

Abstrakt

Předkládaná diplomová práce je zaměřena na mix mód chromatografii, konkrétně na podrobný popis dvou kolon, které vykazují smíšený interakční mechanismus - Acclaim™ WAX-1 and Acclaim™ WCX-1. Stacionární fáze těchto kolon poskytují kombinaci reverzního a iontově výměnného interakčního/retenčního mechanismu. Podrobná charakterizace iontových interakcí poskytovaných stacionárními fázemi byla umožněna na základě vývoje dvou nových metod mísení pufrů o různé hodnotě pH přímo v chromatografickém přístroji. Nově vyvinuté metody mohou být univerzálně využity na podobná měření. Zatímco kolona WAX-1 poskytuje protonovatelnou sekundární aminoskupinu, kolona WCX-1 obsahuje karboxylovou skupinu, která je nositelkou opačného náboje v určitém rozmezí pH. Celá charakterizace byla provedena měřením retence analytů o různé polaritě a náboji v definovaném rozsahu pH (2,5 – 7,5 v intervalech po 0,5 jednotce pH).

Výsledky prokázaly, že chování stacionárních fází se mění se změnou pH mobilní fáze, což je způsobeno disociací/protonizací iontově výměnné funkční skupiny stacionární fáze. Kolona WAX-1 ztrácí svůj pozitivní náboj nad pH 5 a kolona WCX-1 získává záporný náboj kolem pH 3. Tyto závěry byly získány z grafů závislosti retenčního času na pH pro rozličné analyty. Zatímco retence neutrálních analytů se neměnila se změnou pH, acidobazická rovnováha slabých elektrolytů byla změnou pH mobilní fáze ovlivněna. Vhodným proložením dat závislosti retenčního faktoru na pH mobilní fáze byly zjištěny hodnoty disociačních konstant. Kolona WAX-1 s kladně nabitou skupinou ukázala nejlepší odhad pro anilin, zatímco pro benzoovou, 4-hydroxybenzoovou a nikotinovou kyselinu poskytovalo přesnější hodnotu měření na WCX-1 koloně se záporným nábojem. Experimentálně zjištěné hodnoty pK_a byly dále porovnány s hodnotami získanými metodou pH gradientu, za použití vyvinuté metody mísení pufrů.

Klíčová slova

iontové interakce, stacionární fáze, mix-mód vysokoúčinná kapalinová chromatografie