

# Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Bc. Stanislava Košková

Školitel: Doc. PharmDr. Hana Sklenářová, Ph.D.

Konzultant: Ing. Radek Vávra, Ph.D. (VŠÚO Holovousy)

Název diplomové práce:

Hodnocení vybraných obsahových látek v ovoci metodou HPLC-DAD-CAD

Tato diplomová práce byla zaměřena na stanovení obsahu sedmi fenolických látek, konkrétně kyseliny gallové, kyseliny chlorogenové, epikatechinu, rutinu, floridzinu, kvercetin a floretinu v jablkách 20 odrůd, které byly dodány Výzkumným a šlechtitelským ústavem ovocnářským Holovousy s.r.o.

K tomuto účelu byla použita HPLC separace v reverzním módu využívající kolonu Luna Omega Polar C18 (150 mm x 4,6 mm; 5  $\mu$ m). Jako mobilní fáze byla použita směs ultra čisté vody okyselené kyselinou octovou na pH 2,8 a acetonitrilu. Byl zvolen lineární gradient s postupným zvyšováním podílu organické složky z počátečních 10 % na 50 % během 10 min separace. Následovala ekvilibrace kolony – do 12,50 min při 10 % organické složky. Celková délka separace byla 12,5 min při průtokové rychlosti 1 ml/min. Teplota kolonového prostoru byla nastavena na 30 °C. Detekce byla provedena pomocí DAD (254, 280, 320 nm) a CAD detektoru (teplota nebulizéru 25 °C).

Součástí této práce je test způsobilosti chromatografického systému, který zahrnuje parametry: rozlišení ( $R_s$ ), faktor symetrie ( $A_s$ ), opakovatelnost retenčního času a plochy píku a píkovou kapacitu. Dále byly vyhodnoceny tyto validační parametry: linearita, limit detekce a limit kvantifikace, selektivita, přesnost a správnost.

Validovaná HPLC-DAD-CAD metoda byla využita pro porovnání fenolického profilu testovaných jablečných odrůd. Zpracování rostlinného materiálu zahrnuje výběr 3 plodů z každé odrůdy, zbavení jádřinců a následnou homogenizaci dužniny i se slupkou, extrakci methanolem okyseleným kyselinou octovou, ultrazvukem asistovanou extrakci, centrifugaci a filtraci.

V reálných vzorcích byly zachyceny 4 ze 7 hledaných fenolických látek. Jednalo se o kyselinu chlorogenovou, epikatechin, rutin a floridzin. Nejvíce těchto látek obsahovaly odrůdy HL 2010, HL 207, Meteor, HL 1199 a HL 2350. V odrůdách HL 1343, HL 72 a Topaz nebyly zachyceny žádné sledované analyty.