



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

## Studijní materiál

# Principy chromatografie v analýze potravin živočišného původu

Vypracoval: RNDr. Ivana Borkovcová, Ph.D.



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

### Principy chromatografie v analýze potravin živočišného původu

Kapalinovou chromatografií dnes v každodenní praxi využívá většina analytických laboratoří. Metoda, která má mnoho podob, je cenným analytickým pomocníkem a poskytuje velmi zajímavé výsledky, pokud analytik disponuje potřebnými znalostmi a zkušenostmi. Používá se při kontrole technologických procesů, kde je alternativní a/nebo doplňující k spektrofotometrickým nebo fluorimetrickým metodám, při kontrole potravin, vykazuje dostatečnou selektivitu a citlivost, nutnou pro detekci minoritních komponent, vyhovuje přísným pravidlům pro stanovení MLR, která byla nastavena pro většinu potravinových produktů. Souží také pro odhalení a potvrzení falšování potravin,

Ve výzkumné oblasti jsou používány složité sektorové a tandemové chromatografické systémy vysokým rozlišením, používané např. pro určení struktury sledovaných látek, jejich metabolitů a složitých fyziologických pochodů a biochemických drah.

Za zakladatele chromatografie je považován M. S. CVET

Základní pojmy a parametry chromatografického systému jsou: mobilní fáze, stacionární fáze, sorbent, chromatografická kolona, dále automatický dávkovač, termostat kolon, detektor. U kapalinové chromatografie pak vysokotlaké čerpadlo, u plynové chromatografie zdroj nosného plynu. Funkce přístrojů, sběr a vyhodnocování dat jsou řízeny příslušným softwarem. Výstupem je chromatografický záznam, na kterém sledujeme základní chromatografické charakteristiky: retenční čas, plochu (výšku) píku, nulová linie, účinnost separace.

Kvalita separace je dána převážně účinností chromatografické kolony.

Vyjádření účinnosti kolony: teoretické patro, výškový ekvivalent teoretického patra, píková kapacita, symetrie píku, rozlišení.

Základní vztah v chromatografii – van Deemterova křivka.

Izokratické provedení a gradientová eluce

Odezva detektoru

Šum a drift

Derivatizace: pre column, post column

#### **Klasifikace chromatografických metod**

Podle povahy mobilní fáze

kapalinová, plynová

Podle způsobu separace

adsorpční, rozdělovací, vytěšňovací, iontově-výměnná, iontová (IC), afinitní, gelová

Podle účelu

analytická (kvalitativní, kvantitativní)

preparativní

#### **Podle prostorového uspořádání**



evropský  
sociální  
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,  
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání  
pro konkurenceschopnost



## INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

plošná– všechny druhy TLC<sub>2</sub> (papírová, tenkovrstvá)  
sloupcová – kolonová chromatografie

Stacionární fáze v kapalinové chromatografii

Silikagel

Chemicky vázané fáze na silikagelu

Polymerní stacionární fáze

Hybridní stacionární fáze

Chromatografické systémy

HP-HPLC

RP- HPLC

IEC

SEC

HILIC

Iontově párová

Afinitní

HIC

Chirální

HPLC, UHPLC, povrchově porézní částice

### **Vyhodnocování výsledků**

Kvalitativní hodnocení – k identifikaci látek používáme retenčních časů nebo retenčních objemů. Dále – specifické detektory, např. MS, NMR, pomocí jichž získaná spektra poskytují detailní údaje o struktuře molekuly a její molekulové hmotnosti

### Kvantitativní hodnocení

Nalezení vztahu mezi plochou (výškou, minimálně a jen u symetrických a úzkých píků) píku a množstvím eluované látky

Porovnání se standardem, komparativní metoda

ESTD = metoda kalibrační křivky, nejjednodušší

ISTD = metoda vnitřního standardu

Standardní přídavek, metoda přídavku standardu. Přídavek té stejné látky, která má být stanovena ke vzorku. Jeden přídavek, vícenásobný přídavek.