ABSTRAKT

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Zuzana Jandorová

Školitel: prof. PharmDr. Lucie Nováková, Ph.D.

Název diplomové práce: Studie podmínek separace a stability vybraných fenolických látek

Cílem této diplomové práce bylo zjištění nejvhodnějších podmínek separace pro analýzu deseti fenolických látek pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie s PDA detekcí. Práce je zaměřena zejména na separaci kritického páru isorhamnetin a tamarixetin. Dalším cílem bylo zjištění krátkodobé stability všech testovaných látek po dobu 24 hodin.

Analýzy probíhaly s využitím chromatografického systému ACQUITY UPLC systém s PDA detektorem při vlnové délce 275 nm. Prvním krokem studie separačních podmínek byl screening 17 kolon od několika různých výrobců. Byly testovány kolony: ACE Excel C18, BEH C18, CSH C18, Arion Plus C18, Ascentis Express C18, Atlantis Premier BEH C18 AX, BEH Shield RP18, Cortecs Shield RP18, Ascentis Express RP-Amide, BEH Phenyl, CSH Phenyl-Hexyl, Kinetex Biphenyl, ACE Excel C18-AR, ACE Excel C18-PFP, CSH Fluoro-Phenyl, Ascentis Express F5 a Kinetex PFP. Během screeningu byly testovány 3 organické modifikátory (acetonitril, methanol a acetonitril s methanolem 1:1) v kombinaci se 2 vodnými složkami (0,1% kyselina mravenčí a 0,1% kyselina octovou). Druhým krokem byla optimalizace separačních podmínek na 3 nejvhodnějších kolonách, kterými byly Ascentis Express RP-Amide, Kinetex Biphenyl a ACE Excel C18-PFP. Optimalizován byl postupně vliv gradientových křivek, nastavení gradientové eluce, teplota separace a čas analýzy.

Nejlepších výsledků separace analyzovaných látek bylo dosaženo na koloně Kinetex Biphenyl za podmínek: methanol s 0,1% kyselinou mravenčí, gradientový program 15-98 % MeOH během 7 minut s následnou 2minutovou ekvilibrací, teplota separace 40 °C. Tyto podmínky byly také využity pro měření krátkodobé stability jednotlivých fenolických látek.

Stabilita byla měřena každou hodinu po dobu 24 hodin. Sledována byla změna plochy píku v čase a srážení látek při uchovávání v automatickém dávkovači. Měření probíhalo při teplotě 10 °C, 15 °C a 20 °C. Látky byly rozpuštěny ve vodě s HCOOH a ve 20% methanolu s HCOOH, který byl zvolen na základě srovnání vlivu rozpouštědla na tvar píku. Každá látka byla celkem podrobena 6 měřením. Jako látky stabilní za všech testovaných podmínek se projevily PAA, 4MC, HFP a HVA. U těchto látek nedošlo k poklesu koncentrace pod limit 95 %. Látky PG, HFA a RUT vykazovaly stabilitu jen za určitých podmínek. Problémové chování vykazoval QCE, ISO a TAM, u nichž docházelo také ke srážení látky v roztoku.

Klíčová slova: UHPLC/PDA; fenolické látky; separační podmínky; screening kolon; optimalizace; stabilita