

Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra analytické chemie

Kandidát: Daniel Machián

Školitel: M.Sc. Burkhard Horstkotte, Ph.D.

Konzultant: PharmDr. Kateřina Fikarová, Ph.D.

Název diplomové práce: Studie deproteinizace vzorků mléka pomocí fázové separace indukované vysolováním a automatizace v Lab-In-Syringe

V této práci byl zkoumán nový přístup k deproteinizaci vzorku založený na homogenní kapalinové extrakci s vysolováním indukovanou fázovou separací. Byl vyvinut, experimentálně otestován a optimalizován postup, který umožňuje automatizovanou deproteinizaci vzorků mléka pomocí techniky Lab-In-Syringe, bez potřeby centrifugace.

Stejně jako v jiných metodách přípravy vzorků bylo cílem eliminovat matici vzorku a získat organickou fázi, která by mohla být podrobena analýze. Práce zahrnuje řadu předběžných experimentů prováděných offline, tj. bez zamýšleného instrumentace, jakož i optimalizační experimenty prováděné online pomocí systému Lab-In-Syringe. Byly testovány vysolovací činidla a tři rozpouštědla, stejně jako fázové poměry a provozní parametry systému Lab-In-Syringe, včetně jeho konfigurace. V metodě optimalizované postupy popsanými v této práci, bylo dosaženo účinné denaturace a vysrážení mléčných proteinů vodou mísitelným rozpouštědlem, acetonitrilem, který také slouží jako možné extrakční rozpouštědlo pro analyty, které jsou předmětem zájmu ve vzorcích mléka. Separace fází byla indukována přidáním směsného vysolovacího roztoku $MgSO_4$ a $NaCl$, jakožto vysolovacích činidel.

Automatizace byla založena na technice Lab-In-Syringe s magnetickým mícháním přímo v injekční pumpě, které zajišťuje důkladné a homogenní promíchání vzorku a jednotlivých kapalných činidel při jejich nasátí. Pro automatizovanou deproteinizaci bez užití centrifugy a fázovou separaci byly shledán optimálním následující postup: ke vzorku zředěného mléka byl přidán acetonitril a následně výše uvedený vysolovací roztok. Kromě toho byly kriticky prozkoumány postupy čištění systému. V extraktech získaných z optimalizovaného protokolu nebyly nalezeny žádné stopy proteinů. Všechny experimenty byly dokumentovány fotografiemi.

Vyvinutý systém a metoda budou přímo napojeny na HPLC v budoucí práci, ke které bylo touto prací zamýšleno přispět první částí, tedy nastavením systému a vývojem metody.