Chem. Listy *105*, 285−314 (2011) Bulletin

ZAMYŠLENÍ NAD CHROMATOGRAFIÍ

JAROSLAV JANÁK

Renneská 21, 639 00 Brno

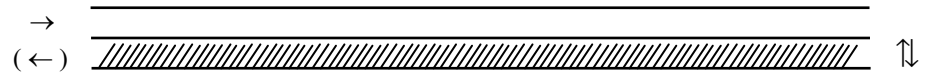
Co je chromatografie a co ovlivnila

Definice IUPAC 1993, *65*, 823; O.B. 92; 1990, *62*, 2179 říká: "Chromatography is a physical method of separation in which the components to be separated are distributed between two phases, one of which is stationary (stationary phase) while the other (the mobile phase) moves in a definite direction". Přednosti a nedostatky přijaté definice jsou patrné z diskuse principů a metod chromatografických a analogických technik (viz tabulka I).

Chromatografie je dnes považována za významné odvětví separačních metod. Má svůj ucelený teoretický základ, rozvinutou metodologii i pokročilou instrumentaci. Posunula výrazně meze detekce látek i manipulace s nimi, jakož i jejich spektrum. Lze analyzovat či preparovat látky od nejlehčích plynů až po homologické polymery, biomolekuly, buňky, viry či částice, často i s přihlédnutím k isotopové, isomerní, iontové či chirální povaze, ba i k velikosti a tvaru. Ovlivňuje výrazně metodickou úroveň chemického výzkumu a kontroly v řadě úseků základních věd, jako je chemie, biologie či medicína. Dokázala řešit řadu problémů v aplikované sféře, jako je kontrola životního prostředí, jakost potravin, čistota či metabolizace léčiv, některé otázky kriminalistiky, vesmírného programu i řízení některých chemických výrob (petrochemie apod.). Vyvolala i vznik průmyslové výroby nové třídy vědeckých a měřicích přístrojů.

Její vývoj určují dva milníky: Objev učiněný M. S. Cvetem (1872–1919) v letech 1903/1906 a zavedení principu rozdělovací (partition) chromatografie a konceptu teoretického patra A. J. P. Martinem (1910–2002) v roce 1941. Vývoj mezi Cvětem a Martinem lze nazvat klasickou érou chromatografie, charakterizovanou použitím

Tabulka I
Principy a metody chromatografie a analogických technik



Směr toku (rovnováhy)	Fáze	Chromatografie
→	kapalina	"Cvetova"
	plyn	papírová
	superkritické fluidum	tenkovrstevní
	elektrický tok	plynová
		superkritická fluidní
		elektro
←	sorbent	hypersorpce
→	kapalina	protiproudné roztřepávání
		„denuder"
↓ ↑	adsorpce	kapalina – pevná látka (gel)
		plyn – pevná látka
		superkritické fluidum – pevná látka
	chemisorpce	ionto-výměnná
		afinitní
		tvorba komplexů
	absorpce (rozdělování)	kapalina – kapalina
		plyn – kapalina
	omezená difuze	gelová exkluse
	fyzikální pole	frakcionace tokem
		v silovém poli

Tabulka II
Základní realizační typy chromatografické separace

Rovnováha (izoterma)	Provedení experimentu	Formát experimentu	Spřažené techniky
lineární nelineární	zónové (eluční) frontální vytěsňovací	kolona drážka plocha	vícerozměrné kombinace se spektrálními metodami

adsorbentů a postupným vylepšováním, často pokusem a chybou. Údobí po Martinovi lze kvalifikovat jako inspirativní vývoj chromatografie. Rozdělovací princip znamenal přechod od dvojrozměrného povrchu adsorbentu k trojrozměrnému prostoru v kapalné fázi obklopující sorbovanou molekulu. To znamenalo dalekosáhlou linearizaci užitné části sorpčních isoterem a velké rozšíření možných sorpčních médií s různými sorpčními vlastnostmi. Koncept teoretického patra pak umožnil hodnocení rozlišovací schopnosti.

Podobně prosazení plynové chromatografie (1952) otevřelo cestu k rozvoji teoretického popisu díky ideálnějšímu chování molekul v plynném stavu. Zvládnutí její teorie přispělo nejen ke zvýšení separačního výkonu z úrovně nejvýše set teoretických pater klasických verzí k 10^6 pater nových variant (viz tabulka I), ale vyvolalo také znovuzrození kapalinové chromatografie a dalších technik na vyšší úrovni. Vývoj chromatografie ovšem není izolovaný proces. Probíhá současně s vývojem dalších separačních a spektrálních metod, zejména s elektroforézou a hmotnostní spektrometrií. Ty se vzájemně ovlivňují nebo dokonce hybridizují. Charakter příslušné isotermy pak ovlivňuje i provedení a formát chromatografického experimentu (viz tabulka II).

Chromatografii charakterizují v podstatě tyto hlavní procesy: sorpce, distribuce mezi alespoň dvěma fázemi, difuze a přenos hmoty, přičemž tyto procesy jsou porušovány tokem nebo pohybem fáze či fází.

Co dále může chromatografie přinést

Chromatografie, jak ji obecně chápeme, byla a stále je **objektem** výzkumu. Výsledkem je vznik plejády různých variant chromatografických a analogických metod. Tento proces zřejmě není zdaleka ukončen. Najde se určitě velké množství dalších praktických aplikací a bude vyvinuto mnoho užitečných konkrétních metod, chybí však ještě další základní výzkum: např. membránové separace jsou ještě nedostatečně prozkoumaná oblast; miniaturizace na úroveň nanočástic se nepochybně setká se specifickými silami a vlivy atd.

Chtěl bych zdůraznit i jiné pojetí – chromatografické procesy jako **subjekt** výzkumu v hraničních situacích. Nemíním tím využití chromatografické analýzy směsí vstupujících či vystupujících z nějaké reakce. Jde o definování a užití hlavních v chromatografii zvládnutých či studovaných procesů, tj. dynamická sorpce, distribuce mezi fázemi, difuze a přestup hmoty ve fázích i přes jejich rozhraní jako prostředek poznávání procesů v živé, organické, ale i anorganické sféře přírody. Zde je možno dosáhnout netradičních přístupů k objasňování řady přírodních stavů a řešení řady lidských potřeb.

Je mnoho mezifází kolem nás (plicní tkáň, ledvinové, střevní, tepenné membrány, kůže, vlasy, povrchy rostlinných objektů apod.), které jsou v dynamické či porušované rovnováze s okolím. Zatímco analýza rovnováhy těkavých látek mezi krví a alveolálním vzduchem nebo analýza látek v moči, jako svědků situace v organismu, se již užívají pro svou diagnostickou hodnotu, obrácená analýza vhodně volenými testovacími reagenty zvenčí skýtá bohatou paletu výběru a specifičtější volbu prostředků k posouzení kvality (zdravotního stavu) mezifáze. Tolik k živé přírodě.

Uvážíme-li vliv času geologických rozměrů, pak i difuze v pevné fázi, nepatrná rozpustnost či velmi pomalé chemické reakce se mohou manifestovat a mohou se nám jevit v uchopitelné podobě (iontová výměna při formování a metamorfóze migrujících hlubinných vod, frakcionace při tvorbě a migraci kapalných živic, superkritické fluidní procesy, příp. jen extrakce přehřátou parou za vyšších tlaků v horkých hlubinách země, frakcionace sedimentů v říčních korytech nebo v mořích či jezerech). Tolik k neživé přírodě.

Závěry v obecné rovině

Nové ideje obvykle vznikají, když intuice pracuje se solidním základem znalostí a zkušeností. Základní poznatek v době vzniku vypadá často jako speciální kuriozita. Dobrá teorie ověřená pokusem je schopna ovlivnit vývoj vědy i techniky.

Tyto úvahy o chromatografii ozřejmují vztah mezi základním a aplikovaným výzkumem a jeho posloupností. V druhé polovině 20. století produkce vědeckých, metodických a technických prací vzrostla. Z dřívější úrovně několika jednotek až desítek prací za rok stoupla až na několik tisíc prací za rok. Vznikly nejméně 4 mezinárodní a oborové časopisy s vysokým impaktním faktorem. V roce 2010 bylo publikováno přes 2000 prací zabývajících se chromatografií.

Poznámka redakce:

Prof. Jaroslav Janák patří k průkopníkům chromatografických metod v naší zemi a patří k nejznámějším a uznávaným reprezentantům české chromatografické školy.