

OBSAH:

1	HISTORIE A VÝVOJ KAPALINOVÉ CHROMATOGRRAFIE	17
1.1	OD PRVNÍCH SEPARACÍ K VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFII.....	17
1.2	VÝVOJ VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRRAFIE V NOVÉM MILÉNIU	22
2	ZÁKLADNÍ POJMY CHROMATOGRAFICKÉ SEPARACE	24
2.1	POPIS RETENCE V CHROMATOGRAFICKÉM SYSTÉMU.....	27
2.2	POPIS SELEKTIVITY V CHROMATOGRAFICKÉM SYSTÉMU	31
2.3	POPIS ÚČINNOSTI V CHROMATOGRAFICKÉM SYSTÉMU.....	32
2.3.1	<i>Tvar chromatografického píku.....</i>	<i>32</i>
2.3.2	<i>Popis symetrie chromatografického píku.....</i>	<i>34</i>
2.3.3	<i>Účinnost chromatografického systému.....</i>	<i>36</i>
2.3.4	<i>Dynamická van Deemterova teorie.....</i>	<i>39</i>
2.3.5	<i>Mimokolonové příspěvky k rozmývání eluční zóny.....</i>	<i>46</i>
2.4	POPIS ROZLIŠENÍ.....	49
2.4.1	<i>Rozlišení chromatografických píků.....</i>	<i>49</i>
2.4.2	<i>Vliv jednotlivých parametrů rovnice rozlišení na chromatografickou separaci.....</i>	<i>50</i>
2.5	SEPARACE S VYUŽITÍM GRADIENTOVÉ ELUCE	53
2.5.1	<i>Parametry chromatografické separace při gradientové eluci.....</i>	<i>53</i>
2.5.2	<i>Praktické aspekty a výhody gradientové eluce.....</i>	<i>57</i>
2.5.3	<i>Určení času zpoždění gradientu.....</i>	<i>59</i>
3	INSTRUMENTACE V HPLC	60
3.1	OBECNÉ SCHÉMA KAPALINOVÉHO CHROMATOGRAFU.....	60
3.2	TRANSPORT MOBILNÍ FÁZE.....	61
3.2.1	<i>Zásobníky mobilní fáze.....</i>	<i>61</i>
3.2.2	<i>Odplynění mobilní fáze.....</i>	<i>62</i>
3.2.3	<i>Vysokotlaká čerpadla současné HPLC instrumentace.....</i>	<i>64</i>
3.2.4	<i>Oplach pístů HPLC čerpadel.....</i>	<i>72</i>
3.2.5	<i>Ostatní typy vysokotlakých čerpadel.....</i>	<i>73</i>
3.2.6	<i>Tvorba gradientu mobilní fáze.....</i>	<i>76</i>
3.3	DÁVKOVÁNÍ VZORKU	79
3.3.1	<i>Vývoj metod pro dávkování vzorku.....</i>	<i>80</i>
3.3.2	<i>Automatické dávkovače - autosamplery.....</i>	<i>81</i>
3.3.3	<i>Nástřikové systémy s pevnou smyčkou.....</i>	<i>83</i>
3.3.4	<i>Nástřikové systémy s průtočnou jehlou.....</i>	<i>86</i>
3.3.5	<i>Konfigurace automatických dávkovačů pro dávkování vzorků.....</i>	<i>88</i>
3.3.6	<i>Nádoby pro dávkování vzorků - vialky.....</i>	<i>89</i>
3.4	CHROMATOGRAFICKÉ KOLONY PRO HPLC.....	91

3.4.1	<i>Konstrukce chromatografické kolony</i>	92
3.4.2	<i>Charakteristika náplně chromatografické kolony</i>	93
3.4.3	<i>Termostatování kolony a teplotní gradient</i>	94
3.5	DETEKCE V HPLC	97
3.5.1	<i>Odezva detektoru</i>	99
3.5.2	<i>Šum a drift</i>	100
3.5.3	<i>Spektrofotometrické detektory</i>	102
3.5.4	<i>Fluorescenční detektory</i>	108
3.5.5	<i>Chemiluminiscenční detekce</i>	112
3.5.6	<i>Refraktometrické detektory</i>	118
3.5.7	<i>Elektrochemické detektory</i>	120
3.5.8	<i>Vodivostní detektory</i>	127
3.5.9	<i>Bezkontaktní vodivostní detektory</i>	130
3.5.10	<i>Univerzální detektory na bázi aerosolu</i>	133
3.5.11	<i>Hmotnostně spektrometrická detekce</i>	137
3.6	DERIVATIZACE V HPLC	144
3.6.1	<i>Předkolonová derivatizace</i>	145
3.6.2	<i>Postkolonová derivatizace</i>	145
4	STACIONÁRNÍ FÁZE	152
4.1	PARAMETRY CHARAKTERIZUJÍCÍ STACIONÁRNÍ FÁZE	153
4.2	SILIKAGEL	157
4.3	CHEMICKY VÁZANÉ STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI SILIKAGELU	163
4.3.1	<i>Chemická stabilita silikagelových stacionárních fází</i>	166
4.3.2	<i>Stacionární fáze s chemicky vázanými alkylovými řetězci</i>	168
4.3.3	<i>Stacionární fáze modifikované aromatickými funkčními skupinami</i>	171
4.3.4	<i>Fluorované stacionární fáze</i>	171
4.3.5	<i>Chemicky vázané stacionární fáze s kombinovaným ligandem</i>	175
4.3.6	<i>Diolová stacionární fáze</i>	176
4.3.7	<i>Stacionární fáze s aminopropylovou a kyanopropylovou skupinou</i>	177
4.3.8	<i>Problematika volných silanolových skupin</i>	178
4.3.9	<i>Silikagelové stacionární fáze pro separace s vodnými mobilními fázemi</i>	181
4.4	STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI OXIDŮ KOVŮ	186
4.4.1	<i>Oxid hlinitý</i>	186
4.4.2	<i>Oxid zirkoničitý</i>	188
4.5	STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI ORGANICKÝCH POLYMERŮ	190
4.6	STACIONÁRNÍ FÁZE PRO IONTOVĚ VÝMĚNNOU CHROMATOGRAPHII	192
4.6.1	<i>Měníče aniontů - anexy</i>	193
4.6.2	<i>Měníče kationtů - katexy</i>	194
4.7	HYBRIDNÍ STACIONÁRNÍ FÁZE	196
4.7.1	<i>Hybridní stacionární fáze s ethylenovými můstky</i>	197
4.7.2	<i>Hybridní stacionární fáze připravené povrchovou modifikací</i>	199

4.7.3	<i>Hybridní stacionární fáze vícemodálního charakteru</i>	202
4.8	STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI GRAFITOVÉHO UHLÍKU	206
4.9	VÍCEMODÁLNÍ STACIONÁRNÍ FÁZE	209
4.9.1	<i>Bimodální stacionární fáze</i>	210
4.9.2	<i>Trimodální stacionární fáze</i>	211
4.9.3	<i>Vícemodální stacionární fáze na bázi organického polymeru</i>	212
4.9.4	<i>Hybridní vícemodální stacionární fáze</i>	213
5	CHROMATOGRAFICKÉ SYSTÉMY	215
5.1	SYSTÉMY S NORMÁLNÍMI FÁZEMI (NP-HPLC).....	218
5.1.1	<i>Princip retence v systémech s normálními fázemi</i>	218
5.1.2	<i>Stacionární fáze pro chromatografii na normálních fázích</i>	219
5.1.3	<i>Mobilní fáze a elutopní řada</i>	219
5.1.4	<i>Popis retence v systémech s normálními fázemi</i>	222
5.1.5	<i>Využití chromatografie na normálních fázích</i>	224
5.2	SYSTÉMY S REVERZNÍMI FÁZEMI (RP-HPLC).....	225
5.2.1	<i>Princip retence v systémech s reverzními fázemi</i>	225
5.2.2	<i>Stacionární fáze v systému reverzních fází</i>	225
5.2.3	<i>Mobilní fáze v systému reverzních fází</i>	226
5.2.4	<i>Popis retence v systémech s reverzními fázemi</i>	227
5.2.5	<i>Ovlivnění retence v systémech s reverzními fázemi</i>	228
5.2.6	<i>Bezvodý systém na reverzních fázích</i>	232
5.2.7	<i>Využití chromatografie na reverzních fázích</i>	232
5.3	IONTOVĚ VÝMĚNNÁ CHROMATOGRAFIE (IEC)	233
5.3.1	<i>Princip a popis retence v iontově výměnné chromatografii</i>	233
5.3.2	<i>Stacionární fáze pro iontově výměnnou chromatografii</i>	236
5.3.3	<i>Mobilní fáze v iontově výměnné chromatografii</i>	236
5.3.4	<i>Využití iontově výměnné chromatografie</i>	237
5.4	HYDROFILNÍ INTERAKČNÍ CHROMATOGRAFIE (HILIC).....	238
5.4.1	<i>Princip retence v hydrofilní interakční chromatografii</i>	238
5.4.2	<i>Stacionární fáze pro hydrofilní interakční chromatografii</i>	240
5.4.3	<i>Mobilní fáze v hydrofilní interakční chromatografii</i>	245
5.4.4	<i>Popis retence v hydrofilní interakční chromatografii</i>	248
5.4.5	<i>Ovlivnění retence v hydrofilní interakční chromatografii</i>	250
5.4.6	<i>Rozpouštědlo vzorku v hydrofilní interakční chromatografii</i>	253
5.4.7	<i>Výhody a nevýhody metody hydrofilní interakční chromatografie</i>	254
5.4.8	<i>Využití metody hydrofilní interakční chromatografie</i>	255
5.5	HYDROFOBNÍ INTERAKČNÍ CHROMATOGRAFIE (HIC)	256
5.5.1	<i>Princip retence v hydrofobní interakční chromatografii</i>	256
5.5.2	<i>Stacionární fáze pro hydrofobní interakční chromatografii</i>	257
5.5.3	<i>Ovlivnění retence v hydrofobní interakční chromatografii</i>	258
5.5.4	<i>Využití hydrofobní interakční chromatografie</i>	260
5.6	VÍCEMODÁLNÍ CHROMATOGRAFIE (MIXED-MODE CHROMATOGRAPHY).....	261

5.6.1	<i>Princip separace a popis retence ve vícemodální chromatografii</i>	261
5.6.2	<i>Stacionární a mobilní fáze ve vícemodální chromatografii</i>	262
5.6.3	<i>Ovlivnění retence ve vícemodální chromatografii</i>	262
5.6.4	<i>Využití a výhody vícemodální chromatografie</i>	264
5.7	IONTOVĚ PÁROVÁ CHROMATOGRAFIE	267
5.7.1	<i>Princip retence s využitím iontově párové chromatografie</i>	267
5.7.2	<i>Využití iontově párové chromatografie</i>	270
5.8	MICELÁRNÍ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE A MICELÁRNÍ ELEKTROKINETICKÁ CHROMATOGRAFIE	272
5.8.1	<i>Micelární kapalinová chromatografie</i>	274
5.8.2	<i>Využití micelární kapalinové chromatografie</i>	276
5.8.3	<i>Micelární elektrokinetická chromatografie</i>	277
5.8.4	<i>Spojení micelární elektrokinetické chromatografie s hmotnostní spektrometrií</i>	281
5.8.5	<i>Využití micelární elektrokinetické chromatografie</i>	282
5.9	AFINITNÍ CHROMATOGRAFIE	283
5.9.1	<i>Princip retence v afinitní chromatografii</i>	283
5.9.2	<i>Popis a ovlivnění retence v afinitní chromatografii</i>	284
5.9.3	<i>Praktické provedení afinitní chromatografie</i>	285
5.9.4	<i>Typy nosiče v afinitní chromatografii</i>	287
5.9.5	<i>Ligandy v afinitní chromatografii</i>	289
5.9.6	<i>Využití afinitní chromatografie</i>	290
5.10	MOLEKULOVÁ VYLUČOVACÍ CHROMATOGRAFIE (SEC)	291
5.10.1	<i>Princip retence v molekulové vylučovací chromatografii</i>	291
5.10.2	<i>Stacionární fáze v molekulové vylučovací chromatografii</i>	293
5.10.3	<i>Mobilní fáze v molekulové vylučovací chromatografii</i>	296
5.10.4	<i>Využití molekulové vylučovací chromatografie</i>	297
5.11	CHIRÁLNÍ CHROMATOGRAFIE	303
5.11.1	<i>Separace enantiomerů</i>	305
5.11.2	<i>Mechanismy chirální separace</i>	306
5.11.3	<i>Typy chirálních stacionárních fází a jejich interakce</i>	307
5.11.4	<i>Separační módy v chirální chromatografii</i>	309
5.11.5	<i>Optimalizace chirální separace</i>	310
5.11.6	<i>Polysacharidové chirální stacionární fáze</i>	313
5.11.7	<i>Cyklodextrinové chirální stacionární fáze</i>	320
5.11.8	<i>Makrocyclická antibiotika</i>	323
5.11.9	<i>Chirální stacionární fáze na bázi cyklických polyetherů</i>	325
5.11.10	<i>Glykoproteinové chirální stacionární fáze</i>	328
5.11.11	<i>Chirální separace založené na ligandové výměně</i>	330
5.11.12	<i>Využití chirální chromatografie</i>	331
6	SOUČASNÉ TRENDY V KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFII	332
6.1	ULTRA-VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (UHPLC)	333
6.1.1	<i>Účinnost UHPLC separace</i>	333

6.1.2	<i>Instrumentace v UHPLC</i>	335
6.1.3	<i>Stacionární fáze pro UHPLC</i>	340
6.1.4	<i>Přenos metody z HPLC na UHPLC</i>	343
6.1.5	<i>Využití a výhody metody UHPLC</i>	347
6.2	POVRCHOVĚ PORÉZNÍ ČÁSTICE	348
6.2.1	<i>Specifika povrchově porézních částic</i>	348
6.2.2	<i>Účinnost povrchově porézních částic</i>	349
6.2.3	<i>Stacionární fáze s povrchově porézními částicemi</i>	351
6.2.4	<i>Výhody, nevýhody a využití povrchově porézních částic</i>	353
6.3	MONOLITICKÉ KOLONY	355
6.3.1	<i>Anorganické monolity na bázi silikagelu</i>	356
6.3.2	<i>Monolity na bázi organického polymeru</i>	359
6.3.3	<i>Monolitické vícemodální fáze</i>	361
6.4	VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE PŘI VYSOKÉ TEPLOTĚ (HTLC)	362
6.4.1	<i>Účinnost separace v HTLC</i>	364
6.4.2	<i>Popis retence v HTLC</i>	365
6.4.3	<i>Instrumentace v HTLC</i>	366
6.4.4	<i>Využití a výhody HTLC</i>	368
6.5	SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE	369
6.5.1	<i>Nadkritické tekutiny jako mobilní fáze</i>	370
6.5.2	<i>Účinnost separace v superkritické fluidní chromatografii</i>	373
6.5.3	<i>Instrumentace v superkritické fluidní chromatografii</i>	375
6.5.4	<i>Stacionární fáze v superkritické fluidní chromatografii</i>	377
6.5.5	<i>Spojení superkritické fluidní chromatografie s hmotnostní detekcí</i>	378
6.5.6	<i>Využití metody superkritické fluidní chromatografie</i>	379
6.6	DVOUROZMĚRNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE	381
6.6.1	<i>Koncept dvourozměrných separací</i>	381
6.6.2	<i>Experimentální uspořádání 2D LC</i>	385
6.6.3	<i>Vlastnosti vzorků a volba separačních systémů</i>	387
6.6.4	<i>Gradientová eluce při úplné 2D LC analýze</i>	389
6.6.5	<i>Zpracování a vyhodnocení dat</i>	390
6.6.6	<i>Současné trendy v 2D LC</i>	392
6.7	MINIATURIZACE V KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFII	394
6.7.1	<i>Mikrokapalinová a nanokapalinová chromatografie</i>	394
6.7.2	<i>Kapalinová chromatografie na čipu</i>	397
6.7.3	<i>3D tisk v kapalinové chromatografii</i>	400
6.7.4	<i>Kolony na bázi mikrosloupečků</i>	402
7	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	403