

## 2. Kapalinová chromatografie

Vypracovala: Věra Halabalová

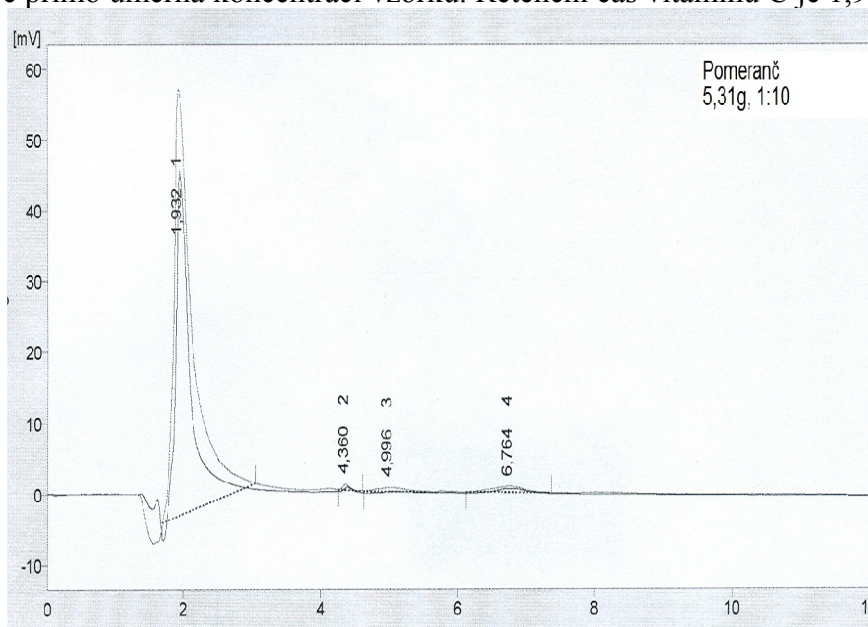
### Příklad 1

Laboratoř dostala zakázku na zjištění obsahu vitamínu C v citrusových plodech. K separaci byla použita metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie s obrácenou fází a elektrochemickou detekcí.

Izolace kyseliny askorbové ze vzorků byla provedena podle předem daného postupu, kdy 5,31g pomeranče bylo extrahováno 25 ml extrakční směsí. Do nástřikového ventilu byl dávkován filtrát vzorku zředěný v poměru 1:10.

Vášim úkolem je z přiloženého chromatogramu (*Obr.1*) a z experimentálních dat (*Tab.1*) stanovit obsah vitamínu C v ovoci. Obsah kyseliny askorbové vyjádřete v mg/100g čerstvé hmoty.

K vyhodnocení máte k dispozici rovnici kalibrační přímky  $y = 72,651x - 46,433$ , která byla sestavena za stejných chromatografických podmínek jako závislost plochy píku (mV.s) (osa y) na koncentraci vitamínu C ( $\mu\text{g/ml}$ ) (osa x). Při vyhodnocování se vychází z poznatku, že plocha píku je přímo úměrná koncentraci vzorku. Retenční čas vitamínu C je 1,93 minut.



Obr.1: Závislost odezvy detektoru na retenčním čase

| Číslo píku | Retenční čas [min] | Plocha [mV.s] | Výška [mV] | Plocha [%] | Výška [%] |
|------------|--------------------|---------------|------------|------------|-----------|
| 1          | 1,932              | 1168,238      | 60,076     | 96,1       | 96,6      |
| 2          | 4,360              | 5,499         | 0,777      | 0,5        | 1,2       |
| 3          | 4,996              | 14,484        | 0,523      | 1,2        | 0,8       |
| 4          | 6,764              | 27,354        | 0,813      | 2,3        | 1,3       |
|            | Total              | 1215,574      | 62,189     | 100,0      | 100,0     |

Tab.1: Hodnoty odečtené z chromatogramu

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



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

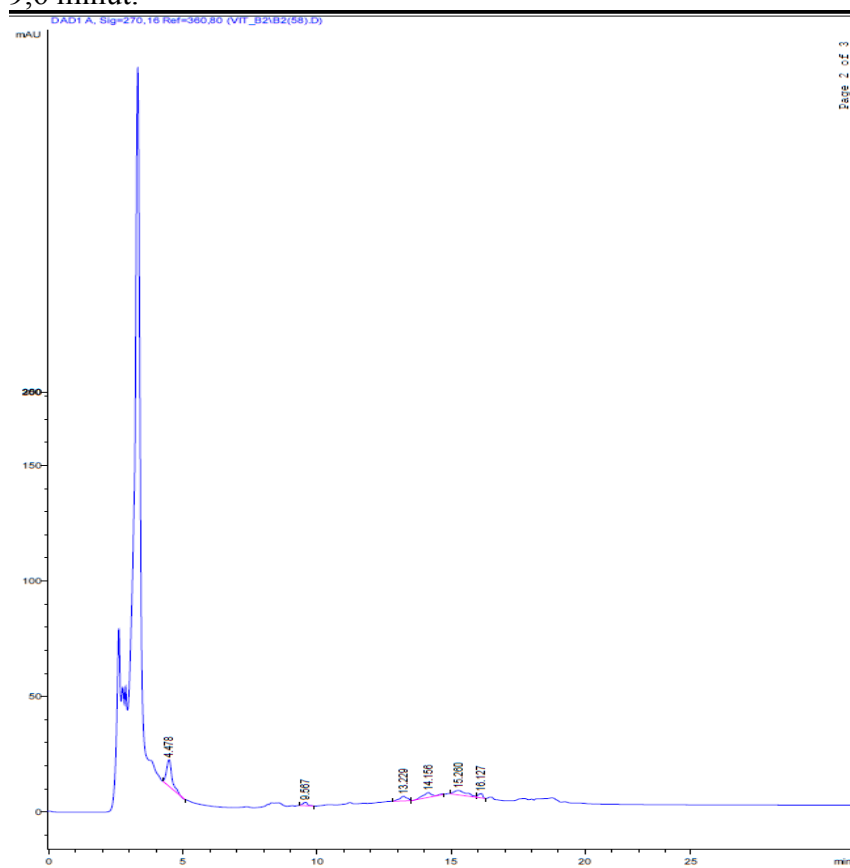
## Příklad 2

Masný průmysl požádal laboratoř o stanovení obsahu vitamínu B<sub>2</sub> v různých vzorcích jater. K separaci byla použita metoda vysoce účinné kapalinové chromatografie s obrácenou fází a UV detekcí.

Izolace riboflavinu z jater byla provedena podle předem daného postupu, kdy koncentrace byla 15,48g ve 200 ml roztoku.

Vášim úkolem je z přiloženého chromatogramu (Obr.2) a z experimentálních dat (Tab.2) stanovit obsah vitamínu B<sub>2</sub> v mg/100g čerstvé hmoty.

K vyhodnocení máte k dispozici rovnici kalibrační přímky  $y = 54,323x + 4,0756$ , která byla sestrojena za stejných chromatografických podmínek jako závislost plochy píku (A.U.\*s\*1000) (osa y) na koncentraci riboflavinu (µg/l) (osa x). Při vyhodnocování se vychází z poznatku, že plocha píku je přímo úměrná koncentraci vzorku. Retenční čas vitamínu B<sub>2</sub> je 9,6 minut.



Obr.2: Závislost odezvy detektoru na retenčním čase

| Číslo píku | Retenční čas [min] | Plocha [A.U.*s*1000] | Výška [A.U.*1000] | Plocha [%] |  |
|------------|--------------------|----------------------|-------------------|------------|--|
| 1          | 4,478              | 159,6777             | 11,5388           | 44,8497    |  |
| 2          | 9,567              | 19,0785              | 1,49455           | 5,3587     |  |
| 3          | 13,229             | 39,0225              | 2,0083            | 10,9605    |  |
| 4          | 14,156             | 50,7652              | 2,1165            | 14,2587    |  |
| 5          | 15,260             | 66,1702              | 1,9207            | 18,5856    |  |
| 6          | 16,127             | 21,3142              | 1,8665            | 5,9867     |  |

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



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

|  |       |          |         |  |  |
|--|-------|----------|---------|--|--|
|  | Total | 356,0282 | 20,9453 |  |  |
|--|-------|----------|---------|--|--|

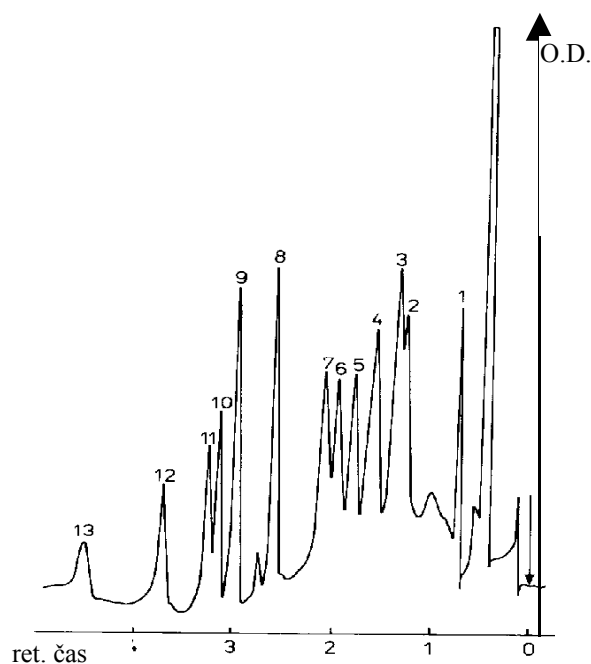
Tab.2: Hodnoty odečtené z chromatogramu

### Příklad 3

Definujte retenční čas, retenční objem, účinnost a rozlišení chromatografického separačního systému.

Z obrázku chromatogramu směsi (Obr.3):

- 1) vypočítejte účinnost chromatografické kolony z píků 8 a 12,
- 2) spočítejte rozlišení separačního systému pro píky 8 a 13,
- 3) kvalitativně (odhadem) zjistěte, které dva píky vykazují maximální rozlišení,
- 4) kvalitativně (odhadem) zjistěte, které dva píky vykazují minimální rozlišení.



Obr.3 Chromatogram

### Příklad 4

Vaším úkolem je stanovit obsah nějaké látky v dané potravíně. Napište, jak byste postupovali, kdybyste měli vypracovat metodu plynové nebo kapalinové chromatografie pro tuto analýzu a výběr metodiky zdůvodněte.

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



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ