

OBSAH

Předmluva	19
Poděkování	22

ČÁST VŠEOBECNÁ

Historické poznámky a přehled referátů (I. M. Hais)	25
---	----

Objevení chromatografie M. S. Cvětem	25
Zavedení rozdělovací chromatografie	26
Kapilární analýsa	28
Další rozvoj papírové chromatografie	31
Papírová chromatografie v Československu	32
Články a knihy o papírové chromatografii	33

Principy a klasifikace chromatografických typů se zřetelem ke chromatografii na papíře (I. M. Hais)	35
---	----

Princip chromatografie	35
Typy podle způsobu vyvíjení chromatogramu	36
Typy podle povahy sil mezi dělenými látkami a mezi fází nehybnou a protékající	38
1. Adsorpční chromatografie	38
2. Rozdělovací chromatografie	39
3. Chromatografie výměny iontů	41
Srážecí chromatografie	42
4. Chemická chromatografie	42
5. Vysolovací chromatografie	43
6. „Elektrochromatografie“	43
Elektrokinetická ultrafiltrační chromatografie	43
7. Magnetická chromatografie	44
8. Kombinace různých principů	44

Theorie chromatografie (A. Tockstein)	45
---	----

1. Úvod	45
2. Podmínka zachování hmoty v chromatografii	46
3. Řešení a diskuse rovnice (5)	49
4. Diferenční řešení rovnice (5)	56
5. Vznik a povaha separačních funkcí	61
Adsorpce	61
Vliv struktury látek na jejich chování při adsorpční chromatografii	63
Výměna iontů	64
Rozdělení mezi dvě kapalně fáze	64

Vliv struktury organické sloučeniny na její chování při rozdělovací chromatografii	65
Vliv disociace a asociace na rozdělovací koeficient	68
Vliv rozpouštědla na chování látek při rozdělovací chromatografii	69
6. Některé dodatky k teorii chromatografie	70
Směs látek	70
Theorie nerovnovážných stavů	70
<i>Technika chromatografie na papíře — Všeobecné poznámky (I. M. Hais)</i>	72
Nanášení vzorků	73
Komora a její atmosféra	75
Regulace teploty	78
Techniky s různým směrem toku pohyblivé fáze	79
Sestupné uspořádání	79
Nádoby na rozpouštědla	79
Zábradlíčko	81
Stojánek (lešení) pro žlab	81
Sestupná chromatografie „na přetečení“	83
Vzestupné (vzlínavé) uspořádání	83
Srovnání sestupných a vzlínavých method	87
Vodorovné uspořádání	88
Kruhové (radiární) metody	88
Jiná vodorovná uspořádání	92
„Automatická“ papírová chromatografie	93
Sušení chromatogramů	93
Detekční metody	94
Fysikální způsoby detekce	94
Absorpce záření	94
Absorpce ultrafialového záření	95
Fluorescence	96
Index lomu a polarisace	98
Elektrické a magnetické vlastnosti	98
Detekce po provedení chemické reakce nebo po aplikaci činidel	98
Všeobecná technika aplikace činidel	99
Páry a plyny	99
Koupání	99
Nanesení činidla štětcem	99
Vložení mezi potřené desky	99
Postřík rozprašovačem	99
Obtiskování	101
Tečková detekce ježkem	101
Detekce elektrickým proudem	101
Zahřívání	101
Několik příkladů obecněji použitelných detekčních činidel	102
Acidobasické indikátory	102
Oxydace a redukce	102
Reakce s jodem	103
Reakce s bromem	103
Reakce s chlorem	103
Jod - azidová reakce na síru	103

Detekce organických látek kationty kovů	103
Detekce kopulací s diazoniovými solemi (V. Vítek)	104
Enzymatické a biologické metody detekce	106
1. Enzymologické metody	106
2. „Bioautografické“ metody na základě růstu nebo inhibice růstu (V. Schuh)	106
3. Hormonové účinky	107
4. Motorické funkce	108
Uchovávání papírových chromatogramů	108
Kvalitativní hodnocení chromatogramu — Význam R_F	108
Definice R_F	109
Vlivy na R_F	109
Význam R_F	113
Poruchy a vady při chromatografii	115
Skvrny adsorpčního typu — Tvorba ocasů	115
Opožděné stíny	117
Předvoje (rychlé stíny) a vousy	118
Prstencové skvrny	118
Dvorce	118
Snižování R_F při vyšší koncentraci látky	119
Skvrny na startu	119
Šmouhy od startu k vlastní skvrně	120
Podélně protáhlé skvrny	120
Vykousnuté skvrny	121
Dvoji skvrny téže látky	121
Difusnost některých částí chromatogramu	122
Jazyky od čel	122
Příčné skvrny	123
Difuse do stran	123
Stromečky	124
Výběr rozpouštědlových soustav	124
Požadavky na rozpouštědlovou soustavu	124
Příklad vyhledávání rozpouštědlové soustavy	126
Výběr nosiče rozpouštědlové fáze	128
Struktura celulosy	128
Sorpce kapaliny	129
Papír pro chromatografii (R. Konop)	130
Výroba filtračního papíru	130
Některé vlastnosti filtračního papíru vhodného pro chromatografii a jeho vláken	131
Porovnání nejpoužívanějších papírů	132
Škodlivé vlivy nečistot v papíře a jejich případná dodatečná eliminace	134
Tvar papíru (I. M. Hais)	135
Impregnované a modifikované papíry (K. Slavík, V. Jiráček, I. M. Hais)	136
1. Impregnace solemi	137
2. Napojení polárnějším organickým rozpouštědlem	138
3. Napojení méně polárním organickým rozpouštědlem	138
4. Impregnace anorganickým adsorbentem	139
5. Impregnace komplexem	140

6. Impregnace invertním mýdlem, výměnnými pryskyřicemi, bílkovinou	140
7. Papíry chemicky pozměněné	140
Plošné materiály jiné než papír	141
Dvourozměrná chromatografie	141
Opakované vyvíjení (několikastupňová chromatografie)	144
Vymývání z papíru (K. Slavík, V. Jiráček)	146
Kvantitativní hodnocení	149
Methody in situ	150
Stanovení podle plošné velikosti skvrn	150
Absorpce světla středem skvrny	152
Absorpce světla celou skvrnou	152
Součin plošné velikosti skvrny a světelné absorpce středu skvrny	153
Visuální odhad intensity (a velikosti) skvrn	153
Fluorescence in situ	154
Titrace in situ	154
Retenční analýza	155
Methody po eluci	156
Kolorimetrie, fluorimetrie a u. f. spektrální fotometrie po eluci skvrny	156
Polarografie (P. Zuman)	156
Příprava vzorku	158
Frakcionace a čištění vzorku	158
Bílkoviny	158
Anorganické soli	159
Lipoidní látky	160
Cukry	160
Močovina	160
Převedení složek vzorku na jejich deriváty	160
<i>Chromatografie na celuloze ve větším měřítku (M. Kutáček)</i>	162
Sloupce prášků	162
Volba celulosového materiálu	163
Příprava sloupce	163
Příklady použití sloupců z celulosového prášku	164
Stohy, svazky a svitky filtračních papírů	164
Chromatografický stoh (chromatopile)	164
Svitky a svazky papíru	167
Použití papíru pro větší množství vzorku — Tlustý papír a chromatografický karton	167
Pomocné nanášecí zařízení	168
<i>Použití papírové chromatografie v některých pracovních oborech</i>	169
Použití v organické synthese (Ž. Procházka)	169
Použití v klinické chemii (K. Slavík)	173
Použití v endokrinologii (I. M. Hais)	175

ČÁST SPECIÁLNÍ

<i>Aminokyseliny a peptidy</i>	177
Všeobecná methodika pro aminokyseliny (I. M. Hais)	177
Detekce	178

A. Obecné metody pro většinu aminokyselin	178
Ninhydrin	178
Jiné metody	181
B. Specifické metody pro některé aminokyseliny	181
Rozpouštědlové soustavy	184
Soustavy určené pro celkovou analýsu aminokyselin	184
Soustavy vhodné pro rozpoznání některých skupin	199
Rozpoznání některých aminokyselin podle reakcí provedených před chromatografií	202
Kyselá hydrolysa	202
Enzymová hydrolysa	202
Oxydace	202
Tvorba měďnatých komplexů	203
Příprava vzorku	203
Elektrolytický odsolovač	203
Použití iontoměničů	206
Kvantitativní analýsa aminokyselin (Z. Franc)	206
A. Přímé stanovení aminokyselin na papíře	207
I. Stanovení podle velikosti skvrn	207
II. Stanovení podle intensity barvy	207
III. Stanovení podle velikosti skvrny a intensity barvy	208
B. Stanovení po rozdělení na papíře a eluci	209
I. Vymytí aminokyseliny	209
II. Stanovení aminokyseliny detekcí na papíře a změřením eluovaného barviva	210
Aplikace papírové chromatografie aminokyselin	210
Některé aplikace papírové chromatografie aminokyselin pro kontrolu frakcionačních postupů a neenzymových chemických reakcí (I. M. Hais)	210
Aminokyseliny v rostlinném materiálu (M. Kutáček, J. Koloušek)	212
Chromatografická methodika	212
Příprava vzorku	212
Výskyt aminokyselin v rostlinném materiálu	213
Přehled aplikací	213
Aminokyseliny plísní, kvasinek, bakterií a virů (I. M. Hais)	216
Volné aminokyseliny v živočišném materiálu (A. Ženíšek)	218
Volné aminokyseliny v krvi a tkáních	218
Methodika	218
Aplikace pro analýsu aminokyselin v krvi	220
Aplikace pro analýsu aminokyselin ve tkáních	221
Volné aminokyseliny v moči	222
Methodika	222
Aplikace pro analýsu aminokyselin v moči	222
Jiné tekutiny tělní (kromě krve a moči)	228
Volné aminokyseliny u různých živočišných druhů	229
Entomologické aplikace	229
Jiní živočichové (kromě ssavců a hmyzu)	229
Aminokyseliny v živočišných bílkovinách (Z. Franc)	230
Bílkoviny tkání	230
Protaminy, histony a bílkoviny buněčných frakcí	230

Skleroproteiny a bílkoviny pojivové tkáně	230
Vaječné bílkoviny	231
Bílkoviny krve a moči	231
Bílkoviny sekretů	232
Enzymy	232
Proteohormony	232
Živočišné toxiny	232
Výzkum přeměn aminokyselin (V. Jiráček, K. Slavík)	232
Tvorba aminokyselin	232
Transaminační reakce	233
Deaminační reakce	233
Synthesa peptidů	233
Transpeptidační reakce	233
Utilisace aminokyselin	233
Trávení a vstřebávání bílkovin	233
Štěpení peptidů	234
Dekarboxylace aminokyselin	234
Metabolismus tryptofanu	234
Metabolismus basických aminokyselin	234
Metabolismus aminokyselin obsahujících síru	234
Peptidy (V. Jiráček, K. Slavík)	235
Chromatografické chování peptidů	235
Detekce peptidů	235
Chromatografické soustavy	235
Použití papírové chromatografie k systematickému dělení peptidů, kontrole čistoty a neenzymových reakcí	235
Peptidy v přirozeném biologickém materiálu	238
Chemický výzkum struktury bílkovin a peptidů (V. Jiráček, K. Slavík)	239
Některé metody využívající papírové chromatografie	239
Totální hydrolysa a analýza	240
Oxydační štěpení kyselinou permravní	241
Parciální hydrolysa	241
Parciální hydrolysa kyselinami	241
Enzymatická hydrolysa	242
Metody předběžné frakcionace	242
Určování koncových aminokyselin s volnou aminoskupinou	243
Metoda převedení v dinitrofenylderiváty	243
Metody převedení v acylderiváty	246
Deaminační metoda	247
Metoda redukční methylace	248
Určování koncových aminokyselin s volným karboxylem	248
Metoda redukce	248
Postupné odbourávání peptidových řetězců od aminového konce	249
Fenylisokyanátová a fenylisothiokyanátová metoda	249
Reakce se sirouhlíkem	250
Působení xantháty	251
Postupné odbourávání od karboxylového konce	251
Odbourávání karboxypeptidázou	251

Dekarboxylace a současná methoxylace anodickou oxydaci	251
Thiohydantoinová metoda	252
Příklady výzkumu struktury peptidů a bílkovin	252
Insulin	253
Jiné proteohormony	254
Vlna	254
Protaminy a histony	255
Krevní bílkoviny	255
Vaječné bílkoviny	255
Jiné bílkoviny	256
Některé peptidy vyskytující se v přírodě	256
<i>Bílkoviny a enzymy</i> (K. Macek, K. Slavík, V. Jiráček)	258
Detekce	261
Bílkoviny	261
Enzymy	261
Vyvíjení	262
Aplikace	265
<i>Cukry</i> (K. Macek)	266
Vliv konstituce na hodnoty R_F	266
Odstranění rušících látek	268
Detekce (K. Macek, D. Rybář)	270
A) Jednoduché cukry	271
1. Látky redukovatelné	271
2. Fenoly	272
3. Aromatické aminy	273
B) Substituované cukry a cukerné deriváty	273
Fosforečné estery	273
Methylované cukry	274
Aminocukry	274
Cukerné alkoholy	274
Cukerné kyseliny	274
Cukerné laktony	275
Desoxycukry, glykaly a methylpentosy	276
Vyvíjení	276
Vliv teploty	278
Techniky vyvíjení	279
A) Jednoduché cukry a oligosacharidy	279
Jednoduché cukry	279
Oligosacharidy	282
B) Substituované cukry a cukerné deriváty	283
Fosforečné estery	283
Methylované cukry	284
Aminocukry	284
Cukerné alkoholy	285
Cukerné kyseliny	285
Cukerné laktony	285
Desoxycukry, glykaly a methylpentosy	285

Kvantitativní analýsa	286
Stanovení přímo na papíře	286
Stanovení v eluátu skvrn	286
Titrační metody	286
Kolorimetrické metody	287
Aplikace	288
Rostliny	288
Mikroby	289
Živočichové	289
Enzymatické reakce	289
Použití v laboratořích cukrů	290
Polysacharidy	290
Aplikace	293
Rostlinné polysacharidy	293
Polysacharidy mikroorganismů	294
Polysacharidy u živočichů	294
Enzymatické reakce	294
<i>Alkoholy, aldehydy a ketony (K. Macek)</i>	295
Alkoholy	295
3,5-Dinitrobenzoáty	296
Xanthogenáty	296
Hydroxamáty	296
Aplikace	296
Aldehydy a ketony	296
Alifatické aldehydy a ketony	297
Aromatické aldehydy	298
Aplikace	298
<i>Organické kyseliny (K. Macek)</i>	299
Mastné kyseliny	301
Hydroxykyseliny, dikarbonové, trikarbonové a aromatické kyseliny	304
Detekce	305
Rozpouštědlové soustavy	305
Kvantita	308
Ketokyseliny	308
Aplikace	309
Enzymatické reakce	309
Živočišný materiál	310
Rostliny	310
Ostatní aplikace	310
<i>Fenolické látky (Ž. Procházka)</i>	311
Fenolické látky kromě flavonoidních	311
Detekce	311
Rozpouštědlové soustavy	312
Aplikace	317
Flavonoidní látky	319
Detekční činidla	320
Soustavy rozpouštědel	320
Vztah struktury a R_F	325

<i>Některá barviva</i> (M. Kutáček)	328
Porfyriny a jejich deriváty	328
Dělení volných porfyrinů	328
Dělení methylesterů porfyrinů	328
Aplikace	330
Porfyriny	330
Barviva žlučová a listová	330
Pteridiny a akridiny	330
Pteridiny	330
Aplikace	332
Akridiny	333
Karotenoidy a jiná ve vodě nerozpustná barviva	333
Azobarviva a některá jiná syntetická barviva	333
Barviva a fluorescentní látky neznámé konstituce	334
<i>Steroidy a některé jiné málo polární látky</i> (O. Siblíková-Zbudovská)	335
Detekční reakce	335
Reakce založené na fyzikálních vlastnostech látek samých	335
Reakce založené na chemických vlastnostech steroidů	336
Detekce málo specifické	336
Detekce skupinové	337
Ostatní způsoby detekcí	337
Rozpouštědlové systémy	337
Rozdělovací princip	338
Polárnější stacionární fáze	338
Převážně vodná stacionární fáze	338
Polární organické rozpouštědlo jako stacionární fáze	341
Méně polární stacionární fáze, „obrácení fází“	343
Po předběžné impregnaci	343
Bez předběžné impregnace	343
Adsorpční princip	344
Impregnovaný papír	344
Bez impregnace	345
Přehled probraných soustav	345
Aplikace	347
Steroly	347
Steroidní kyseliny a zásady	348
Přirozené estrogy	348
Syntetické estrogy	350
Gestageny	350
Androgeny a „17-ketosteroidy“	350
Kortikoidy	351
Steroidní glykosidy a jejich geniny (F. Horák)	352
Některé jiné lipofilní látky (F. Horák)	353
Minerální oleje	353
Terpenové látky	353
Kondensované polycyklické sloučeniny	354
Fosfatidy a cerebrosidy	354
Jiné hydrofobní sloučeniny	355

<i>Puriny, pyrimidiny, dusíkaté složky nukleových kyselin (Z. Pádr)</i>	356
Složky nukleových kyselin	356
Štěpení nukleových kyselin	356
a) Štěpení na purinové a pyrimidinové base	356
b) Štěpení na mononukleotidy	357
c) Štěpení na nukleosidy	357
Detekce	357
Chemické způsoby	357
Využití absorpce u. f. světla	358
Bioautografie	358
Detekce cukerné složky a kyseliny fosforečné	359
Rozpouštědla	359
Na základě alifatických alkoholů	359
Kyselá rozpouštědla	360
Dvoufázové soustavy Carterovy	361
Stanovení rozdělených látek	361
Aplikace	361
Řešení struktury nukleových kyselin	363
Adenosinpolyfosforečné kyseliny	364
Thiouracil	364
Barbituráty	364
Kyselina močová	365
<i>Alkaloidy (D. Rybář, Č. Michalec, K. Macek)</i>	366
Methodika	366
Detekce	366
Rozpouštědlové soustavy	367
Nemísitelné rozpouštědlové soustavy	367
Impregnované papíry	368
Jiné soustavy	369
Kvantita	370
Aplikace	371
Námelové alkaloidy (K. Macek)	373
<i>Různé jiné aminy (M. Kutáček, V. Rábek, M. Vondráček)</i>	375
Methodika	375
Detekce	375
Rozpouštědlové soustavy	375
Aplikace	378
Alifatické aminy	378
Cholin; dusíkaté složky fosfoaminolipidů	379
Aralkylaminy	379
Aminy odvozené od imidazolu a jiných heterocyklů	380
Aromatické aminy, PAS, PAB, kynurenin, sulfonamidy	380
Močovina	381
Jaffé - pozitivní látky a kreatin (V. Rábek)	384
<i>Vitaminy a růstové faktory (V. Schuh)</i>	386
Vitaminy rozpustné v tucích	386
Vitamin A	386
Vitamin D	386
Vitamin E	386

Kyselina askorbová a příbuzné látky (Ž. Procházka)	387
Thiamin	390
Detekce	390
Rozpouštědla a použití	391
Kyselina α -lipoová	392
Riboflavin (I. M. Hais)	393
Detekce	393
Rozpouštědlové soustavy	393
Použití	395
Skupina pyridoxinu	395
Biotin	396
Kyselina pantothenová	396
Kyselina <i>p</i> -aminobenzoová	397
Kyselina listová a příbuzné růstové faktory	398
Kyselina nikotinová	399
Skupina vitaminu B ₁₂	400
Detekce	400
Dělení a stanovení	401
Použití	403
Pokusy o rozřešení konstituce vitaminu B ₁₂	403
Různé růstové faktory mikroorganismů	403
Neidentifikované růstové faktory	403
Auxiny a faktory podněcující ke klíčení	404
Látky podněcující vývojové změny u živočichů	404
<i>Antibiotika</i> (M. Dohnal)	405
Penicilin	405
Komora	405
Druh papíru	406
Tvar a umístění papíru	406
Pufry	408
Nanášení vzorků	408
Vyvíjení	408
Detekce a stanovení	409
Použití	410
Analýsa hydroxamových kyselin získaných z penicilinů	410
Streptomycin	410
Neomycin, katenulin, antimyciny	411
Tetracyklinová antibiotika	411
Chloramfenikol (M. Dohnal, I. M. Hais)	411
Fytoncidy	412
Peptidová antibiotika (I. M. Hais, M. Dohnal)	413
<i>Anorganické látky</i> (B. Kakáč)	415
Úvod	415
Methodika	418
Detekce	418
Rozpouštědlové soustavy	420
Vliv minerální kyseliny obsažené v rozpouštědlové soustavě	421
Závislost R_F na počtu uhlíků alkoholu v rozpouštědlové soustavě	423

Rozdílné rozpouštědlo k sycení a vyvíjení	424
Opakované vyvíjení a dvojrozměrná chromatografie	424
Kvantita	424
Polarografie	425
Spektrální fotometrie	426
Aplikace	427
Kationty	427
Anionty	428
Závěr	429
<i>Radioaktivní a isotopy značkové látky (I. M. Hais)</i>	430
Methodika	430
Všeobecné poznámky	431
Methody fotografické	431
Methody radiometrické	432
Analyticko-chemické aplikace	434
1a. Dělené látky jsou samy radioaktivní	435
1b. Přídavek radioaktivní sloučeniny k analysovanému vzorku	435
1c. Methody dvojité značkové isotopových derivátů („I ¹³¹ , S ³⁵ - pipsyl-methody“)	435
1d. Chromatografie komplexů s radioaktivní mědí	436
2a. Působení značkového činidla na chromatogram	437
2b. Aktivační analýza chromatogramu	437
Aplikace pro stopovací pokusy	438
Jod	438
Brom	440
Fosfor	440
Síra	441
Uhlík	441
Fotosynthesa, metabolismus zelených rostlin	441
Bakterie, kvasinky a plísně	443
Živočichové	444
Dokončení frakcionace a kontrola syntetických nebo biosyntetických produktů s C ¹⁴	445
Vodík	445
Draslík a vápník	446
Železo a kobalt	446
Stálé isotopy (N ¹⁵)	446

IONTOFORESA A ELEKTROFORESA NA PAPIŘE (Č. Michalec, I. M. Hais)

<i>Methodika</i>	447
Umístění vlhkého papírového proužku	448
Vlhká komůrka	448
Mezi deskami	450
Ponoření papíru do nevodivé kapaliny	450
Srovnání tří způsobů umístění papíru	451
Výběr papírového nosiče	451
Způsob nanášení vzorků	451

Elektrody a elektrodové prostory	452
Napětí a doba trvání proudu	453
Volba elektrolytu	453
Způsob odkrytí látek	454
Stanovení oddělených látek nebo frakcí	455
Hodnocení po eluci	456
Plynulé metody pro preparační dělení	456
Sloupcové metody pro preparaci	456
Elektroreoforesa a protiproudová kontinuální elektroforesa	457
Iontoforesa ve dvou rozměrech	460
Adsorpce a kombinace elektroforesy a chromatografie	460
Výpočet pohyblivosti	462
Posun elektrolytu k elektrodám	463
<i>Použití iontoforesy a elektroforesy na papíře pro různé skupiny látek</i>	<i>464</i>
Aminokyseliny a peptidy	464
Bílkoviny	465
Bílkoviny krevní	466
Technika elektroforesy a detekce	466
Označování jednotlivých bílkovinných frakcí	466
Adsorpce bílkovin	466
Kvantitativní hodnocení	467
Sera různých živočišných druhů	469
Charakteristické nálezy u patologických ser	469
Lipoproteiny	470
Bílkoviny jiných tkání a tekutin	470
Preparativní dělení bílkovin	470
Enzymy	471
Cukry	471
Organické kyseliny a fenoly	471
Steroidy a jiné málo polární látky	472
Barviva	472
Složky nukleových kyselin	472
Organické zásady	473
Vitaminy	473
Antibiotika	474
Anorganické látky	474
Radioaktivní a neobvyklé stálé isotopy	475
NÁVODY (K. Macek)	479
Detekční činidla (D)	479
Soustavy rozpouštědel (S)	498
LITERATURA	510
Přehled dodatku bibliografie	678
SEZNAM TABULEK	685
SEZNAM OBRÁZKŮ	688
REJSTŘÍK (A. Ženíšek)	693