

7. KAPITOLA

CHROMATOGRAFIE

Chromatografie je primární separační metoda, při níž se využívá mnohokrát opakované ustanovení rovnováhy mezi dvěma nemísitelnými fázemi. Jedná se o mnohostrannou techniku, která dokáže v jednom kroku separovat směs na individuální složky a současně získat kvalitativní i kvantitativní informace, to znamená kromě určení složení směsi lze stanovit i koncentraci jednotlivých složek.

Podstatou chromatického procesu je distribuce složek směsi mezi dvěma fázemi, z nichž jedna je označována jako mobilní a druhá stacionární. Jako mobilní fáze se využívá plyn anebo kapalina, stacionární fáze má podle typu chromatografie rozdílnou formu, například částičky, tuhá fáze, tenká vrstva kapaliny na pevných částicích a další.

Během chromatického dělení dochází k opakovanému transportu složek do stacionární fáze a zpět do fáze mobilní. Přitom se chromatografický systém přiblíží rovnováze, že rozdělení složky mezi dvě složky lze popsat distribuční (rozdělovací) konstantou (koeficientem) vyjadřujícím poměr rovnovážných koncentrací složky v obou fázích:

$$K = \frac{[A]_s}{[A]_m}$$

V současnosti existuje široká škála chromatografických metod, které lze rozdělit podle různých kritérií:

- podle skupenství mobilní fáze

- plynová chromatografie - mobilní fází je plyn
- kapalinová chromatografie - mobilní fáze je kapalina
- plazmová chromatografie - mobilní fáze je proud iontů
- fluidní chromatografie - mobilní fáze je látka v nadkritickém stavu

- podle stacionární fáze

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- sloupcová chromatografie (kolonová chromatografie) - stacionární fáze je umístěna v trubici (koloně)
- papírová chromatografie - stacionární fází tvoří papír anebo upravená celulóza
- chromatografie na tenké vrstvě - stacionární fáze je suspenze v podobě tenké vrstvy na pevném nosiči (skleněná deska, hliníková fólie)

Při kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina a stacionární fází je pevná látka (anebo kapalina zakotvená v pevné látce).

- rozdělení kapalinové chromatografie podle stacionární fáze

- adsorpční chromatografie - o separaci rozhoduje různá schopnost složek poutat se na povrch stacionární fáze (adsorbent)
- iontová chromatografie - o separaci složek rozhodují různě velké elektrostatické přitažlivé síly mezi funkčními skupinami stacionární fáze a ionty vzorku
- gelová chromatografie - složky se separují podle velikosti na pórovité stacionární fází (neionizovaný přírodní anebo syntetický gel), kdy se menší molekuly zadržují v pórech gelu déle než větší
- afinitní chromatografie - stacionární fáze obsahuje zakotvené ligandy, které jsou schopny vázat ze vzorku určité složky ke kterým má úzce selektivní vztah
- rozdělovací chromatografie - o separaci rozhoduje různá rozpustnost složek vzorku ve stacionární a mobilní fází

Plynová chromatografie

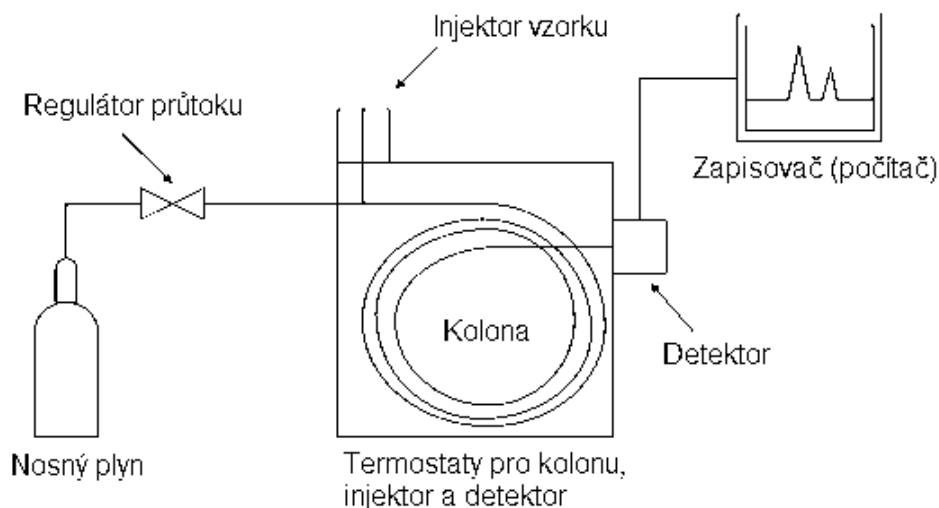
Plynová chromatografie je analytická a separační metoda, která má významné postavení v analýze těkavých látek. Mezi hlavní výhody této techniky patří jednoduché a rychlé provedení analýzy, účinná separace látek a malé množství vzorku potřebné k analýze.

Princip separace látek pomocí plynové chromatografie (obrázek 7.1) je takový, že kolonou stacionární fáze prochází stále nosný plyn. Zkoušený vzorek se vnese (nastříkne) do temperované nástřikové komory (injektoru), kde se odpaří a ve formě par je pak unášen nosným plynem až do kolony. Složky ze vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fází a pak desorbují čerstvým nosným plynem. Nosný plyn unáší složky vzorku postupně ke konci kolony a dělicí proces se neustále opakuje. Detektor indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu. Signál detektoru se vyhodnocuje a z jeho časového průběhu (chromatogramu) se určí druh a kvantitativní zastoupení složek.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.

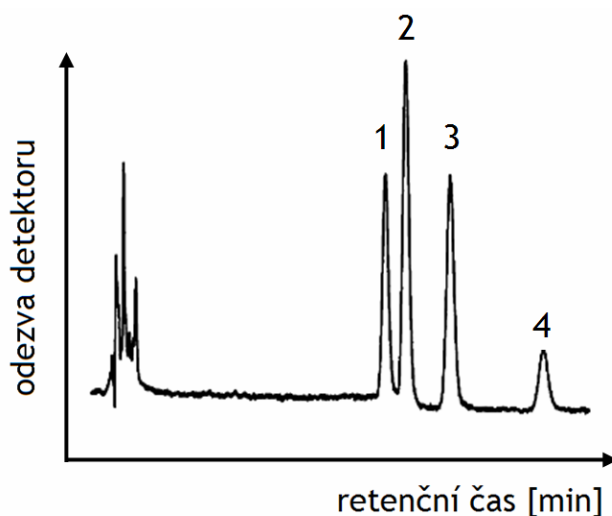


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Obrázek 7.1: Schéma plynového chromatografu.

Pokud dojde na chromatografické koloně k rozdělení všech n -složek analyzovaného vzorku, obsahuje chromatogram n -elučních křivek (píků) těchto složek (obrázek 7.2). Ze získaných chromatogramu lze vyhodnotit retenční parametry jednotlivých signálu, plochy a výšky píku a tak vyslovit předpoklad o identitě látky.



Obrázek 7.2: Chromatogram neznámé směsi složený ze čtyř látek.

Retenční parametry

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- retenční vzdálenost d_R - je vzdálenost vrcholu píku od počátku chromatogramu, to znamená od nástřiku vzorku na kolonu; dají se z ní snadno zjistit retenční čas a retenční objem.
- retenční čas t_R - je celková doba průchodu látky kolonou
- retenční objem V_R - je objem mobilní fáze, který projde kolonou za dobu t_r při definovaném objemovém průtoku nosného plynu F_m ($V_R = F_m t_R$)
- mrtvé retenční parametry - jsou retenční parametry složky, která se za daných podmínek na koloně nezadržuje, její distribuční konstanta $K = 0$, značí se jako d_M (mrtvá retenční vzdálenost), t_M (mrtvý retenční čas) a V_M (mrtvý retenční objem).

Kvalitativní analýza

Základem pro identifikaci látek při plynově chromatografické analýze je shoda hodnot d_R , t_R nebo V_R neznámé látky a standardu změřené za přesně stejných experimentálních podmínek.

Pro identifikaci neznámých látek však lze také použít retenčních indexů, které odráží specifické interakce zkoušené látky se stacionární a mobilní fází. Vyjadřují polohu píku identifikované látky v chromatogramu vzhledem k poloze píků řady standardů.

Metody vyhodnocení

- identifikace na základě retenčních časů - srovnává se retenční čas neznámé látky s retenčním časem standardu. Standard je látka, u které známe strukturu a snažíme se dokázat, že neznámá látka je s ní identická (za stejných podmínek měření)
- identifikace látek na základě retenčních indexů - porovnávají se retenční časy neznámé látky s určitou látkou nebo skupinou látek, které slouží jako referenční látky (srovnání retenčního indexu s retenčními indexy látek známých z literatury)
- identifikace na základě relativních retenčních časů - retenční čas se vztahuje na mrtvý čas t_M nebo na retenční čas určité vhodné látky (standardu), která se přidává do vzorku (eliminuje vliv délky kolony, fluktuace průtoku, teploty)

V některých případech jsou hodnoty stanovených retenčních indexů látek blízké, takže tímto způsobem nelze provést jednoznačnou identifikaci.

Kvantitativní analýza

Množství separované látky vystupující z kolony se měří detektory. Obvykle používané detektory indikují okamžitou koncentraci látky na výstupu z kolony. V tomto případě je celkové množství látky úměrné ploše píku. To umožňuje určovat množství či koncentraci dané látky v neznámém vzorku. Kvalita kvantitativní analýzy je především ovlivněna přípravou vzorku, správnou funkcí přístroje a

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

kvalitou zpracování dat, s čímž také souvisí správná volba kalibrační metody. Pokud není plocha píku odečtena automaticky, lze ji odhadnout plochy píku výpočtem

$$A = h \cdot Y_{0,5}$$

kde

A ... je plocha píku

h ... je výška píku

$Y_{0,5}$... je šířka píku v polovině výšky

V případě úzkých a symetrických píků lze pro kvantitativní vyhodnocení využít i výšku píku. Vztah mezi plochou, respektive výškou píku a koncentrací (hmotností) složky lze vyjádřit obvykle lineární závislostí, která platí většinou v rozsahu několika řádů koncentrací stanovované látky. Ke kvantitativnímu stanovení je možno využít některý z řady osvědčených způsobů, např. metodu standardního přídávku, metodu vnitřního standardu, metodu vnějšího standardu.

Metody vyhodnocení

- metoda vnitřní normalizace - stanovuje se obsah látek ve směsích, pokud je jejich počet nízký a všechny jsou známy. Množství dané komponenty se vyjadřuje jako relativní podíl z celku. Metody nezávisí na přesnosti objemu při nástřiku vzorku. A používá se především při rutinních stanoveních.
- absolutní kalibrace - určuje se absolutní koncentrace nebo absolutní množství látky; správnost metody je založena na přesném dávkování
- metoda vnitřního standardu - ke vzorku se přidává určité množství známé látky, (vnitřní standard), však která není přítomná a nereaguje s původním vzorkem. Výhodou metody je to, že není třeba znát přesný objem nástřiku vzorku.
- metoda standardního přídávku - ke vzorku se přidává známé množství stanovované látky a z plochy píku látky obsažené ve vzorku a plochy píku po přidání definovaného množství látky ke vzorku lze vypočítat množství látky v původním vzorku.

Přístroj k měření plynové chromatografie se nazývá chromatograf (obrázek 7.1). Mezi jeho nejdůležitější součásti patří kolona (se stacionární fází), nosný plyn (mobilní fáze, detektor a vyhodnocovací zařízení).

Nosný plyn

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Jako nosný plyn (mobilní fáze) se v chromatografii používá vodík, dusík, helium, argon. Při volbě se zohledňuje viskozita, účinnost, čistota, reaktivita, typ použitého detektoru, cena. Průtok nosného plynu se volí tak, aby se dosáhlo nejlepšího rozdělení látek na koloně.

Kolona

Kolona je část chromatogramu, v jejíž vnitřní části je umístěna stacionární fáze (adsorpční anebo rozdělovací). V plynové chromatografii se používají kolony náplňové anebo kapilární

- náplňové kolony jsou trubice naplněné sorbety anebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Vnitřní průměr kolony se pohybuje mezi 2 mm a 4 mm a maximální délce 4 m. Jako náplň se pro adsorpční chromatografii používají silikagel, grafitizované saze, alumina, jako molekulová síta se používají hlinitokřemičitany, pro rozdělovací chromatografii potom křemeliny (oxid křemičitý) upravené proti adsorpci, aby separace fází probíhala pouze na principu rozdělování.

- kapilární kolony se vyrábí nejčastěji z taveného křemene anebo oceli. Jejich délka dosahuje až 30 m, vnitřní průměr kapiláry je 0,2 mm až 0,75 mm.

- mikronáplňové kolony jsou účinné náplňové kolony malých průměrů obsahujících velmi malé částice (10 μm i méně), čímž se dosahuje vysoké účinnosti.

Hlavní nároky na stacionární kapaliny jsou dobrá rozpustnost separované látky, teplotní stálost, a malá těkavost. Musí pevně ulpívat na nosiči, aby nedocházelo k jejich vymývání z kolony. Volba stacionární fáze se hraje hlavní roli při volbě vhodné kolony pro konkrétní vzorek, kde důležitou roli hraje polarita.

Detektor

Detektory reagují na přítomnost složky v nosném plynu. Musí být dostatečně citlivé, aby zachytily co nejmenší obsah složky. Používá se

- tepelně vodivostní detektor - univerzální detektor, kde nosný plyn proudí přes vlákno žhavené elektrickým proudem a ochlazované na určitou teplotu (obrázek 7.3). Přítomnost složky ovlivní vodivost vlákna a tím i jeho teplotu. Obvykle se používají dvě vlákna (jedno pro nosný plyn a druhé pro čistý plyn) a z rozdílů se zjišťuje přítomnost látky. Důležitý je co největší rozdíl ve vodivosti mezi nosným plynem a analyzovanou složkou. Proto se používá vodík a helium.

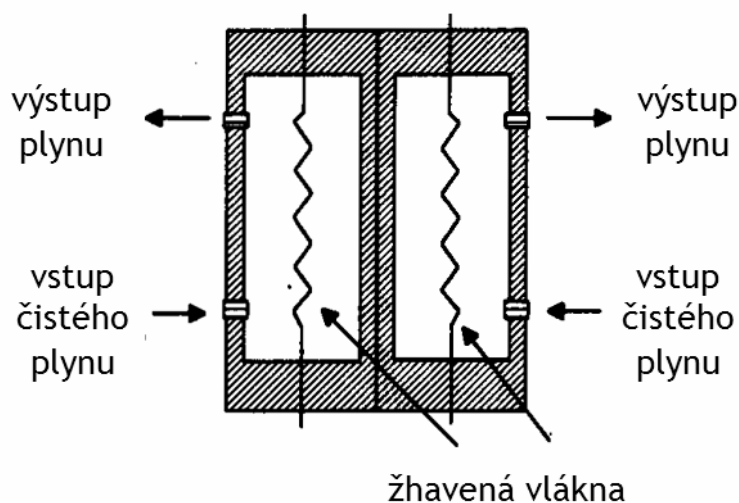
- ionizační detektory - vychází z vodivosti elektriny v plynech. Nejrozšířenějším je plamenový ionizační detektor, kdy se molekuly plynu ionizují v kyslíkovodíkovém plameni. Přítomnost složky v plynu zvýší ionizaci, která vede k nárůstu elektrického proudu. Při použití detektoru elektronového záchytu dochází k ionizaci nosného plynu pomocí β záření. Přitom uvolněné elektrony zachycují elektronegativní atomy složky. Detektor je citlivý zejména na halogeny, ale také fosfor, síru, kyslík, olovo. Jako nosný plyn se používá zejména dusík.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

- hmotnostní spektrometr - ionty jsou v hmotnostním spektrometru analyzovány, kdy lze pro každou složku získat její hmotnostní spektrum a identifikovat ji s spektrem v knihovně.



Obrázek 7.3: Tepelně vodivostní detektor.

Pracovní techniky plynové chromatografie

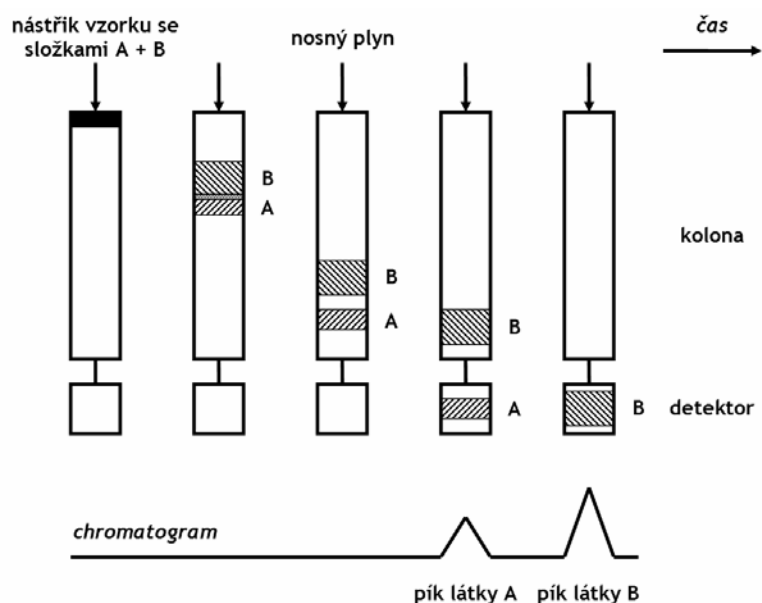
Existuje několik způsobů měření, které se liší postupem transportu analyzované směsi kolonou:

- eluční metoda - spočívá v promývání jednorázově nastříknutého vzorku nosným plynem. Vzorek se nadávkuje naráz do nosného plynu ještě před vstupem do kolony. Z ní potom vychází jako první složka, která se nejméně zachycuje na stacionární fázi. Pro každou složku je charakteristický čas, za kterou projde kolonou. Vzniklý časový chromatogram je tvořen sérií pík (obrázek 7.4). Metoda je vhodná zejména pro směsi, jejíž složky se příliš neliší.
- frontální metoda - vzorek je kontinuálně přiváděn do kolony. První z kolony odchází nejméně absorbovaná látka, postupně se přidávají další až po nejvíce absorbovanou složku. Nakonec odejde směs vzorku s nosným plynem původního složení.
- vytěšňovací metoda - jednorázové dávkování vzorku do proudu plynu ještě před kolonou. Nosný plyn je syčen vytěšňujícím činidlem (párami látky), které se sorbuje nejsilněji. Činidlo úspěšně konkuruje složkám vzorku při sorpci a tlačí tyto složky

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ



Obrázek 7.4: Eluční metoda.

před sebou. V koleně se tak uspořádají zóny od nejméně se sorbující složky po vytěšňovací činidlo. Šířka zóny roste s koncentrací dané složky.

- vakantochromatografie (inverzní chromatografie) - v sobě kombinuje frontální a eluční techniku. Analyzovaná směs prochází kolonou dokud nevytvoří dokud neustalí rovnováha mezi směsí a sorbetem. Potom se vpraví dávka čistého nosného plynu, čímž se v koloně vytvoří oblast bez sorbujících složek (vakance). Vytvořený chromatogram je inverzí vůči záznamu z evoluční metody.

Kapalinová chromatografie

Kapalinová chromatografie je jednou z chromatografických separačních (dělicích) metod, která využívá dělení látek mezi dvěma fázemi. Jedna je mobilní (pohyblivá) a druhá je stacionární (nepohyblivá). Za základ separace látek kapalinovou chromatografií lze považovat různou afinitu složek vzorku k mobilní a stacionární fázi. Čím větší afinita k stacionární fázi látka vykazuje, tím více je zbržděván její pohyb chromatografickým systémem. Postupováním vzorku kolonou se vytvářejí rovnovážné stavy na základě různých interakcí (hydrofobní, elektrostatické, interakce dipól-dipól, vodíková vazba,...) mezi vzorkem a mobilní fází, vzorkem a stacionární fází a rovněž mezi mobilní a stacionární fází.

Mezi metodami kapalinové chromatografie zaujímá významné místo technika HPLC (vysoko účinná kapalinová chromatografie nebo vysokotlaká kapalinová chromatografie). Mobilní fází je v tomto

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

případě kapalina. Stacionární fází je film příslušné látky zakotvený na povrchu nosiče nebo pevný adsorbent.

Kapalinový chromatograf tvoří zásobníky s mobilní fází, vysokotlaká pumpa, dávkovač, kolona a detektor.

Metoda HPLC existuje ve dvou modifikacích

- normální HPLC - stacionární fáze je polárnější než fáze mobilní
- reversní HPLC - mobilní fáze je polárnější než stacionární, která se používá častěji

Mobilní fáze

Mobilní fází v RP HPLC může být například voda, methanol, acetonitril a jejich směsi v různých vzájemných poměrech, pufrů a další. Zásobníky jsou skleněné láhve, kterých může být několik s navzájem různými mobilními fázemi, které je možné spolu automaticky mísit v předem zvoleném poměru. Mobilní fáze vstupuje do interakce se složkami analyzované směsi a konkrétní složení mobilní fáze může významným způsobem ovlivňovat celou analýzu (kvalitu separace).

Stacionární fáze

Stacionární fáze je tvořena mikročásticemi silikagelu ($3\ \mu\text{m}$ – $10\ \mu\text{m}$), na kterých je navázána vlastní stacionární fáze. Vlastní stacionární fáze může být tvořena například nepolárními uhlovodíky (oktan, oktadekan), anebo polárnějšími uhlovodíky s funkční skupinou ($-\text{CN}$).

Vysokotlaká pumpa

Vysokotlaká pumpa je velmi důležitou součástí HPLC aparatury. Kolony pro HPLC jsou plněny mikročásticemi (stacionární fáze), které při průchodu mobilní fáze kladou značný odpor. Z toho důvodu musí být mobilní fáze pod vysokým tlakem (až 40 MPa), aby mohla projít přes kolonu. Dostatečný tlak a konstantní průtok mobilní fáze zajišťuje právě vysokotlaká pumpa.

Kolona

Kolonu obvykle tvoří nerezová trubice o vnitřním průměru okolo 4 mm a délce 5 cm – 25 cm, která je naplněna stacionární fází. O schopnosti kolony separovat určité směsi na jednotlivé složky opět rozhoduje zejména typ stacionární fáze zakotvené na silikagelovém nosiči.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Detektor

V metodě HPLC je dostupná opět řada různých detektorů, které se liší principem funkce, konstrukcí, selektivitou, citlivostí, mezí detekce a lineárním dynamickým rozsahem (nejčastěji používaný spektrofotometrický a fluorescenční detektor). Volba detektoru závisí na konkrétní aplikaci.

Podmínkou použití těchto detektorů je, aby daná látka absorbovala záření určité vlnové délky anebo emitovala fluorescenční záření.

Mobilní fáze protéká přes vysokotlakou pumpu do kolony a následně do detektoru. Do proudu mobilní fáze je dávkován zkoušený vzorek, který je dále unášen do kolony, kde dochází k separaci jednotlivých složek. Výstup z kolony vede do detektoru, kde jsou jednotlivé složky detekovány.

Pokud je analyzovaná směs dobře rozdělena, potom každé složce směsi odpovídá jeden pík. Pro vyhodnocení chromatogramu (kvalitativní a kvantitativní analýza) platí stejné principy jako byly popsány u plynové chromatografie.

HPLC analýza je citlivá na složení a pH mobilní fáze. Výhodou HPLC je schopnost analyzovat termolabilní látky, které by při použití plynové chromatografie degradovaly a byly by tak neanalyzovatelné.

Gelová permeační chromatografie

Gelová permeační chromatografie je zvláštním typem kapalinové chromatografie, při které se separují molekuly podle své velikosti a tvaru. Patří do skupiny rozdělovacích chromatografií, kde stacionární fází je kapalina zakotvená v gelu (inertní polymerní nosič), čímž je zajištěna nemísitelnost s mobilní fází. Stejná kapalina potom tvoří i mobilní fázi protékající mezi částicemi gelu. Částice gelu mají kulovitý tvar a obsahují póry o známé velikosti. Gel nesmí obsahovat žádné absorbující skupiny ani nosiče nábojů, aby se zabránilo separaci jiným mechanismem.

Pokud je na sloupec gelu nanášena směs látek s různou velikostí molekul, tak její pohyb gelem závisí na průtoku mobilní fáze a Brownově pohybu molekul směsi, který odpovídá za jejich difúzi dovnitř a ven ze stacionární fáze. Separace jednotlivých složek směsi je tedy dána její schopností molekul procházet póry stacionární fáze. Molekuly jsou tak zpomalovány úměrně své schopnosti prostupovat částicemi gelu.

Předpokládá se, že póry jsou hodně nepravidelné. Proto důležitou roli nehraje jen jejich velikost, ale také dostupnost jednotlivých částí. Pokud jsou molekuly příliš velké, že neprojdou pórem gelu, zůstávají v mobilní fází a současně s ní se i vylučují. Uvnitř gelu mobilní fáze neproudí a tak pokud jsou molekuly uvnitř částice, nejsou unášeny proudem kapaliny. Jakmile však vydifundují ven, tak jsou odneseny mobilní fází do další gelové částice. Tak postupují všechny částice chromatografickou náplní, ale ty větší mnohem rychleji než ty menší v důsledku zpomalení. Tak se jednotlivé složky

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky.

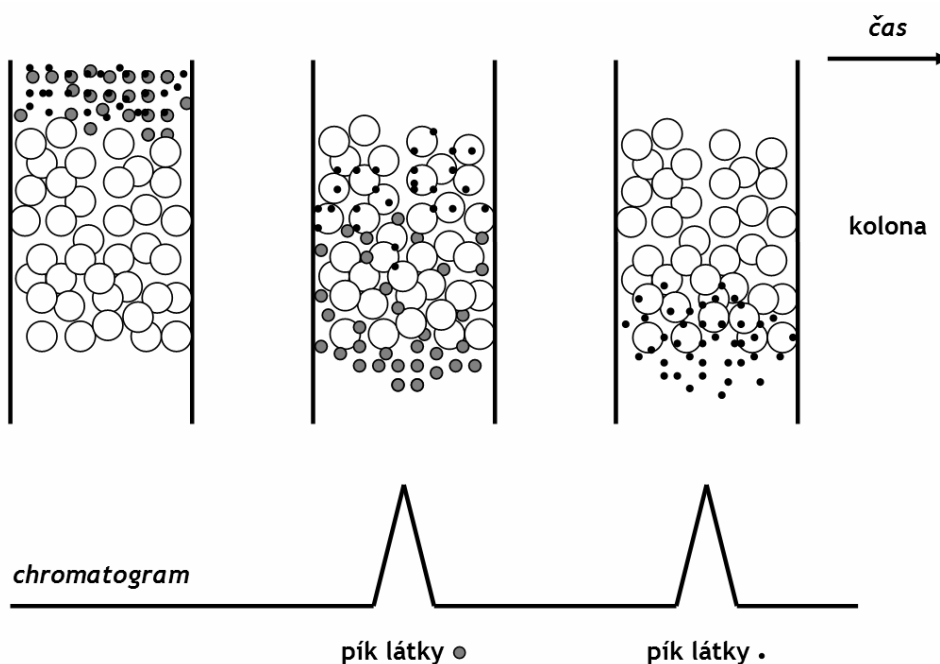


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

směsi uvolňují ze sloupce v pořadí klesající velikosti molekul (relativní molekulové hmotnosti) (obrázek 7.5).

Gelová chromatografie se nejčastěji provádí v systému voda - voda. K tomu se používají hydrofilní gely.

Hlavním úkolem gelové chromatografie je dosáhnout dokonalé separace látek ve směsi. Dobrého rozlišení lze potom dosáhnout volnou vhodných experimentálních podmínek (typem gelu, velikostí částic, rozměry sloupce, objemem vzorku či průtokovou rychlostí). Pro zajištění dobré separace by měl objem sledovaného vzorku odpovídat 1 % až 5 % chromatografické náplně.



Obrázek 7.5: Schéma gelové permeační chromatografie. Malé (nízkomolekulární) molekuly (černé) mohou volně procházet do struktury gelu (bílé), zatímco velké (vysokomolekulární) molekuly (šedé) nikoli. Proto se ty malé částice pohybují sloupcem gelu pomaleji a z kolony vychází mnohem později.

CHROMATOGRÁFIE NA TENKÉ VRSTVĚ (TLC) A PAPIŘOVÁ CHROMATOGRÁFIE (PC)

Chromatografie na tenké vrstvě (TLC) může mít stacionární fázi ve formě kapaliny zakotvené v tenké vrstvě na podložním materiálu anebo tuhá látka (adsorbent) v podobě tenké vrstvy. V obou případech je ale mobilní fází kapalina. V papírové chromatografii je mobilní fází kapalina. Stacionární fází je v PC také kapalina, ovšem zakotvena v chromatografickém papíru. Běžně se jako

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

mobilní fáze používá například cyklohexan, isopropanol, aceton, voda, toluen a další. Stacionární fázi může být silikagel, oxid hlinitý, iontoměničce a jiné. Jako podložní materiál se pro stacionární fáze používají skleněné desky nebo hliníkové fólie.

Obě analýzy se provádí stejným způsobem. Na tenkou vrstvu nebo chromatografický papír se nanese kapka analyzované směsi. Tenká vrstva (papír) se jedním koncem ponoří do mobilní fáze tak, aby výchozí pozice kapek sledované látky zůstaly nad hladinou mobilní fáze. Mobilní fáze pak vzlíná tenkou vrstvou, přičemž dochází k transportu a dělení analyzované směsi. Analýza se ukončuje, když čelo mobilní fáze dorazí do blízkosti protilehlého konce tenké vrstvy. Na vysušené vrstvě jsou patrné skvrny jednotlivých složek směsi v různé vzdálenosti od počátku, které představují chromatogram.

Kvalitativní vyhodnocení se provádí tak, že se současně s analyzovanou směsí o neznámém složení analyzuje na stejné tenké vrstvě předem připravená směs o známém složení (standard). Pokud se na chromatogramu shodují vzdálenosti jednotlivých složek od počátku v neznámé směsi a ve směsi známé, pak se jedná o tytéž látky.

Kvantitativní vyhodnocení se provádí pomocí denzitometru nebo extrakcí z chromatogramu. Ten dokáže změřit intenzitu zabarvení skvrn na chromatogramu a z ní spočítat koncentraci dané látky. Při extrakční metodě jsou jednotlivé skvrny látek extrahovány z chromatogramu do vhodného rozpouštědla a jejich koncentrace v rozpouštědle je pak určena vhodnou metodou.

Tento projekt je spolufinancován Evropským sociálním fondem
a státním rozpočtem České republiky.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ