

## Analytická informace z chromatogramu

### RESULTS

Peak	RT(min)	Height	Area	W0.5
1	4.328	0.957	7.827	0.123
2	14.256	2.547	69.946	0.448
3	17.973	3.563	127.562	0.573
4	20.127	0.657	26.181	0.672
5	28.006	1.949	112.721	0.945

#### kvalitativní informace :

poloha píku - retenční čas → retenční faktor, distribuční konstanta - druh látky (metoda standardů)

#### kvantitativní informace :

plocha píku → množství, koncentrace látky

- metoda kalibrační přímky
- metoda vnitřního standardu
- metoda standardního přídatku

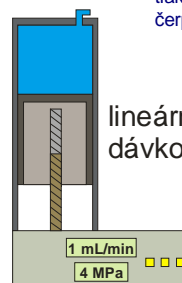
Separční metody

2.3.1996 © Pavel Coufal

Kapalinová chromatografie

## Pumpy

tlak mobilní fáze až do 40 MPa  
čerpadla nebo lineární dávkovače



lineární  
dávkovač

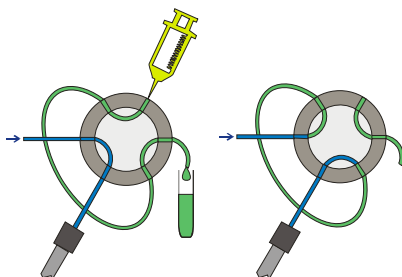
Separční metody

2.3.1996 © Pavel Coufal

Kapalinová chromatografie

## Dávkovací kohouty

mají dávkovací smyčku (dávkují se desítky  $\mu\text{L}$ )



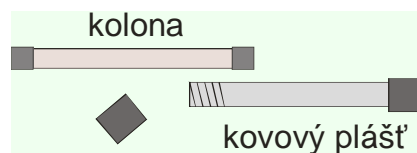
Separční metody

2.3.1996 © Pavel Coufal

Kapalinová chromatografie

## Kolony

Rovné skleněné nebo ocelové trubice o délce 10 až 25 cm a vnitřním průměru 3, 4 nebo 4,6 mm naplněné sorbentem o průměru zrn 3, 5, 7 nebo 10  $\mu\text{m}$ , který je držen v koloně pomocí frit.



kolona

kovový plášť

Separční metody

2.3.1996 © Pavel Coufal

Kapalinová chromatografie

## Stacionární fáze pro LSC

silikagel (oxid křemičitý) - polární, kyselý

alumina (oxid hlinitý) - polární, bazický

aktivní uhlí - téměř nepolární, jen zředka

## Mobilní fáze pro LSC

eluční síla roste → pentan, benzen,  
chloroform, aceton, acetonitril,  
ethanol, methanol, voda

Separční metody

2.3.1996 © Pavel Coufal

Kapalinová chromatografie

## Stacionární fáze pro LLC

a) stacionární fáze mechanicky nanesené na inertním nosiči (ethylenglycol nebo skvalan na silikagelu)

b) stacionární fáze chemicky vázané (zakotvené) na inertním nosiči (tj. silikagelu)

$\equiv\text{Si}-\text{C}_{18}\text{H}_{37}$   $-\text{C}_8\text{H}_{17}$   $-(\text{CH}_2)_3\text{C}_6\text{H}_5$  nepolární

$-(\text{CH}_2)_3-\text{CN}$   $-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2$   $-\text{O}-(\text{CH}_2)_2-\text{OH}$  polární

Separční metody

2.3.1996 © Pavel Coufal

Kapalinová chromatografie

### Mobilní fáze pro LLC

- a) chromatografie s **normálními fázemi**  
 (stacionární fáze polární a mobilní fáze nepolární)  
 pentan, heptan, chloroform a jejich směsi
- b) chromatografie s **obrácenými (reverzními) fázemi** (RP-HPLC)  
 (stacionární fáze nepolární a mobilní fáze polární)  
 methanol, acetonitril, tetrahydrofuran, voda a jejich směsi
- isokratická a gradientová eluce**

Separční metody 2.3.1996 © Pavel Coufal Kapalinová chromatografie

### Stacionární fáze pro IEC

- měníče iontů s nabitými funkčními skupinami
- COO<sup>-</sup>** **-SO<sub>3</sub><sup>-</sup>** **-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>** **-CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**
- $\text{-SO}_3\text{H}^+ + \text{Na}^+ \rightleftharpoons \text{-SO}_3\text{Na}^+ + \text{H}^+$
- $\text{-NH}_3^+\text{OH}^- + \text{NO}_3^- \rightleftharpoons \text{-NH}_3^+\text{NO}_3^- + \text{OH}^-$

### Mobilní fáze pro IEC

- roztoky anorganických kyselin a zásad  
 o dané iontové síle a daném pH

Separční metody 2.3.1996 © Pavel Coufal Kapalinová chromatografie

### Stacionární fáze pro GPC, GF, SEC

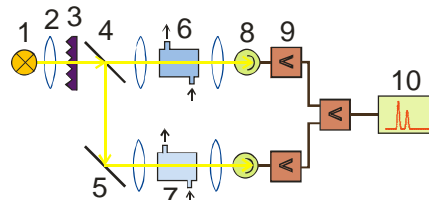
polystyren sesítovaný divinylbenzenem a silikagel o určité velikosti pórů

### Mobilní fáze pro GPC, GF, SEC

vodné pufrů (např. fosforečnanový, TRIS),  
 acetonitril a kys. trifluoroctová (TFA)

Separční metody 2.3.1996 © Pavel Coufal Kapalinová chromatografie

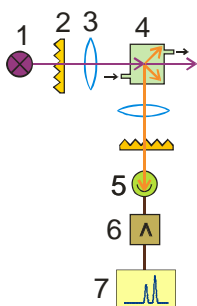
### Absorpční fotometrický detektor



- |                         |                   |
|-------------------------|-------------------|
| 1 světelný zdroj        | 6 měrná cela      |
| 2 čočka                 | 7 referenční cela |
| 3 monochromátor         | 8 fotonásobič     |
| 4 polopropustné zrcadlo | 9 zesilovač       |
| 5 zrcadlo               | 10 zapisovač      |

Separční metody 2.3.1996 © Pavel Coufal Kapalinová chromatografie

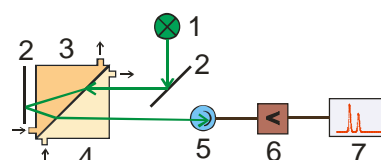
### Fluorimetrický (fluorescenční) detektor



- |                  |
|------------------|
| 1 světelný zdroj |
| 2 monochromátor  |
| 3 čočka          |
| 4 měrná cela     |
| 5 fotonásobič    |
| 6 zesilovač      |
| 7 zapisovač      |

Separční metody 2.3.1996 © Pavel Coufal Kapalinová chromatografie

### Refraktometrický detektor



- |                   |               |
|-------------------|---------------|
| 1 zdroj světla    | 5 fotonásobič |
| 2 zrcadlo         | 6 zesilovač   |
| 3 měrná cela      | 7 zapisovač   |
| 4 referenční cela |               |

Separční metody 2.3.1996 © Pavel Coufal Kapalinová chromatografie

