

Abstrakt

Hydrofilní interakční kapalinová chromatografie (HILIC) je často využívanou separační metodou pro analýzu polárních látek. Představuje alternativu k chromatografii na reverzních fázích, kde tyto látky vykazují nedostatečnou či žádnou retenci. V současné době je pro HILIC dostupná řada stacionárních fází a stále se vyvíjejí nové. Cílem této diplomové práce byla charakterizace a vzájemné porovnání stacionárních fází tří relativně nových HILIC kolon obsahujících jako stacionární fázi nemodifikovaný silikagel (HILIC-A), silikagel modifikovaný aminopropylovými skupinami (HILIC-B) a silikagel modifikovaný polyhydroxylovým řetězcem (HILIC-N). Na základě studia vlivu obsahu acetonitrilu v mobilní fázi na retenci modelové sady peptidů byl prokázán multimodální retenční mechanismus. Analýzou 18 modelových analytů s rozdílnými hodnotami pK_a bylo zjištěno, že složení vodné složky mobilní fáze (pufry), konkrétně její koncentrace a hodnota pH, má významný dopad na retenci ionizovaných analytů i peptidů na studovaných stacionárních fázích. Významný příspěvek iontových interakcí k retenci byl pozorován na kolonách HILIC-B a HILIC-A. Retence bazických látek na koloně HILIC-B stoupala se zvyšující se iontovou silou, naopak u kolony HILIC-A klesala. S rostoucím pH pufry mobilní fáze výrazně vzrostla retence disociovaných kyselin na koloně HILIC-B, naopak na koloně HILIC-A se výrazně zvýšila retence bazických, pozitivně nabitých látek. Retentivita studovaných kolon byla porovnána s 21 komerčně dostupnými kolonami používanými v HILIC. Dále byla optimalizována a porovnána analýza směsi peptidů na studovaných kolonách za použití isokratické a gradientové eluce s cílem zkrácení doby analýz.

Klíčová slova: HILIC, HILIC-A, HILIC-B, HILIC-N, koncentrace pufry, pH pufry, peptidy