

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá nalezením optimálních podmínek pro stanovení tryptofanu pomocí metody HPLC s UV detekcí. Množství tryptofanu bylo stanovováno ve dvou potravinových doplňcích. Pro nalezení vhodných podmínek pro stanovení tryptofanu byl sledován vliv složení mobilní fáze na retenci analytu a symetrii píku, a to ve dvou různých módech vysokoúčinné kapalinové chromatografie – reverzním módu za použití kolony Atlantis dC₁₈ a mix-módu za použití kolony Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX. Konkrétně byl testován vliv typu a množství organického modifikátoru (acetonitril/methanol), vliv pH pufru octanu amonného (4,7; 5,9; 7,0) a jeho koncentrace (5mM/10mM) v mobilní fázi. Na základě získaných dat byly vybrány nejvhodnější podmínky (z hlediska doby analýzy a symetrie píku), ve kterých byly určeny vybrané validační parametry jako opakovatelnost, reprodukovatelnost, limit detekce a limit kvantifikace. Vybrané chromatografické podmínky byly následující: mix-mód kolona Atlantis PREMIER BEH C₁₈ AX, mobilní fáze acetonitril/5mM octan amonný, pH 7,0 10/90 (v/v), separační teplota 25 °C, průtok mobilní fáze 1 ml/min a detekce při vlnové délce 254 nm. V těchto podmínkách bylo provedeno stanovení obsahu tryptofanu v potravinových doplňcích metodou kalibrační křivky a metodou přídavku standardu. Uvedený obsah tryptofanu v obou potravinových doplňcích byl 200 mg. Metodou kalibrační křivky byl obsah tryptofanu v potravinovém doplňku 1 stanoven na $197,8 \pm 0,2$ mg a v potravinovém doplňku 2 na $197,2 \pm 0,9$ mg. Metodou přídavku standardu byl obsah tryptofanu ve vzorku 1 stanoven na 203 ± 4 mg a ve vzorku 2 na 202 ± 2 mg.