

Abstrakt

Tato bakalářská práce je zaměřena na separaci čtyř modelových proteinů – konalbuminu, hovězího sérového albuminu a beta-laktoglobulinů A a B – metodou gradientové chromatofokusace v uspořádání vysokoúčinné kapalinové chromatografie na dvou komerčních aniontově-výměnných kolonách. Jedna kolona obsahovala jako stacionární fázi silný anex (Agilent Bio SAX) a druhá slabý anex (Agilent Bio WAX). Pro separaci proteinů gradientovou chromatofokusací byly optimalizovány celkem tři různé pH gradienty mobilní fáze, jeden šedesátiminutový a dva třicetiminutové. Při použití všech tří testovaných gradientů došlo k separaci směsi konalbuminu s beta-laktoglobulinou A a B na základní linii na silném i slabém anexu při průtoku mobilní fáze 1 ml/min. Ve všech testovaných systémech se silným anexem jako stacionární fází bylo dosaženo separace všech tří izoform hovězího sérového albuminu. Nejvyšších hodnot rozlišení pík při separaci směsi konalbuminu a beta-laktoglobulinů A a B bylo dosaženo za třicet minut na koloně obsahující silný anex jako stacionární fázi. Nejvyšších hodnot rozlišení pík izoform hovězího sérového albuminu bylo dosaženo za šedesát minut na koloně obsahující silný anex jako stacionární fázi.

Klíčová slova: gradientová chromatofokusace, separace proteinů, vysokoúčinná kapalinová chromatografie