

ABSTRAKT

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Analytické chemie

Kandidát: Mgr. Zdeněk Spáčil

Školitel: prof. RNDr. Petr Solich, CSc.

Název disertační práce: Aplikace kapalinové chromatografie za ultravysokého tlaku a hmotnostní spektrometrie v analýze polyfenolických látek

Hlavním cílem této disertační práce zaměřené na využití kapalinové chromatografie (LC) a hmotnostní spektrometrie (MS) je vývoj moderních separačních metod určených k analýze polyfenolických látek. Obecné aspekty těchto technik jsou diskutovány v teoretické části a jejich praktický dopad je pak dokumentován čtyřmi originálními pracemi uvedenými v příloze (supplement I-IV). Stručný komentář k publikovaným článkům je dále uveden v kapitole „Results and discussion“. Kapalinová chromatografie byla použita v každé z publikovaných prací a poslední dvě práce (supplement III-IV) navíc kombinují jak přednosti LC, tak MS. Takto byla například semi-kvantitativní informace získaná za použití techniky laserem indukované desorpce/ionizace (LDI-MS) ověřena technikou kapalinové chromatografie za ultravysokého tlaku (UHPLC) s MS detekcí (supplement IV). Mnohostranné využití, jednoduchá obsluha a dobrá znalost fundamentálních principů dělají z LC „metodu volby“ v celé řadě vědeckých odvětví, při analýze různých analytů. Snadno proveditelné a robustní spojení LC-MS přináší vysoce efektivní separaci analytu na dvou úrovních: i) separaci a zakoncentrování analytu do úzké zóny pomocí kapalinové chromatografie a ii) separaci založenou na struktuře analytu, na poměru molekulové hmotnosti a náboje získaného při ionizaci (m/z), která se odehrává v hmotovém analyzátoru. Technika MS poskytuje vysoce selektivní detekci a navíc strukturní informaci, čímž vyniká nad kteroukoliv jinou LC „on-line“ detekční techniku. Od roku 2004 je UHPLC trendem v oblasti kapalinové chromatografie a její výhody oproti konvenční HPLC dokumentované na příkladu

polyfenolických látek v čaji a červeném hroznovém víně jsou shrnuty v první publikované práci (supplement I). Metody založené na UHPLC nabízejí vyšší separační účinnost ve srovnání s běžnou HPLC, vzhledem k použití sorbentů o velikosti částic menší než dva mikrometry (sub-2-micron). Dále přinášejí úsporu v čase analýzy doprovázenou nižší spotřebou rozpouštědel. Výhodou použití UHPLC při analýze polyfenolických látek může být také rychlá úprava vzorku, většinou pouze filtrace (supplement I-III). Vzorky červeného hroznového vína analyzované v poslední práci (supplement IV) technikou LDI/MS byly upraveny pomocí extrakce na pevné fázi (SPE). Tato práce demonstruje na příkladu fenolických kyselin využití techniky LDI/MS k záznamu vysoce přesné molekulové hmotnosti a dostatečného hmotnostního rozlišení, které postačují k identifikaci analytů ve složité přírodní směsi bez nutnosti předchozí chromatografické separace. Nicméně citlivost, selektivita a všestrannost analýzy je významně navýšena za použití kombinované techniky LC/MS. Získané výsledky mají předpoklad vysoké reprodukovatelnosti a přinášejí přesné kvantitativní informace, což je dobře dokumentováno analýzou katechinů obsažených v zeleném čaji (supplement III).

Tato disertační práce ukazuje využití obecných zákonitostí analytické a fyzikální chemie k vývoji nových analytických metod a aplikací v analýze polyfenolických látek.