

Abstrakt

Online prekoncentrační techniky v kapilární elektroforéze (CE) zvyšují citlivost detekce elektroforetických separací a jsou tak předmětem zájmu mnohých výzkumných skupin. Z tohoto důvodu je návrh nových prekoncentračních technik a jejich teoretický popis žádoucí pro jejich širší využití. Jedním z faktorů ovlivňujících separační podmínky je iontová síla separačních systémů. V rámci této disertační práce byly navrženy nové prekoncentrační techniky a popsány efekty iontové síly v separačních systémech CE a hydrofilní kapalinové interakční chromatografie (HILIC). Současně zde bylo představeno a popsáno 14 nových pI markerů pro isoelektrickou fokusaci (IEF).

První část této disertační práce se zabývá návrhem nových prekoncentračních technik a jejich teoretickým popisem. Jsou zde prezentovány dvě prekoncentrační techniky. První z nich je založena na mechanismu sweepingu pomocí neutrálního komplexačního činidla, zatímco druhá využívá pH rozhraní, která jsou vytvořena systémovými zónami. Obě techniky jsou popsány jak teoreticky pomocí numerických simulací, tak experimentálně. Tyto techniky byly také aplikovány pro prekoncentraci účinné látky v komerčně dostupném léčivu a pro směs strukturně podobných analytů. Pro metodu využívající prekoncentraci pomocí systémových zón byl vytvořen diagram umožňující snadnou optimalizaci této techniky.

Druhá část této práce je věnována základnímu fyzikálně chemickému popisu separačních systémů – iontovým efektům v separačních systémech CE a HILIC módu HPLC. V rámci CE byl popis iontových efektů zaměřen na korekce na iontovou sílu při stanovení disociačních konstant a limitních elektroforetických mobilit. Pro správnost a usnadnění těchto korekcí byl vytvořen program AnglerFish, který implementuje teorie vlivu iontové síly na aktivní koeficienty a elektroforetické mobility. Tímto přístupem byla získána přesněji korigovaná data stanovovaných parametrů. Současně tento přístup nabízí další výhody v porovnání s již dříve známými postupy pro korekce daných parametrů. Při popisu iontových efektů v separačním módu HILIC byla sledována retence různých aminokyselin, dipeptidů a jejich N-blokovaných variant v závislosti na struktuře a koncentraci různých kationtů obsažených v pufru pro dvě stacionární fáze. Ve většině případů zvyšující se koncentrace kationtů způsobovala zvýšení nebo nulovou změnu retence. V ostatních případech však zvýšení koncentrace kationtu mělo za následek snížení retence analytu v důsledku kompetice na stacionární fázi.

V poslední části této práce zabývající se IEF bylo navrženo a popsáno 14 pI markerů. Experimentálně byly stanoveny jejich pohyblivosti a disociační konstanty, které byly následně zkorigovány na limitní pohyblivosti a termodynamické disociační konstanty. Navržené markery byly použity pro charakterizaci pH gradientu v IEF. Experimentálně získaný tvar pH gradientu vykazoval dobrou shodu s tvarem získaným numerickými simulacemi.