

ABSTRAKT (CZ)

Tato disertační práce je zaměřena na vývoj nových analytických metod sestávajících z extrakce tuhou fází (SPE) použité pro purifikaci a zkoncentrování analytů a jejich stanovení pomocí ultra-vysokoúčinné kapalinové chromatografie (UHPLC) s detektorem diodového pole (DAD) a/nebo hmotnostní detekcí za použití analyzátoru doby letu (ToFMS). Většina předkládaných výsledků byla publikována v prestižních mezinárodních časopisech. Součástí práce jsou také významná dosud nepublikovaná data. Kromě modelových srovnání různých typů kolonových materiálů pro ultra-vysokoúčinné separace představuje práce také významné aplikace vyvinutých metod. Zatímco první část práce je věnovaná stanovení antibiotik jakožto kontaminantů životního prostředí zodpovědných za vývoj a šíření bakteriální rezistence, druhá část se věnuje analýze a hledání biologicky aktivních sekundárních metabolitů z přírodních zdrojů, které mohou být v budoucnu využity jako nová antibiotika.

První část disertační práce je zaměřena na stanovení reziduálních antibiotik v různých matricích (prasečí mrva, odpadní voda, povrchová voda). Jako analyty byla vybrána nejpoužívanější humánní a veterinární antibiotika. Metody sestávající z UHPLC-DAD a UHPLC-ToFMS a dále z SPE nebo extrakce kapalina-kapalina (LLE) byly validovány a pro kvantifikaci byly vybrány vhodné kalibrační techniky. Vyvinuté metody byly použity pro analýzu reálných vzorků z různých lokalit České republiky a výsledky odhalily přítomnost antibiotik ve většině z nich. Prasečí mrva obsahovala tetracyklinová antibiotika v koncentracích až 6 mg kg^{-1} . Všechny testované vzorky vod byly pozitivní na antibiotika s naměřenými koncentracemi pohybujícími se od 5 ng L^{-1} do 1290 ng L^{-1} .

Druhá část této práce je zaměřena na vývoj analytických metod určených pro studium sekundárních metabolitů produkovaných houbami rodu *Geosmithia*. U těchto hub se předpokládá možnost jejich charakterizace na základě produkce sekundárních metabolitů. Jakožto symbionti jsou tyto houby navíc potenciálním zdrojem biologicky aktivních sekundárních metabolitů. Byla vyvinutá nová UHPLC-DAD-ToFMS metoda pro „chromatografický fingerprinting“ extracelulárních metabolitů ve fermentačním médiu těchto hub a následně byla použita pro analýzu 48 kmenů rodu *Geosmithia*. Pro extrakci analytů byly testovány různé SPE sorbenty a postupy pro LLE s výsledným použitím silného měničce kationtů (Oasis MCX). Výsledky odhalily silnou korelaci mezi „UHPLC-DAD-ToFMS fingerprinty“ a taxonomickou příslušností jednotlivých kmenů. Tyto dosažené výsledky potvrzují, že vyvinutá metoda je vhodná pro účely „chromatografického fingerprintingu“ založeného na analýze produkovaných houbových sekundárních metabolitů. Dále byly vyvinuty UHPLC-DAD-ToFMS a HPLC-UV metody pro následný „chromatografický screening“ biologicky aktivních sekundárních metabolitů těchto hub. U testovaných kmenů byla zjištěna produkce sekundárních metabolitů se širokým antimikrobiálním spektrem účinnosti a tyto látky byly vyvinutými metodami určeny. Tím bylo potvrzeno, že vyvinuté LC metody jsou vhodné pro „chromatografický screening“ biologicky aktivních sekundárních metabolitů a že houby rodu *Geosmithia* představují slibný zdroj zajímavých antimikrobiálních látek.

Třetí část práce se zabývá možnými přístupy vedoucími ke zvýšení účinnosti a rychlosti chromatografických separací při analýze mikrobiálních sekundárních metabolitů. Byla srovnávána nedávno představená kolona obsahující povrchově porézní částice (reprezentované Kinetex C18 kolonou) s kolonou s plně porézními částicemi (reprezentovány Acquity BEH C18 sub- $2\mu\text{m}$ particle kolonou) na UHPLC systému za použití mobilní fáze o kyselém i zásaditém pH. Bylo zjištěno, že kolona Kinetex C18 je vhodnou alternativou Acquity BEH C18 kolony. Velkou výhodou kolony Kinetex C18 je její nižší zpětný tlak, což umožňuje její použití na běžném HPLC chromatografu. Nicméně byla zjištěna limitace Kinetex C18 kolony v podobě její omezené stability v alkalické oblasti pH.