

OBSAH:

1	ZÁKLADNÍ POJMY CHROMATOGRAFICKÉ SEPARACE	11
1.1	ZÁKLADNÍ CHROMATOGRAFICKÉ CHARAKTERISTIKY	12
1.1.1	Retenční charakteristiky.....	12
1.1.2	Účinnost chromatografické kolony.....	14
1.2	ROZMÝVÁNÍ ELUČNÍ ZÓNY A JEHO PŘÍČINY	18
1.2.1	Dynamická van Deemterova teorie	19
1.2.2	Mimokolonové příspěvky	24
1.3	CHROMATOGRAFICKÁ SEPARACE A JEJÍ OVLIVNĚNÍ	25
1.4	GRADIENTOVÁ ELUCE	29
2	INSTRUMENTACE V HPLC	32
2.1	OBECNÉ SCHÉMA KAPALINOVÉHO CHROMATOGRAFU	32
2.2	TRANSPORT MOBILNÍ FÁZE.....	33
2.2.1	Odplynění mobilní fáze.....	33
2.2.2	Tlumiče tlakových pulsů	35
2.2.3	Vysokotlaká čerpadla.....	36
2.2.4	Tvorba gradientu mobilní fáze.....	42
2.3	DÁVKOVÁNÍ VZORKU.....	44
2.3.1	Vysokotlaké dávkovací ventily.....	44
2.3.2	Automatické dávkovače - autosamplery	45
2.4	KOLONY	49
2.4.1	Konstrukce kolony	50
2.4.2	Tok mobilní fáze kolonou	51
2.4.3	Teplotní gradient a termostatování kolon	54
2.5	DETEKČNÍ SYSTÉMY	57
2.5.1	Odezva detektoru	59
2.5.2	Šum a drift.....	60
2.5.3	Spektrofotometrické detektory.....	61
2.5.4	Fluorescenční detektory.....	64
2.5.5	Elektrochemické detektory.....	66
2.5.6	Univerzální detektory na bázi aerosolu.....	70
2.5.7	Refraktometrické detektory.....	73
2.5.8	Vodivostní detektory.....	75
2.5.9	Bezkontaktní vodivostní detektory.....	78
2.5.10	Hmotnostně spektrometrická detekce.....	80
2.5.11	Chemiluminiscenční detekce.....	87

2.6	DERIVATIZACE V HPLC	93
2.6.1	Předkolonová derivatizace	94
2.6.2	Postkolonová derivatizace	94
2.6.3	Tok mobilní fáze reaktorem	95
2.6.4	Tvorba derivátů vznikajících reakcí s činidly v kapalně fázi	96
2.6.5	Reakce vyvolaná změnou pH před vstupem do detektoru	97
2.6.6	Derivatizační reakce v systému kapalina tuhá látka	98
2.6.7	Fotochemické derivatizační reakce (působením UV záření)	98
2.6.8	Elektrochemická derivatizace	100
3	STACIONÁRNÍ FÁZE	101
3.1	SILIKAGEL	102
3.2	CHEMICKY VÁZANÉ FÁZE NA BÁZI SILIKAGELU	106
3.2.1	Fáze s chemicky vázanými alkyly	108
3.2.2	Fáze s chemicky vázanou aminopropylovou a kyanopropylovou skupinou	109
3.2.3	Diolová fáze	110
3.2.4	Nitrofenylová a pentafluorfenylpropylová fáze	110
3.2.5	Chemicky stabilní silikagelové fáze	111
3.2.6	Silikagelové fáze pro separace s mobilními fázemi s vysokým obsahem vody	116
3.3	STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI KOVOVÝCH OXIDŮ	120
3.3.1	Oxid hlinitý	120
3.3.2	Oxid zirkoničitý	121
3.4	POLYMERNÍ STACIONÁRNÍ FÁZE	122
3.4.1	Polystyrendivinybenzen (PS-DVB)	122
3.4.2	Anorganické nosiče pokryté polymerem	123
3.4.3	Ostatní polymerní stacionární fáze	124
3.5	HYBRIDNÍ STACIONÁRNÍ FÁZE	124
3.6	STACIONÁRNÍ FÁZE NA BÁZI GRAFITOVÉHO UHLÍKU	127
4	CHROMATOGRAFICKÉ SYSTÉMY	129
4.1	SYSTÉMY S NORMÁLNÍMI FÁZEMI (NP-HPLC)	129
4.1.1	Princip retence na normálních fázích	129
4.1.2	Stacionární fáze pro chromatografii na normálních fázích	130
4.1.3	Mobilní fáze a elutopická řada	130
4.1.4	Aplikace chromatografie na normálních fázích	134
4.2	SYSTÉMY S REVERZNÍMI FÁZEMI (RP-HPLC)	134
4.2.1	Princip retence na reverzních fázích	134
4.2.2	Aplikace chromatografie na reverzních fázích	140
4.3	IONTOVĚ VÝMĚNNÁ CHROMATOGRAFIE (IEC)	141
4.3.1	Princip retence v IEC	141
4.3.2	Stacionární fáze pro IEC	144
4.3.3	Aplikace IEC	145

4.4	MOLEKULOVÁ VYLUČOVACÍ CHROMATOGRRAFIE (SEC).....	146
4.4.1	Princip retence v SEC	146
4.4.2	Parametry charakterizující gelové lože.....	147
4.4.3	Vlastnosti gelů	150
4.4.4	Nejčastěji používané stacionární fáze.....	152
4.4.5	Charakteristika polydisperzity lineárních homopolymerů.....	154
4.4.6	Aplikace SEC.....	155
4.5	HYDROFILNÍ INTERAKČNÍ CHROMATOGRRAFIE (HILIC).....	157
4.5.1	Mechanismus retence v HILIC	157
4.5.2	Stacionární fáze pro HILIC	158
4.5.3	Výhody metody HILIC.....	163
4.5.4	Aplikace metody HILIC	164
4.6	VÍCEMODÁLNÍ CHROMATOGRRAFIE (MIXED-MODE CHROMATOGRAPHY).....	165
4.6.1	Princip separace.....	165
4.6.2	Stacionární fáze.....	165
4.6.3	Výhody a aplikace vícemodální chromatografie	168
4.7	IONTOVĚ PÁROVÁ CHROMATOGRRAFIE.....	169
4.7.1	Princip retence s využitím iontové párové chromatografie	169
4.7.2	Aplikace iontové párové chromatografie.....	173
4.8	MICELÁRNÍ CHROMATOGRRAFIE A MICELÁRNÍ ELEKTROKINETICKÁ CHROMATOGRRAFIE.....	174
4.8.1	Micelární kapalinová chromatografie	176
4.8.2	Micelární elektrokinetická chromatografie.....	178
4.8.3	Aplikace MEKC.....	182
4.9	AFINITNÍ CHROMATOGRRAFIE	183
4.9.1	Princip retence v afinitní chromatografii.....	183
4.9.2	Vazebné a eluční podmínky.....	185
4.9.3	Typy matrice v afinitní chromatografii	187
4.9.4	Ligandy.....	188
4.9.5	Aplikace afinitní chromatografie	190
4.10	HYDROFOBNÍ INTERAKČNÍ CHROMATOGRRAFIE (HIC)	191
4.10.1	Princip retence v HIC.....	191
4.10.2	Ovlivnění retence v HIC.....	192
4.10.3	Stacionární fáze pro HIC.....	193
4.10.4	Aplikace a problémy HIC.....	194
4.11	CHIRÁLNÍ CHROMATOGRRAFIE	195
4.11.1	Separace enantiomerů.....	197
4.11.2	Mechanismy chirální separace.....	198
4.11.3	Výběr CSP a optimalizace chirální separace	199
4.11.4	Makrocyclická antibiotika.....	204
4.11.5	Polysacharidové CSPs.....	206
4.11.6	Cykloextrinové CSPs.....	210
4.11.7	Glykoproteinové CSPs.....	213
4.11.8	Crown-etherové CSPs	215

4.11.9	Chirální separace založené na ligandové výměně	218
4.11.10	Aplikace chirální chromatografie	220
5	SOUČASNÉ TRENDY V KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFII	221
5.1	ULTRA-VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (UHPLC)	221
5.1.1	Účinnost UHPLC separace	221
5.1.2	Instrumentace v UHPLC	223
5.1.3	Stacionární fáze pro UHPLC	224
5.1.4	Přenos metody z HPLC na UHPLC	225
5.2	VYSOKOÚČINNÁ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE PŘI ZVÝŠENÉ TEPLOTĚ (HTLC)	229
5.2.1	Instrumentace v HTLC	230
5.2.2	Účinnost HTLC separace	232
5.3	POVRCHOVĚ PORÉZNÍ ČÁSTICE	234
5.3.1	Specifika povrchově porézních částic	234
5.3.2	Účinnost povrchově porézních částic	235
5.3.3	Výhody, nevýhody a aplikace povrchově porézních částic	237
5.4	MONOLITICKÉ KOLONY	239
5.4.1	Anorganické monolity	239
5.4.2	Polymerní monolity	240
5.4.3	Účinnost separace monolitických kolon	241
5.5	SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE	244
5.5.1	Nadkritická mobilní fáze	244
5.5.2	Účinnost SFC separace	245
5.5.3	Instrumentace v SFC	246
5.5.4	Příklady SFC separací a budoucnost SFC	247
5.5.5	Superkritická fluidní chromatografie na malých částicích	248
5.6	DVOUDIMENZIONÁLNÍ KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (2D-LC)	251
5.6.1	Dvourozměrná LC-LC: možnosti uspořádání	251
5.6.2	Kapacita separace, selektivita a ortogonalita 2D systémů	254
5.6.3	Volba separačních systémů a pracovních podmínek pro komprehensivní 2D-LC	258
5.6.4	Kompatibilita systémů v první a druhé dimenzi	259
5.6.5	Příklady aplikací 2D HPLC	260
5.7	MINIATURIZACE V KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFII	262
5.7.1	Mikrokapalinová a nanokapalinová chromatografie	262
5.7.2	Kapalinová chromatografie na čipu	265
6	LITERATURA	268