

**100. VÝROČÍ OBJEVU CHROMATOGRRAFIE****Život a dílo M. S. Cvěta****EVA SMOLKOVÁ-KEULEMANSOVÁ**

*Katedra analytické chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Albertov 2030, 128 40 Praha 2  
e-mail: Smolkova.Eva@seznam.cz*

Došlo 15.12.02, přepracováno 3.1.03, přijato: 6.1.03.

---

Klíčová slova: M. S. Cvět, chromatografie, historie objevu

---

**Obsah**

1. Úvod
2. Život M. S. Cvěta
3. Badatelská činnost – historie objevu
4. Předchůdci, současníci, oponenti
5. Pokračovatelé, nositelé Nobelových cen
6. Závěr

**1. Úvod**

Většina významných objevů je založena na hluboké znalosti problému (teoretické i experimentální) a navazuje na dílčí kroky, provedené předchozími badateli. Bez významu ve vědě není ani intuice a podíl fantazie. Nebývá také obvyklé určovat zrod vědeckého objevu jedním dnem. V případě chromatografie je celosvětovou odbornou veřejností jako objevitel uznáván M. S. Cvět (viz obr. 1) a její zrod je datován 21. březnem 1903, kdy na zasedání biologické sekce varšavské přírodovědné společnosti přednesl referát, který je jednoznačně uváděn jako počátek chromatografie. Přes počáteční nedůvěru a kritiku Cvětových současníků zaznamenala tato metoda, zejména od 50. let minulého století, ohromný rozvoj, její význam přesáhl hranice chemie a dnes zasahuje do mnoha oblastí přírodovědeckých, lékařských, technických i ekologie.

Je proto oprávněné si po sto letech znovu připomenout osobnost M. S. Cvěta, jeho životní dráhu, okolnosti, za kterých pracoval, výsledky jeho badatelské činnosti a rozsah i dosah jeho objevu.

**2. Život M. S. Cvěta**

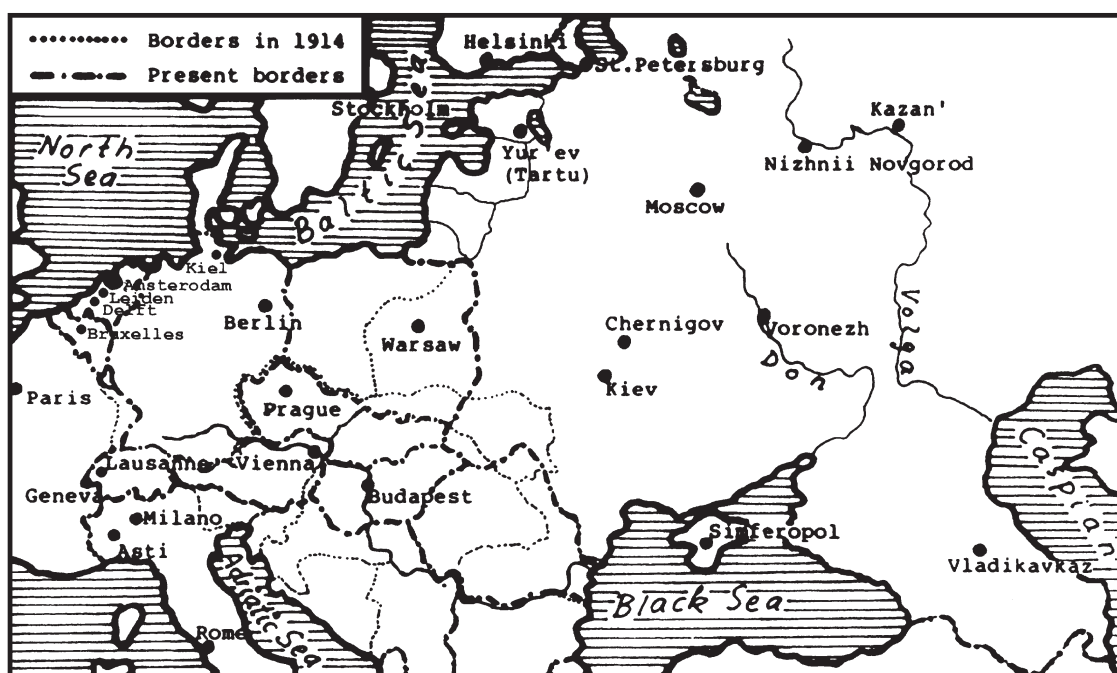
Michail Semjonovič Cvět se narodil 14. května 1872 v malém severoitalském městě Asti (v hotelu Real, kde se jeho rodiče ubytovali na cestě k jezeru Lago Maggiore). Jeho otec, státní úředník, pocházel z Ukrajiny, matka Maria de Doroza, italského původu, se narodila v Turecku a byla vychovávána v Rusku. Matka krátce po porodu zemřela a někteří životopisci Cvěta vyvozují z předčasného porodu (?) zdravotní potíže, kterými Cvět trpěl, a také skutečnost, že zemřel relativně mladý ve věku 47 let.



Obr. 1. M. S. Cvět

Dětství a mládí prožil Cvět ve Švýcarsku, v Lausanne a později v Ženevě, kde vystudoval univerzitu. Ačkoliv je uváděn jako ruský botanik, jeho zájem se již za univerzitních studií soustřeďoval také na chemii a fyziku. Z dnešního pohledu bychom mohli hovořit o jeho fyzikálně-chemickém i biochemickém zaměření. V r. 1896 odjel do Ruska a v Simferopolu dokončil svou dizertaci, na jejímž základě v Ženevě dosáhl hodnosti doktora přírodních věd. Poté pracoval po dobu pěti let (do r. 1901) v Petrohradě, kde vyučoval a věnoval se výzkumu v Laboratoři anatomie a fyziologie rostlin. Jeho vědecká hodnota získaná ve Švýcarsku nebyla v Rusku uznána, a proto začal pracovat na nové magisterské práci, kterou obhájil v Kazani. V r. 1902 získal stálé místo na univerzitě ve Varšavě (v té době byla součástí Ruska), kde působil 14 let. Přednášel botaniku a zemědělství na Ústavu veterinární medicíny, později botaniku a mikrobiologii na chemické a lékařské fakultě Polytechnického institutu. V době 1. světové války (r. 1915) byl ústav evakuován před postupující německou armádou do Moskvy a odtud v r. 1916 ze stejného důvodu do Nižního Novgorodu. V té době byl již Cvět vážně nemocný (tuberkulóza? srdeční potíže? astma?), a proto odjel k rodině své ženy do Vladikavkazu na Kavkaz, kde doufal ve zlepšení svého zdraví. Zde dostal zprávu o jmenování řádným profesorem botaniky na tehdy proslulé univerzitě v Jurjevu (později přejmenované na Tartu, Estonsko). Toto samostatné postavení bylo splněním jeho dlouholetého přání, avšak jen nakrátko. Město bylo okupováno Němci a v září 1918 se ruská část univerzity přesunula do Voroněže. Zde Cvět 26. června 1919 umírá. Jeho osud se „naplnil“ ještě i po smrti. Cvět byl pohřben na hřbitově u Aleksejevského kláštera, který byl ve 2. světové válce při bojích s Němci zcela zničen, a Cvětův hrob se nepodařilo lokalizovat.

(Malý dovětek, zajímavý možná pro českého čtenáře. Podle několika pramenů se Cvět v r. 1907 oženil s Helenou roz.



Obr. 2. Významná místa působení a kontaktů M. S. Cvěta (viz cit.<sup>39</sup> – upraveno a doplněno)

Truciewiczovou, která byla údajně českého původu, i když jméno tomu zcela nenasvědčuje. Po Cvětově smrti se dostala zpět ke svým příbuzným do horské obce Abrau-Djurso, blízko Vladikavkazu. V nedaleké vsi Glebovka učila na české škole až do své smrti v červnu 1922.)

Místa pobytu a působení M. S. Cvěta spolu s kontakty, které měl s různými odbornými pracovišti v Evropě, zachycuje obr. 2. Upomínkou na jeho pobyty jsou pamětní desky na domech, ve kterých žil. Desky byly v průběhu let, zejména ke 100. výročí jeho narození, umístěny např. v Asti, Petrohradu, Tartu.

Biografie Cvěta se stala ve 2. polovině 20. století předmětem zájmu mnoha chemiků. Zsvěcené studie založené na mnohaletém shromažďování materiálu publikovali od sedmdesátých let zejména Sakodinskyj a Ettore<sup>1-7</sup>. U nás se této tematice věnoval Hais, který zveřejnil, mimo jiné, též kompletní seznam Cvětových prací<sup>8</sup>.

### 3. Badatelská činnost – historie objevu

Hlavní údobí vědecké práce Cvěta jsou spojena nejen s různými místy pobytu (Ženeva, Petrohrad, Varšava), ale do značné míry i s řešením různých problémů souvisejících se studiem chloroplastů. Fotosyntéza jako jeden z nejvýznamnějších biologických problémů patřila k jeho zájmům již v době univerzitního studia v Ženevě, kde se věnoval morfologickému studiu chloroplastů. V Petrohradě studoval hlavně chemickou stránku, zejména barviva chloroplastů, a hledal účinnou a šetrnou metodu jejich separace. Cílem byla izolace chlorofylu, který by si zachoval vlastnosti barviva v přírodním stavu. Rozporuplné údaje o chlorofylu, uváděné v odborné literatuře, přisuzoval právě nevhodnosti používaných izolačních metod. Soustředil se proto na možnost využít metodu fyzikální. Již

kolem roku 1890 se začal zabývat adsorpčními jevy. Tato svá pozorování podrobněji uvedl ve své magisterské práci (1901), ve které se zabýval vývojem nové metody založené na fyzikální adsorpci látek rozpuštěných v organických kapalinách na různých minerálech nebo tuhých organických látkách<sup>9</sup>.

Významné údobí badatelské činnosti spadá do Cvětova varšavského pobytu (1902–1915), kdy shrnuje své poznatky v historické přednášce nazvané *O novej kategorii adsorpčních javlenij i o primenenii ich k biochimičeskemu analizu*, kterou o dva roky později (1905) publikuje v místním vědeckém periodiku<sup>10</sup>. Doposud používá označení „nová metoda“, zatímco termín „chromatografie“ se objevuje až v německy psané publikaci z r.1906 nazvané *Adsorption-analyse und chromatographische Methode. Anwendung an die Chemie des Chlorofylls*<sup>11</sup>, kde píše: „...různé složky pigmentu lze rozdělit na koloně s uhličitanem vápenatým, a tak je kvalitativně i kvantitativně určit. Tuto preparaci nazývám chromatogram a odpovídající metodu chromatografická metoda“. A dále: „...Je samozřejmé, že popsané adsorpční jevy nejsou omezeny na pigmenty chlorofylu, a lze předpokládat, že se všechny barevné i bezbarvé chemické sloučeniny budou chovat podle stejných zákonů“. Ve stejném roce publikuje též práci *Physikalisch-chemisches Studium über Chlorofyll. Die Adsorption*<sup>12</sup>. Obě sdělení obsahují všechny důležité aspekty chromatografie a doporučení pro volbu vhodných adsorbentů (prostudoval přes 130 látek) a rozpouštědel včetně dalších pracovních podmínek (rozměry kolon atd.).

Uvedené práce publikované v dostupném jazyce (němčina byla tehdy hlavním odborným jazykem) a v renomovaném časopise *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* vzbudily zájem současníků, ale pro novost pojetí a metody zkoumání se zároveň staly předmětem i mnoha polemik s odborníky z různých zemí (viz kapitola 4.).

Mezitím Cvět dále soustřeďoval výsledky svého bádání a prohluboval své znalosti o rostlinných pigmentech, zejména chlorofylech. Získané poznatky zpracoval v knize *Chromofily v rostitelnom i životnom mire*<sup>13</sup>, která byla zároveň jeho doktorskou dizertací. První část pojednává o chromatografické technice, ve druhé jsou popsány výsledky studia přírodních pigmentů a ve třetí části jsou prezentovány Cvětovy představy o mechanismu fotosyntézy.

V letech 1906–1911 Cvět pokračoval ve výzkumu rostlinných pigmentů včetně karotenoidů (je málo známé, že pojmenování karotenoidy jako společně označení karotenů, xantofylů a příbuzných sloučenin pochází od Cvěta, a až po deseti letech bylo obecně přijato<sup>5</sup>). V dalších letech Cvětova vědecká a publikační činnost klesá. Částečně je to způsobeno velkým zatížením pedagogickým, zhoršujícím se zdravím a přesuny na nová pracoviště v důsledku válečných událostí (viz dříve).

Úplný výčet prací v rozpětí let 1894–1916 zveřejnil v tomto časopise Hais<sup>8</sup>. Z tohoto seznamu lze mimo obsahové stránky jednotlivých sdělení zjistit, že Cvět své první práce publikoval francouzsky (což bylo dáno studiem ve Švýcarsku) a v dalších letech, od r. 1898, vedle ruštiny a francouzštiny také německy. Tvzení, že nebyl ve své době dostatečně znám z důvodů jazykové bariéry, není tedy zcela oprávněné. Nedoocenění jeho práce spočívá spíše v nedůvěře k chromatografické metodě, a tím i k výsledkům Cvětova výzkumu. Je však pravda, že jeho stěžejní práce představující zrod chromatografie byla prezentována ruský, stejně jako jeho hlavní dílo, kniha z r. 1910. Tyto práce byly přeloženy a publikovány, s výjimkou soukromého překladu pro Willstaettera, až se značným časovým odstupem. Teprve v r. 1954 vychází zásluhou Hesseho a Weila německý a anglický překlad Cvětovy první práce o chromatografii<sup>29</sup>.

Důležitou součástí Cvětovy vědecké činnosti byly také odborné kontakty s řadou zahraničních pracovišť. Cvět zejména v letech 1902–1911 opakovaně navštěvoval a udržoval styky s botanickými zahradami a univerzitami v Berlíně, Kielu, Amsterdamu, Leidenu, Delftu, Bruselu a Paříži (viz obr. 2). Čile také korespondoval a na stránkách odborného tisku zveřejňoval články, ve kterých ostře polemizoval s názory a výsledky prací tehdy renomovaných odborníků a obhajoval výsledky svých bádání.

#### 4. Předchůdci, současníci, oponenti

Počátek vzniku chromatografie je různými autory, sledujícími kořeny této metody, umísťován do různých časových údobí. Rozhodující přitom je základní pohled, zda je zvažována přednostně separace látek ze směsi, pracovní technika nebo izolace určitého typu látek. Tato rozdílná hlediska způsobují, že jako předchůdci jsou uváděni autoři prací, které jsou datovány v rozpětí několika desítek let i staletí.

Za bezprostřední předchůdce Cvěta jsou většinou považováni Schoenbein (1861) a jeho žák Goppelsroeder<sup>6,8,41</sup>, který zdokonalil způsob separace pigmentů metodou kapilární migrace na zavěšeném proužku papíru. Cvět znal tyto práce a později upozornil na analogii mezi papírem při kapilární analýze, kterou Goppelsroeder kolem r. 1900 označoval jako adsorpční analýzu<sup>14</sup>, a sloupcem sorbentu v jeho metodě.

Často jsou jako předchůdci označováni petrolejářští chemici, zejména D. T. Day (1859–1925) (cit.<sup>6,8</sup>), kteří ve snaze

zjistit změny složení ropy při průchodu zeminou a najít způsob jejího čištění, modelovali své pokusy tak, že nechali ropu procházet sloupcem adsorbentu umístěného v trubici. Day, významná osobnost geologického výzkumu v USA, se zabýval frakcionací ropy (1897) a v r. 1900 na mezinárodním petrolejářském kongresu v Paříži referoval výsledky tohoto výzkumu. Zřejmě si uvědomoval i možnosti analytického využití navrhovaného postupu. Zmíněné možnosti však nebyly využity ani v analytickém ani v preparativním měřítku. Studovaný děj nepřesně interpretoval jako kapilární difuzi. I když tyto práce nebyly Cvětovi jako biologu známé, lze je z hlediska historie adsorpční chromatografie považovat za důležité.

Není bez zajímavosti, že o několik desetiletí později (1941) biochemici Martin a Synge objeví metodu rozdělovací chromatografie, která se v systému plyn–kapalina v nebyvalém měřítku rozšířila právě v petrochemických závodech.

Přístup současníků Cvěta k jeho objevu a vědecké práci je třeba chápat v širších souvislostech. Zájem chemiků na přelomu století byl orientován především na syntézy a na izolaci jedné nebo dvou látek a jejich podrobné studium. Příprava „čistých“ látek se prováděla většinou krystalizací. Cvětův objev separace všech pigmentů obsažených v rostlinné matrici představoval radikální změnu v myšlení. Proto jeho práce od počátku poutaly na sebe pozornost, ale byly také podstatou velmi polemických vystoupení.

Již při obhajobě doktorské práce byla nová koncepce a nezvyklá prezentace předmětem kritiky jednoho z oponentů. Přes výtky, které se týkaly fyzikálně-chemické interpretace a některých formálních záležitostí, bylo konstatováno, že jde „...o zajímavý a slibný výzkum v obtížné oblasti“ (cit.<sup>1</sup>). V r. 1911 byl Cvět za tuto práci vyznamenán Ruskou akademií věd prestižní cenou N. Achmatova.

Je známo, že Cvět vedl velmi živé diskuse se svými současníky i na stránkách odborného tisku. Způsob jeho vědecké argumentace a často ostře polemický tón, kterým hodnotil práce renomovaných badatelů, byl pro Cvěta charakteristický a zároveň vyvolával kritické postoje k jeho práci. Byly to hlavně polemiky s Marchlewskim, profesorem na univerzitě v Krakově, Kohlem z univerzity v Marburku a Molischem, v té době ředitelem Ústavu fyziologie rostlin na pražské univerzitě, kteří byli uznávanými autoritami, stejně jako Willstaetter, vůdčí osobnost německé organické chemie.

Jako příklad lze uvést polemiku s Molischem, který byl ve své době jedním z nejváženějších botaniků v Evropě. Cvět v článku „*Kritische Bemerkungen zu Molisch's Arbeit über die Phaeophyceen-Farbstoffe*“ (cit.<sup>15</sup>) nesouhlasil (na základě vlastních experimentů, které však neuvedl) s některými Molischovými závěry. Molisch na tuto kritiku reagoval a výsledkem byla řada polemických článků<sup>41</sup>. Cvětova kritika se týkala též práce českých badatelů Stoklasy a spol., kteří jako první (již v r. 1908) použili chromatografii ke studiu chlorofylu<sup>16,17</sup>. Cvět oprávněně vyvracel Stoklasův názor na přítomnost fosforu v chlorofylu<sup>18</sup>.

Širší záběr měly argumentace mezi Cvěttem a Willstaetrem, které, i když velmi kritické, byly vedeny na akademické úrovni. Willstaetter, stejně jako i další oponenti, poukazovali zejména na problém „čistoty“ separovaných látek v důsledku chemických reakcí, které se mohou uplatňovat na adsorbentu. Dalšími protiargumenty byly nevhodnost metody pro převedení z analytického do preparativního měřítka, nutnost správ-

ného výběru rozpouštědel a volby dalších parametrů. Některým kritickým připomínkám nahrávalo například, že Cvět použil ke studiu chlorofylu v původním uspořádání jako adsorbent uhličitán vápenatý, který mohl způsobit zkreslení výsledků. Opomenuli však, že Cvět v té době sám upozorňoval na poškození chlorofylu „agresivními“ adsorbenty a doporučoval práškovou sacharózu, jejíž chemickou pasivitu zdůrazňoval; a ta se doposud v chromatografii chlorofylu používá<sup>19</sup>.

V případě Willstaettera je třeba upozornit, že v době, kdy se začal zabývat detailně výzkumem chlorofylu, měl Cvět v této problematice již značné experimentální zkušenosti. Rozdílné názory měli i na existenci chlorofylu. Cvět považoval krystalický chlorofyl za artefakt již v r. 1901. Přes kritické připomínky Willstaetter Cvětovu metodu zcela neodsoudil a hovořil o ní i ve své knize z r. 1913 (cit.<sup>20</sup>). Přestože se Willstaetter dopracoval v otázkách chlorofylu ke stejným výsledkům jako Cvět až o řadu let později, byl to on, kdo obdržel za výzkum rostlinných pigmentů, zejména chlorofylu, v r. 1915 Nobelovu cenu.

Je málo známou skutečností, že Cvět byl v r. 1918 také navržen na Nobelovu cenu za chemii za výzkum v oblasti chlorofylu a dalších rostlinných pigmentů (nikoliv za chromatografii)<sup>21</sup>. Nominován byl C. van Wisselingem, profesorem farmacie a toxikologie na univerzitě v Groningen (v letech 1916–17 rektor univerzity), který svůj návrh dokládá 12 pracemi a ruskou publikovanou knihou z r. 1910. V závěru návrhu se stručně zmínil o chromatografii s poukazem na Willstaettera. Předseda komise pro udělení ceny za chemii O. Hammersten ve svém hodnocení uvádí chromatografii jako nejoriginálnější příspěvek, ale zároveň upozorňuje, že podobné separace byly jinými metodami provedeny Willstaetterem. Závěr nebyl doporučující. Důvody je možné spatřovat v tom, že 1) separační metoda nebyla oproti klasickým metodám obecně uznávaná, 2) návrh na cenu byl za chemii, ačkoliv předmětem zkoumání byly pigmenty v rostlinách, které Cvět na rozdíl od Willstaettera tak intenzivně a systematicky chemicky nezkoumal, 3) výsledky byly publikovány v botanických, nikoliv chemických časopisech. Nobelovu cenu za chemii v r. 1918 tak obdržel Fritz Haber za syntézu čpavku z vodíku a dusíku.

Cvětovy rozpor s jeho současníky narážely především na výsledky v oblasti rostlinných barviv a v této souvislosti byla napadána i chromatografická metoda. Budoucnost ukázala, že Cvětovy závěry a obhajoba vlastní práce byly správné a jeho námítky vůči oponentům ve své většině oprávněné. Skutečností ale zůstává, že nevytvořil vědeckou školu, neměl spolupracovníky ani žáky, kteří by pokračovali v jeho práci a dosah šíření jeho významných výsledků byl omezený. V letech 1911–1930 bylo publikováno jen asi 30 prací z oblasti chlorofylů a karotenoidů, ve kterých byla využita Cvětova metoda.

## 5. Pokračovatelé, nositelé Nobelových cen

Krátce po Cvětově smrti byli nejvýznamnějšími pokračovateli L. S. Palmer v USA a R. Kuhn se svými spolupracovníky v Německu.

Palmer znal Cvětovy důležité práce zveřejněné v německých a francouzských časopisech i Cvětovu knihu. V r. 1922 publikoval monografii o karotenoidech<sup>22</sup>, kde se podrobně zabýval i Cvětovou prací a metodou. Palmerova kniha byla po

řadu let hlavním zdrojem informací o chemii karotenoidů a v historii chromatografie bývá uváděna jako její „znovuzrození“.

Přesto byla ještě koncem 20. let minulého století chromatografie jako preparativní (purifikační) metoda dost kategoricky odmítána. Teprve Paul Karrer, významný organický chemik a nositel Nobelovy ceny (1937) za výzkum karotenoidů, flavinů a vitaminů A a B, píše v roce 1939 „...bylo by chybou domnívat se, že preparát čištěný krystalizací by měl být čistší než látka získaná chromatograficky. Ze všech současných výzkumů vyplývá, že chromatografické čištění daleko převyšuje výsledky krystalizace.“ (cit.<sup>23</sup>). (Dnes preparáty označované jako „chromatograficky čisté“ představují vyšší čistotu než chemikálie označované p.a.).

Také laboratoř R. Kuhna, nositele Nobelovy ceny (1938) za vědecké práce o karotenoidech a vitamínech, se stala významným centrem, kde byla chromatografie využívána. Kuhn, žák Willstaettera, se seznámil s překladem Cvětovy knihy o chromatografii (viz dříve) a intenzivně ji při svých výzkumech používal. V r. 1931 publikoval spolu s Wintersteinem a Ledererem klíčovou práci o purifikaci xantofylů na CaCO<sub>3</sub> metodou adsorpční chromatografie<sup>24</sup>. Edgar Lederer vedle významných vědeckých výsledků v oblasti karotenoidů, vitaminu A<sub>2</sub>, feromonů a dalších důležitých látek publikoval od r. 1934 řadu knih o chromatografii<sup>25</sup>.

U nás v r. 1934 vychází o karotenoidech práce Řetovského a Urbana<sup>26</sup>, kteří také ve svých výzkumech použili Cvětovu metodu.

Koncem 30. let se chromatografie stává uznávanou metodou a je stále více využívána i v pracích dalších laureátů Nobelových cen – Ruzicka (1939), Butenandt (1939) (cit.<sup>27</sup>).

Ve 40. letech je chromatografie dále rozvíjena. Cvětova představa o použití chromatografie jak pro látky barevné, tak bezbarvé, se rozšiřuje i na látky v plynném stavu. Touto problematikou se od r. 1941 zabýval Gerhard Hesse, který v r. 1943 publikoval knihu nazvanou *Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium mit besondere Berücksichtigung der chromatographischen Adsorptions-Analyse (Tswett-Analyse)*<sup>28</sup>. Později spolu s Weilem zveřejnili německý a anglický překlad Cvětovy první práce<sup>29</sup>.

Monografie Hesseho inspirovala E. Cremerovou (1946) k využití chromatografie ke studiu adsorpčních dějů v systému plyn–tuhá fáze<sup>30</sup>. Na možnosti využití adsorpční chromatografie ke studiu adsorpčních isoterem upozornil již v r. 1945 Glückauf<sup>31</sup>. Přířímou návaznost na tyto práce měl začátkem 50. let i výzkum v oblasti chromatografie plyn–adsorbent v našich zemích<sup>32</sup>.

Je na místě připomenout, že v průběhu 40. let pokračovalo využívání původního Cvětova objevu, adsorpční kapalinové chromatografie, nejen chemiky, ale i biology a lékaři, z nichž někteří se stali nositeli Nobelovy ceny<sup>27</sup>. Pro všechny však byla chromatografie prostředkem k bádání. První, kdo v r. 1948 obdržel Nobelovu cenu za rozvoj metody, byl A. Tiselius, a to „za výzkumy elektroforézy a adsorpční chromatografie ... zejména za objevy komplexní povahy sérových bílkovin“. Tiselius sám uváděl, že jeho práce jsou modifikací Cvětovy metody. V jeho uspořádání procházel roztok z kolony přímo do mikointerferometru, který kontinuálně zaznamenával koncentraci sledované látky. Tiseliovi jsou také připisovány pracovní techniky frontální, eluční a vytěšňovací analýzy, jejichž začátky je možno vysledovat již v pracích Cvěta.

a



b



Obr. 3. **Cvětovy medaile:** a – udělována organizátory symposia *Advances in Chromatography* v letech 1974–1988, b – udělena Akademií věd SSSR k 75. výročí objevu chromatografie v Talinu v roce 1978

Významný zlom v historii chromatografie však představuje objev rozdělovací chromatografie Martinem a Syngem<sup>33</sup>. Autoři vycházeli ze skutečnosti, že v této metodě je separační funkce lineární v širším koncentračním rozmezí než mezi kapalinou, resp. plynem, a tuhou fází v případě adsorpční chromatografie, což významně ovlivňuje separační vlastnosti systému, a tím i analytické využití rozdělovací chromatografie. V práci z r. 1941 již uvádějí, že mobilní fázi nemusí být kapalina, ale lze užít též permanentní plyn. Význam a dosah jejich objevu byl v r. 1952 oceněn Nobelovou cenou.

Další desetiletí minulého století představují nebyvalý rozvoj chromatografie. V 50. letech je to zejména plynová chromatografie v systému plyn–kapalina, jejíž počátek je datován prací Martina a Jamese<sup>34</sup> z r. 1952. Půl století této metody, její historii a trendům je věnován i recentní soubor článků zveřejněný v časopise *Trends in Analytical Chemistry* v r. 2002 (cit.<sup>35</sup>).

Propracované teorie umožnily přípravu stále účinnějších kolon, zdokonalovala se instrumentace a rozšiřovaly aplikační možnosti. Teoretické znalosti a praktické zkušenosti daly základ k renesanci Cvětovy kolonové kapalinové chromatografie v uspořádání vysokoúčinné kapalinové chromatografie, které je v dalších letech dávána přednost před chromatografií plynovou. Obě metody jsou ve skutečnosti kompatibilní. Na analogických teoretických základech jsou postaveny i moderní elektromigrační metody.

Ve 40. letech 20. století rozvíjeli chromatografii botanici, biochemici, organičtí, anorganičtí i fyzikální chemici. V 50. letech si dosah uvědomili zejména pracovníci v petrochemii. Od 60. let dochází k uplatnění chromatografie v nejrůznějších průmyslových odvětvích (vedle petrochemie především ve farmaceutickém, potravinářském, kosmetickém a tukovém průmyslu), stejně jako v různých vědních oblastech, a kruhem zpět do oblastí biochemie, zdravotnictví, ekologie i zemědělství.

Zpracovatelé historie chromatografie, ovlivnění ohromným rozvojem a uplatněním rozdělovací chromatografie často redukuje význam adsorpční chromatografie na několik odkazů a opomíjejí její důležitost i v dalším rozvoji. V plynové chromatografii byly na výzkumech v oblasti adsorpční chromatografie založeny celé školy. Jejich význam tkví především ve

studiu adsorpčních dějů a mezimolekulárních interakcí s praktickými důsledky při sledování různých materiálů a vývoji nových sorbentů jak pro plynovou, tak v dalším vývoji i pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii (zeolity, různé modifikované silikagely, uhlíkaté sorbenty, organické polymery, chemicky modifikované povrchy aj.). Byly to zejména práce pocházející z laboratoří A. V. Kiseleva<sup>36</sup> a A. A. Žuchovického<sup>37</sup>, ale i výzkum našich chromatografistů, kteří navazovali na Cvětovu metodu, a to nejen v kolonovém, ale i plošném uspořádání.

Jednoznačné uznání Cvětova objevu a díla vedlo v průběhu doby k uspořádání mezinárodních symposií pořádaných na jeho počest a vydání monografií věnovaných 75. výročí chromatografie<sup>38</sup> a historii let 1900–2000 (cit.<sup>39</sup>). Cvětův vliv na další rozvoj chromatografie ve všech jejích modech je nepopíratelný. Uznání historického významu jeho objevu vedlo také k udělení medailí M. S. Cvěta za významný podíl na rozvoji chromatografie. Z iniciativy organizátorů významného mezinárodního symposia *Advances in Chromatography* byla v USA založena tradice každoročního předávání medailí M. S. Cvěta (viz obr. 3a). Tato ocenění byla v letech 1974–1988 udělována významným chromatografistům. Prvními držiteli se stali: E. Cremerová, D. H. Desty, A. I. M. Keulemans, A. V. Kiselev a A. J. Martin (více o těchto osobnostech lze nalézt v pracích<sup>38–40</sup>). Češi, kteří obdrželi toto ocenění, byli: J. Janák (1975), M. V. Novotný (1984) a K. Macek (1985). Při příležitosti 75. výročí chromatografie, na symposiu, které se konalo v r. 1978 v Talinu, udělila Akademie věd SSSR medaile M. S. Cvěta (obr. 3b) za zásluhy o rozvoj chromatografie řadě dalších chromatografistů. Z československých vědců ji obdrželi: J. Franc, I. Hais, J. Janák, E. Smolková-Keulemansová a K. Macek.

Je nad rámec tohoto článku sledovat další všestranný rozvoj chromatografie jak z hlediska rozvíjení technik, instrumentace, aplikačních oblastí, tak teoretických přístupů. Ohromné množství literatury, původních sdělení, souborných článků a monografií dokumentuje mimořádný význam Cvětova objevu. Důležitý podíl na rozvoji chromatografie mají také práce autorů z našich zemí. Zhodnocení jejich významu by vyžadovalo samostatné zpracování. Určitým vodítkem mohou

být početné monografie přeložené nebo přímo publikované v zahraničí, vysoká citovanost prací i různá mezinárodní uznání.

## 6. Závěr

Je známo, že v historii vědy lze často vysledovat opakující se nebo i zapomenuté objevy, které po dlouhé době, v jiných podmínkách, jsou znovu objevovány. Cvětovy objevy základů mnoha později vynalezených chromatografických technik jsou toho důkazem. Již Cvět zjistil (a teoreticky odvodil), že ostrost dělení v koloně se zvyšuje s jemnějším zrněním. Zvýšený odpor kolony překonával zvýšením tlaku (i když malým, jen 0,5 atm) na vstupu nebo odsáváním na konci kolony. Lze tedy říci, že postupoval způsobem, který byl mnohem později realizován ve vysokoúčinné kapalinové chromatografii. Při studiu adsorbentů zjistil, že některé jsou hygroskopické povahy, což umožňovalo zadržování vody. Pracoval tedy v podstatě se zakotvenou vodnou fází. Předpokládal, že jde o adsorpci na mezifázi vodného roztoku s organickou mobilní fází, nikoliv o vstup dělených látek do kapalně stacionární fáze. Kdyby toto uvážil, byl by objevil rozdělovací chromatografii několik let před Martinem a Syngem. Vzhledem k zaměření na adsorpční chromatografii považoval Cvět zachycování bílkovin na anorganických solích za chemický děj. Dnes bychom hovořili o iontově-výměnné chromatografii. Analogií mezi vlastnostmi papíru a vrstvou uhlíčitánu vápenatého předjímal tenkovrstvou chromatografii. Použil také průchod plynu (vzduchu nebo methanu) kolonou, i když jen pro odstranění rozpouštědla.

Podrobnější sledování Cvětových přínosů jen dále dotvrzuje jeho výjimečnost a jeho významné postavení v historii vědy jako zakladatele chromatografie.

*Za četné rady, podporu a technickou pomoc děkuji Evě Tesařové.*

## LITERATURA

- Sakodynskij K. I.: *Michael Tswett, Life and Work*. Carlo Erba (sponzor), Viapiani Milano (rok neúveden).
- Sakodynskij K. I.: *J. Chromatogr.* 49, 2 (1970).
- Sakodynskij K. I.: *J. Chromatogr.* 73, 303 (1972).
- Sakodynskij K. I.: *J. Chromatogr.* 202, 1 (1981).
- Ettre L. S., Sakodynskij K. I.: *Chromatographia* 35, 223 (1993).
- Ettre L. S.: *Anal. Chem.* 43, 20A (1971).
- Ettre L. S.: *Chromatographia* 51, 7 (2000).
- Hais I. M.: *Chem. Listy* 68, 260 (1974).
- Cvět M. S.: *Tr. Kazansk. Obšč. Estestsvoispyt.* 1901, 35.
- Cvět M. S.: *Tr. Varšavsk. Obšč. Estestsvoispyt. Otd. Biol.* 14, 20 (1903).
- Tswett M.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 24, 384 (1906).
- Tswett M.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 24, 316 (1906).
- Cvět M. S.: *Tipogr. Varšavsk. Učebn. Okruga, Varšava* 1910.
- Goppelsröder F.: *Capillaranalyse beruhend auf Capillaritäts- und Adsorptionserscheinungen*. Birkhauser, Basel 1901.
- Tswett M.: *Bot. Z.* 63, 273 (1901).
- Stoklasa J., Brdlík V., Just J.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 26, 69 (1908).
- Stoklasa J., Brdlík V., Ernest A.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 27, 10 (1909).
- Tswett M.: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 26A, 214 (1908).
- Šesták Z.: *Chem. Listy* 68, 270 (1974).
- Willstätter R., Stoll A.: *Untersuchungen über Chlorophyll. Methoden und Ergebnisse*. Springer, Berlin 1913.
- Ettre L. S.: *Chromatographia* 43, 343 (1996).
- Palmer L. S.: *Carotenoids and Related Pigments: The Chromolipids*. Am. Chem. Soc. Monograph Series, Chemical Catalog Co., New York 1922.
- Karrer P.: *Helv. Chim. Acta* 22, 1149 (1939).
- Kuhn R., Winterstein A., Lederer E.: *Z. Physiol. Chem.* 197, 141 (1931).
- Lederer E., Lederer M.: *Chromatography: A Review of Principles and Applications*, kap. 1–6. Elsevier, Amsterdam 1953.
- Řetovský R., Urban A.: *Chem. Obzor* 9, 201 (1934).
- Hais I. M.: *J. Chromatogr. Chromatogr. Rev.* 86, 283 (1973).
- Hesse G.: *Adsorptionsmethoden im chemischen Laboratorium mit besonderer Berücksichtigung der chromatographischen Adsorptionsanalyse (Tswett-Analyse)*. W. de Gruyter, Berlin 1943.
- Hesse G., Weil H.: *Michael Tswett's First Paper in Chromatography*. Woelm, Eschwege 1954.
- Cremer E., Prior F.: *Z. Elektrochem.* 55, 66 (1951).
- Glückauf E.: *Nature* 156, 748 (1945).
- Janák J.: série sdělení o chromatografické analýze plynů publikovaných v *Chem. Listech* v letech 1953–1959; odkazy na soubor těchto prací v Ettre L. S.: *LC-GC (North America)* 20, 866 (2002).
- Martin A. J. P., Syng R. L. M.: *Biochem. J.* 35, 1358 (1941).
- Martin A. J. P., James A. T.: *Biochem. J.* 50, 679 (1952).
- Práce ve zvláštním čísle časopisu *Tr. Anal. Chem.* 21, No. 9/10, 545–698 (2002).
- Kiselev A. V., Jašin J. I.: *Adsorpcionnaja chromatografija*. Nauka, Moskva 1967; *Adsorpcionnaja gazovaja i židkostnaja chromatografija*. Chimija, Moskva 1979; *Adsorpční plynová a kapalinová chromatografie*. SNTL, Praha 1988.
- Ettre L. S., Berezkin V. G.: *LC-GC (North America)* 18, 1148 (2002).
- Ettre L. S., Zlatkis A. (ed.): *75 Years of Chromatography – A Historical Dialogue*. Elsevier, Amsterdam 1979.
- Gehrke C. W., Wixom R. L., Bayer E. (ed.): *Chromatography: A Century of Discovery 1900–2000*. Elsevier, Amsterdam 2001.
- Smolková-Keulemansová E.: *J. High. Resolut. Chromatogr.* 23, 497 (2000).
- Ettre L. S., Sakodynskij K. I.: *Chromatographia* 35, 329 (1993).

### E. Smolková-Keulemansová (Department of Analytical Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Prague): 100th Anniversary of the Discovery of Chromatography

The article is devoted to the discovery of chromatography by M. S. Tswett. The life and scientific work of the founder as well as of his contemporaries and followers are presented. The Nobel prize winners whose work was connected with the use and further development of chromatography are mentioned. A few milestones in the history of chromatography are pointed out and their importance is discussed.