravej časti chromatogramy získané na druhý deň. V prvej časti sú uvedené chromatogramy získané bez použitia H₂O₂ a v druhej s prídavkom 3 µl koncentrovaného H₂O₂.



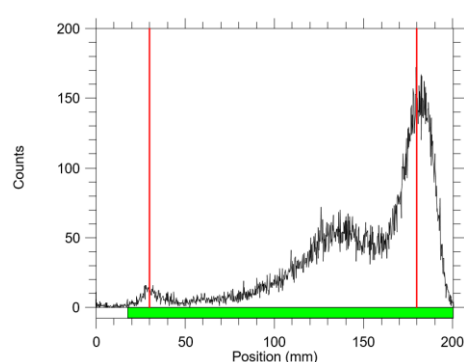
Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ hneď po separácii
iso-TODGA; 6M HCl



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na druhý deň
iso-TODGA; 6M HCl



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ hneď po separácii
iso-TODGA; 6M HCl + H₂O₂



Zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na druhý deň
iso-TODGA; 6M HCl + H₂O₂

Obr. č. 14 Grafy získané pomocou TLC skenera s použitím iso-TODGA,
6M HCl; porovnanie chromatogramov bez prídavku H₂O₂ a s prídavkom H₂O₂

Z grafov uvedených na obr. č. 14 je vidieť, že pri použití 6M HCl sa ^{68}Ga viaže do komplexu s iso-TODGA a ostáva na štarte. Ďalej je vidieť, že ^{68}Ge sa čiastočne zadržiava na papieri, kvôli čomu vzniká veľmi široký pík. Po pridaní H₂O₂ nebol pozorovaný výrazný posun píku ^{68}Ge , pričom väčšina atómov ^{68}Ge sa na stacionárnu fázu neviaže a tak putuje v smere toku mobilnej fázy. Takto použitá kombinácia stacionárnej a mobilnej fázy nebola dostatočne účinná pre separáciu zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na chromatografickom papieri.

V Tab. č. 5 sú porovnané retenčné faktory pre píky ^{68}Ge a ^{68}Ga pri použití iso-TODGA a 6M HCl s/bez prídavku H₂O₂. Označenie ✘/✔ znamená to isté ako v predchádzajúcej tabuľke.

	Prídavok H ₂ O ₂	R_f (⁶⁸ Ge)	R_f (⁶⁸ Ga)
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✘	0,835	0,057
⁶⁸ Ge/ ⁶⁸ Ga	✓	0,842	0,053

Tab. č. 5 Retenčné faktory ⁶⁸Ge a ⁶⁸Ga získané pri separácii ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga na iso-TODGA s 6M HCl porovnané pre chromatografie s/bez prídavku H₂O₂.

3.3 Zhrnutie výsledkov separácie

Bola vykonaná chromatografia čistého ^{68}Ga s použitím TODGA/ iso-TODGA a 6M HNO_3 a 6M HCl . Pri použití 6M HNO_3 sa ^{68}Ga na impregnovanom papieri nezadržiava a teda putuje v smere toku mobilnej fázy pri použití TODGA aj iso-TODGA. Pri použití 6M HCl sa ^{68}Ga viaže do komplexu s stacionárnou fázou či už TODGA alebo iso-TODGA a preto ostáva na štarte.

Boli vykonané separácie zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ s rôznymi koncentraciami mobilnej fázy kyseliny dusičnej a chlorovodíkovej. Bolo ukázané, že použitím stacionárnej fázy TODGA aj iso-TODGA s 6M HNO_3 ako mobilnou fázou je možné rozdeliť zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$, pričom sa zdá byť dôležité aby bolo ^{68}Ge v oxidačnom čísle IV a aby nevznikli nerozpustné hydroxokomplexy. Pre docielenie takýchto podmienok bol pridaný koncentrovaný H_2O_2 ako oxidačné činidlo priamo na kvapku zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na papieri. Takto použitá kombinácia stacionárnej a mobilnej fázy delí zmes $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ tak, že ^{68}Ge ostáva na štarte a ^{68}Ga sa pohybuje v smere toku mobilnej fázy. Táto metóda je vhodná pre analýzu rádionuklidovej čistoty.

Použitím stacionárnej fázy TODGA aj iso-TODGA s 6M HCl ako mobilnou fázou nebola dosiahnutá úplná separácia zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$. Pri takýchto podmienkach rádionuklid ^{68}Ga ostával na štarte a ^{68}Ge bolo čiastočne retardované – zadržované na stacionárnej fázy, pritom ako sa pohybovalo v smere toku mobilnej fázy. V dôsledku čoho vznikol veľmi široký pík ^{68}Ge a účinnosť separácie nebola dostatočná. Pri takejto kombinácii SF a MF nedochádzalo k úplnej separácii a preto táto metóda nie je vhodná pre separáciu zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$.

4 Záver

1. Bola vykonaná literárna rešerš metódy extrakčnej chromatografie na papieri, diglykolamidov menovite TODGA a iso-TODGA, rádionuklidov ^{68}Ge a ^{68}Ga .
2. Medicinálny rádionuklid ^{68}Ga , ktorý sa používa PET, prítomný v zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ bol vybraný k separácii na TODGA/iso-TODGA.
3. Chromatografické papiere Whatman 3 boli impregnované stacionárnou fázou TODGA/iso-TODGA. Na chromatografický papier bolo v priemere nanesené impregnáciou $69,77 \pm 0,7$ mg TODGA a $71,43 \pm 0,2$ mg iso-TODGA. Ako mobilné fázy boli použité roztoky kyselín HNO_3 a HCl .
4. Boli vykonané a vyhodnotené separačné experimenty zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ na pripravenom impregnovanom papieri. Pre potvrdenie predpokladaného chovania ^{68}Ga boli vykonané experimenty s čistým ^{68}Ga , získaného eluovaním gáliového generátora. Získané chromatogramy boli vyhodnotené pomocou TLC skenera.
5. Problém, ktorý mohol vzniknúť pri separácii zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ mohol byť spôsobený vznikom nerozpustného $\text{Ge}(\text{OH})_4$. Z toho dôvodu bola navrhnutá modifikácia metódy separácie použitím oxidačného činidla H_2O_2 .
6. Systém vyhodnotený ako účinný pre separáciu zmesi $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ bol: stacionárna fáza TODGA/iso-TODGA s použitím 6M HNO_3 ako mobilnej fázy s prídavkom H_2O_2 ako oxidačného činidla.
7. Navrhujem aby metóda separácie spomenutá v bode 6 bola hlbšie skúmaná, pretože je potencionálne spoľahlivá metóda pre jednoduché, rýchle a finančne nenáročné stanovenie rádionuklidovej čistoty rádionuklidu ^{68}Ga používaného v PET.
8. V práci do budúca navrhujem, aby boli vykonané separačné experimenty s ďalšími rádionuklidmi, ako napríklad zmes $^{90}\text{Sr}/^{90}\text{Y}$ alebo $^{227}\text{Ac}/^{227}\text{Th}/^{223}\text{Ra}/^{211}\text{Pb}$.

5 Literatúra

- [1] SAM NORDIC SomaKit TOC® [online]. 2020 [cit. 30.7.2020]. Dostupné z: <https://www.samnordic.se/wp-content/uploads/2018/05/SOMAKIT-Monograph.pdf>
- [2] ZHERNOSEKOV, K., FILOSOFOV, D., BAUM, R. *Processing of Generator-Produced ^{68}Ga for Medical Application*. J. Nucl Med. 2007. 48: s. 1741-1748.
- [3] ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE, FAKULTA JADERNÁ A FYZIKÁLNĚ INŽENÝRSKÁ, KATEDRA JADERNÉ CHEMIE. *Chromatografický papír a sada pro chromatografickou separaci směsi radionuklidu*. Pôvodcovia: KOZEMPEL, J., VLK, M., MIČOLOVÁ, P., BAJZÍKOVÁ, A. Česká republika. Užitný vzor: CZ 27 591 U1. 11.12.2014.
- [4] HORWITZ, E., MCALISTER, D., BOND, A. *Novel Extraction of Chromatographic Resins Based on Tetraalkyldiglycolamides: Characterization and Potential Applications*. Solv. Extr. Ion Exch, 2005. 23:3. s. 319-344.
- [5] PANDEY, U., DHAMI, P., JAGESIA, P., VENKATESH, M., PILLAI, M. R. A. *Extraction Paper Chromatography Technique for the Radionuclidic Purity Evaluation of ^{90}Y for Clinical Use*. Anal. Chem. 2008. 80. s. 801-807.
- [6] STARÝ, J., MARHOL, M., KYRŠ, M. *Separáčnı metody v radiochemii*. 1. vyd. Praha: Academia, 1975. s. 399.
- [7] BRAUN, T., GHERSIN, G. *Extraction chromatography*. Budapešť: Akadémiai Kiadó, 1975. Journal of chromatography library. ISBN 963-05-0220-8.
- [8] HEFTMANN, E. *Chromatography: fundamentals and applications of chromatography and related differential migration methods*. 6th ed. Amsterdam: Elsevier. 2004. ISBN 0-444-51107-5.

- [9] HAIS, I., MACEK, I. *Papírová chromatografie: Ivo M. Hais, Karel Macek*. 2. vyd. Praha: Československá akademie věd. 1959. Studie a prameny.
- [10] ECKERT&ZIEGLER AR – 2000 TLC Scanner [online]. 2020 [cit. 30.7.2020]. Dostupné z: <https://radiopharma.com/product/ar-2000/>
- [11] WHITTAKER, D., GEIST, A., MODOLO, G., TAYLOR, R. *Applications of Diglycolamide Based Solvent Extraction Processes in Spent Nuclear Fuel Reprocessing, Part 1: TODGA*. Solvent Extraction and Ion Exchange. 2018. 36(3): s. 1-34.
- [12] ANSARI, S., PATHAK, P., MOHAPATRA, P. *Chemistry of Diglycolamides: Promising Extractants for Actinide Partitioning* Chem. Rev. 2012. 112. s. 1751–1772.
- [13] STEPHAN, H., GLOE, K., BEGER J. *Liquid-liquid extraction of strontium with amido podands*. Solvent Extraction and Ion Exchange. 1991. 9:3. s. 435-458.
- [14] SASAKI, Y., CHOPIN, G. *Solvent Extraction of Eu, Th, U, Np and Am with N, N'-Dimethyl-N, N'-dihexyl-3-oxapentanediamide and Its Analogous Compounds*. Analytical sciences. 1996. vol. 12.
- [15] NARITA, H., YAITA, T., TAMURA K., TACHIMORI, S. *Solvent Extraction of Trivalent Lanthanoid Ions with N,N',-Dimethyl- N,N',-Diphenyl-3-Oxapentanediamide*; Radiochim. 1998. Acta 81, s. 223-226.
- [16] SASAKI, Y., SUGO, Y., SUZUKI, S. *The novel extractants, diglycolamides, for the extraction of lanthanides and actinides in HNO₃-n-dodecane system*; Solvent Extraction and Ion Exchange. 2001. 19:1. s. 91-103.
- [17] SUGO, Y., SASAKI, Y., TACHIMORI, S. *Studies on hydrolysis and radiolysis of N,N,N,N-tetraoctyl-3-oxapentane-1,5-diamide*. 2002. Radiochim. Acta 90. s. 161–165.

- [18] MODOLO, G., ASP, H., SCHREINEMACHERS, CH. *Development of a TODGA based Process for Partitioning of Actinides from a PUREX Raffinate Part I: Batch Extraction Optimization Studies and Stability Tests*. 2007. *Solvent Extraction and Ion Exchange*. 25:6. s. 703-721.
- [19] SUGO, Y., TAGUCHI, M., SASAKI, Y. *Radiolysis study of actinide complexing agent by irradiation with helium ion beam*. *Radiation Physics and Chemistry* 78. 2009. s. 1140 – 1144.
- [20] GALÁN, H., NUNEZ, A., ESPARTETO A. *Radiolytic Stability of TODGA: Characterization of Degraded Samples under Different Experimental Conditions*. 2012. *Procedia Chemistry* 7 . 2012. s. 195 – 201.
- [21] ZHU, Z., SASAKI, Y., SUZUKI, H. *Cumulative study on solvent extraction of elements by N,N,N',N'-tetraoktyldiglycolamide (TODGA) from nitric acid into n—dodecane*. *Analitica Chimica Acta* 527. 2004. s. 163 – 168.
- [22] ANSARI, S., PATHAK, P., HUSIAN, M. *Extraction of actinides using N,N,N',N'-tetraoctyl diglycolamide (TODGA): a thermodynamic study*. 2006. *Radiochim. Acta* 94. s. 307–312.
- [23] MOWAFY, E., ALY, H. *Synthesis of some N,N,N',N'-Tetraalkyl-3-Oxa-Pentane-1,5-Diamide and their Applications in Solvent Extraction*, 2007; *Solvent Extraction and Ion Exchange*. 25:2. s. 205-224.
- [24] GUJAR, R., ANSARI, S., PRABHU, D.,: *Actinide Partitioning with a Modified TODGA Solvent: Counter-Current Extraction Studies with Simulated High Level Waste*. *Solvent Extraction and Ion Exchange*. 2012. 30:2. 156-170.
- [25] HUSAIN, M., ANSARI, S., MOHAPATRA, P. *Extraction chromatography of lanthanides using N,N,N',N'-tetraoctyl diglycolamide (TODGA) as the stationary phase*. 2008. *Desalination*. 229 s. 294–30.

- [26] HOSHIA, H., WEIA, Y., KUMAGAIA, M., ASAKURAB, T. *Group separation of trivalent minor actinides and lanthanides by TODGA extraction chromatography for radioactive waste management*. 2004. *Journal of Alloys and Compounds* 374. s. 451–455.
- [27] SHIMOJO, K., KURAHASHI, K., NAGANAWA, H. *Extraction behavior of lanthanides using a diglycolamide derivative TODGA in ionic liquids*. 2008. *Dalton Transactions*.
- [28] SASAKI, Y., ZHU, Z., SUGO, Y., KIMURA, T. *Extraction of Various Metal Ions from Nitric Acid to n-dodecanen by Diglycolamide (DGA) Compounds*, 2007; *Journal of Nuclear Science and Technology*, 44:3, s. 405-409.
- [29] RADCHENKOA, V., MASTRENA, B., MEYERA, C. *Radiometric evaluation of diglycolamide resins for the chromatographic separation of actinium from fission product lanthanides*. 2017. *Talanta*. 175. s. 318–324.
- [30] BAJZÍKOVÁ, A., KOZEMPEL, J., VLK, M., KUKLEVA, E., MIČOLOVÁ, P. *Kontrola kvality eluátu ^{223}Ra* . 2016. 5(2). s. 22-26. ISSN 1805-1146.
- [31] DUTTA, S., MOHAPATRA, P., RAUTB, D., MANCHANDAB, V. *Chromatographic separation of carrier free ^{90}Y from ^{90}Sr using a diglycolamide based resin for possible pharmaceutical applications*. 2011. *Journal of Chromatography A*. 1218. s. 6483 – 6488.
- [32] DUTTA, S., MOHAPATRA, K. *Studies on the separation of ^{90}Y from ^{90}Sr by solvent extraction and supported liquid membrane using TODGA: role of organic diluent*. *J Radioanal Nucl Chem*. 2013. 295. s. 1683–1688.
- [33] IAEA RADIOISOTOPES AND RADIOPHARMACEUTICALS SERIES No. 2 [online]. 2020 [cit. 30.7.2020]. Dostupné z: https://www-pub.iaea.org/MTCD/publications/PDF/Pub1436_web.pdf
- [34] MIZRADEH, S., LAMBRECHT, R. *Radiochemistry of Germanium*. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 1995. Budapešť: Akadémiai Kiadó. 202. s. 7 – 102.

- [35] GREEN, M., WELCH, M. *Gallium Radiopharmaceutical Chemistry*. 1989. Nucl. Med. Biol. Vol. 16. No. 5, s. 435-448.
- [36] SCHLAG, P., SENN, H. *Theranostics, Gallium-68, and Other Radionuclides A Pathway to Personalized Diagnosis and Treatment*. 2013. ISBN 978-3-642-27994-2.
- [37] MAJER, V. A KOL. *Základy jaderné chemie*; SNTL Státní nakladatelství technické literatury. 1985. Praha.
- [38] DASH, A., KNAPP, F., PILLAI, M. *Industrial radionuclide generators: a potential step towards accelerating radiotracer investigations in industry*. RSC Advances. 2013. 3. 14890.
- [39] GLEASONG, G. *A Positron Cow*. International Journal of Applied Radiation and Isotopes, 1960. Vol. 8, PP. 90-94.
- [40] LIN, M., RANGANATHAN, D., MORI, T., HAGOOLY, A., ROSSIN, R. *Long-term evaluation of TiO₂-based ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generators and optimized automation of [⁶⁸Ga]DOTATOC radiosynthesis*. 2012. Applied Radiation and Isotopes 70 2539–2544.
- [41] VYAS, CH., LEE, J., HUR, M., YANG S. *Chitosan-TiO₂ composite: A potential ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator column material*. 2019. Applied Radiation and Isotopes. 149. s. 206–213.
- [42] PRINCE, D., ROSSOUW, D., RUBOW, S. *Optimization of a Labeling and Kit Preparation Method for ⁶⁸Ga Labeled DOTATATE, Using Cation Exchange Resin Purified ⁶⁸Ga Eluates Obtained from a Tin Dioxide ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga Generator*. 2018. World Molecular Imaging Society.
- [43] CHAKRAVARTY, R., SHUKLA, R. *Development of nano – zirconia based ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga Generator for biomedical applications*; 2011. Nuclear Medicine and Biology 38. s. 575–583.

[44] CHAKRAVARTY, R., CHAKRABORTY, S., RAM, R. *Detailed evaluation of different $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generators: an attempt toward achieving efficient ^{68}Ga radiopharmacy.* 2015. Labeled Compounds and Radiopharmaceuticals.

[45] FIALOVÁ, K. *Syntéza extrahentů kovalentně vázaných na polyakrylonitrilovou matrici: diplomová práce.* 2018. Praha: ČVUT. Fakulta FJFI. Vypočetní a informační centrum. Czech Technical University in Prague. Computing and Information Centre. 2018. 123 s., 42 s. Vedoucí diplomové práce RNDr. Martin Vlk, Ph.D.

[46] POURMAID, A., DAUPHAS, N. *Distribution coefficients of 60 elements on TODGA resin: Application to Ca, Lu, Hf, U and Th isotope geochemistry.* 2009. Talanta 81. s. 741 – 753.

6 Prílohy

Príloha A

CD s názvom Bakalárska práca_Klaudia Bátorová