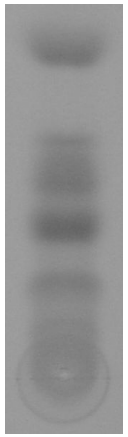
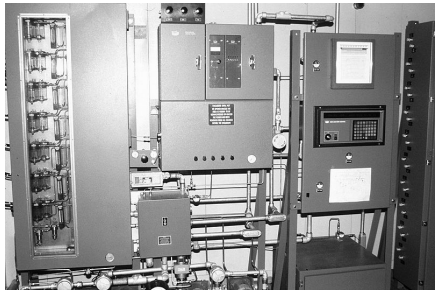


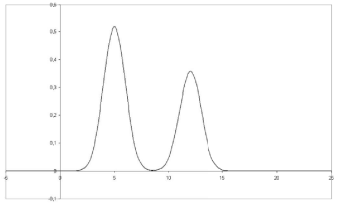
Chromatografie



•Úvod, princip, metody

Chromatografie

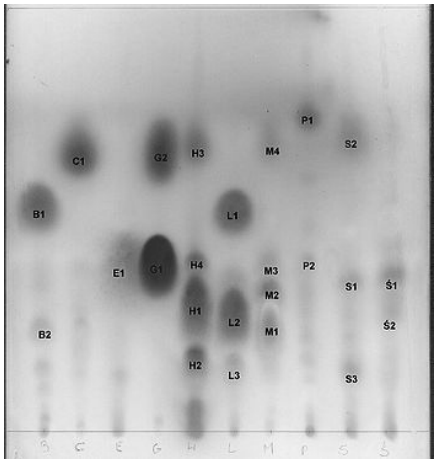
- Soubor fyzikálně-chemických separačních metod.
- Sledujeme rozdíl afinity analytu k mobilní a stacionární fázi.
- Kontinuální extrakce.
- Stacionární fáze – během chromatografie se nepohybuje – silikagel, papír, silufol, atd.
- Mobilní fáze – během analýzy se pohybuje definovaným směrem. Může se jednat o kapalinu (LC), plyn (GC) nebo superkritickou kapalinu (SFC).
- Chromatogram – vizuální výstup chromatografie.
- Retenční čas (faktor) – čas charakteristický pro analyzovanou látku. Jedná se o dobu, za kterou analyt projde chromatografickým systémem.



Chromatografické metody

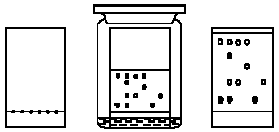
- Chromatografie dělíme podle druhu stacionární a mobilní fáze:
- Dělení podle stacionární fáze:
  - sloupcová chromatografie – stacionární fáze je umístěna v koloně
  - papírová chromatografie – stacionární fází je papír nebo modifikovaná celulósa
  - tenkovrstvá chromatografie (TLC) – stacionární fáze má formu tenké vrstvy fixované na nosiči
- Dělení podle mobilní fáze
  - plynová chromatografie
  - kapalinová chromatografie
  - fluidní chromatografie – mobilní fází je látka v nadkritickém stavu
  - plazmová chromatografie – mobilní fází je proud iontů

Tenkovrstvá chromatografie



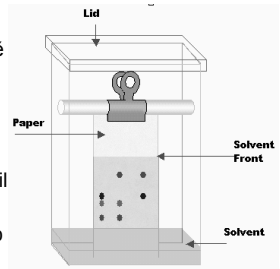
Tenkovrstvá chromatografie

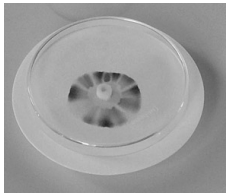
- Stacionární fází je deska ze skla, hliníku nebo plastu, pokrytá tenkou vrstvou adsorbentu (alumina, silikagel nebo celulosa).
- Vzorek se nanese na povrch aktivní fáze (polohu vzorku je nutné označit - start), během nanášení nesmí dojít k porušení vrstvy stacionární fáze.
- Poté je destička ponořena do kapalné mobilní fáze (vhodné rozpouštědlo nebo směs rozpouštědel). Mobilní fáze se pohybuje po stacionární díky působení kapilárních sil.
- V okamžiku, kdy se mobilní fáze přiblíží k hornímu okraji okraji destičky, ukončíme chromatografii a zaznačíme polohu čela mobilní fáze (cíl).
- Retenční faktor pro jednotlivé skvrny je roven poměru vzdálenosti středu skvrny od startu a vzdálenosti start-cíl.



Papírová chromatografie

- Stacionární fází je filtrační papír (často speciálně upravený – může být i hydrofóbní).
- Analyzovaný vzorek se nanáší na kraj papíru, příp. do jeho středu.
- Uspořádání může být vzestupné i sestupné, u sestupné chromatografie se kromě kapilárních sil uplatňuje i gravitace.
- Hodnota retenčního faktoru se počítá stejně jako u tenkovrstvé chromatografie.





Papírová chromatografie

- Pokud mají dva pigmenty v daném rozpouštědle blízkou hodnotu retenčního faktoru je nutné použít tzv. dvourozměrnou papírovou chromatografii – vzorek se nejprve nechá vyvíjet v prvním rozpouštědle a v polovině se papír dá do jiného rozpouštědla a otočí o 90 °.