

## Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové  
Katedra Analytické chemie

Školitel: PharmDr. Petr Chocholouš, PhD.

Kandidát: Jana Vacková

Název práce: Srovnání kolon pro separaci farmaceuticky významných látek metodou sekvenční injekční chromatografie

Tato diplomová práce se zabývá vývojem separační metody na moderních chromatografických kolonách v systému Sekvenční injekční chromatografie (SIC). Systém SIC byl založen na systému SICrom™ (FIALab®, Bellewue, WA, USA) s osmicestným ventilem z nerezové oceli (VICI® Valco Instruments, TX, USA) a pumpou S17 (Sapphire™ Engineering, MA, USA).

Použité vzorky byly připraveny rozpuštěním 25 mg různých fenolických kyselin (kyselina protokatechová, kyselina vanilová, kyselina *p*-kumarová, kyselina ferulová, kyselina *o*-kumarová, kyselina sinapová a kyselina syringová) ve 25 ml methanolu.

Použité kolony byly tři, a to kolona Ascentis Express C-18 (30 mm × 4,6 mm, 2,7 μm, Sigma – Aldrich, Supelco Analytical, Bellefonte, PA, USA), kolona Ascentis Express RP-Amide (30 mm × 4,6 mm, 2,7 μm, Sigma – Aldrich, Supelco Analytical, Bellefonte, PA, USA) a kolona Ascentis Express Phenyl-Hexyl (30 mm × 4,6 mm, 2,7 μm, Sigma – Aldrich, Supelco Analytical, Bellefonte, PA, USA). Jejich sorbent patří do skupiny částic s pevným jádrem.

Mobilní fáze byla tvořena roztokem vody a acetonitrilu v různých poměrech a její pH bylo upravováno na 2,4 pomocí 85% kyseliny fosforečné.

Podmínky pro kolonu C18 jsou následující: mobilní fáze o složení 16 dílů vody a 84 dílů acetonitrilu (pH 2,36), objem mobilní fáze 3 600 μl, průtoková rychlost 10 μl/s a množství vzorku 10 μl.

Podmínky pro kolonu RP-Amide jsou tyto: mobilní fáze o složení 22 dílů acetonitrilu a 78 dílů vody (pH 2,4), objem mobilní fáze 3 800 μl, průtoková rychlost 6 μl/s a množství vzorku 10 μl.

Podmínky pro kolonu Phenyl-Hexyl jsou následující: mobilní fáze o složení 16 dílů acetonitrilu a 84 dílů vody (pH 2,46), objem mobilní fáze 3 800 μl, průtoková rychlost 10 μl/s a množství vzorku 10 μl. Všechny analýzy proběhly za izokratických podmínek.

Absorbance byla měřena při 250 nm (kyseliny protokatechová a vanilová), 280 nm (kyseliny syringová a *o*-kumarová) a 290/325 nm (kyseliny sinapová, ferulová a *p*-kumarová) UV detekcí. Použitý UV zdroj byla Lampa UV D-1 000-CE (Analytical Instrument Systems Inc., USA) a použitý detektor byl detektor CCD UV-VIS USB 4 000 (Ocean-optics, FL, USA). Použitá průtoková cela je Z cela Ultem® SMA, efektivní délka 20 mm (FIALab®, Bellewue, WA, USA).

Separáční metoda byla vyvinuta pro každou kolonu a zkladn separaãn charakteristiky kolon byly navzájem srovnány. Kolona RP-Amide byla v selektivitě nejlepší, separovala všechny kyseliny, ale kolony C-18 a Phenyl-Hexyl nedokázaly separovat dvě dvojice kyselin. Na kalibraci se nejvíce osvdãila kolona C18, protože její kalibraãn křivky jsou velmi blzk prmce. Pri vysokých koncentracích analytu vykazuje kolona C18 reziduální smerodatnou odchylku (RSD) nejnižší z vechn tr kolon jak pro retenãn čas, tak pro odezvu. Kolona RP-Amide ma nejmenší RSD odezvy pri strednch koncentracích a RSD času pri nízkých koncentracích ze vechn tr kolon. Kolona Phenyl-Hexyl ukazuje nejmenší RSD času pri strednch koncentracích a nejmenší RSD odezvy pri nízkých koncentracích ze vechn tr kolon. Kolona RP-Amide ukazuje nejvíce soumrn piky pri vechn koncentracích a ma nejv. Nejv byly rovněž namřeny u kolony RP-Amide.

Podařilo se vyvinout separaãn techniku na vechn trech použitých kolonách. Z celkového pohledu je nejlepší pro analýzu kolona RP-Amide.