

1 POSTUPY A METODY ANALÝZY ORGANICKÝCH LÁTEK 13

1.1 Postup analýzy 13	<i>Jiří G. K. Ševčík</i>
1.1.1 Pravděpodobný svět a deterministický zákon 13	
1.1.2 Analytický úkol 14	
1.1.2.1 Zadání analytického úkolu 15	
1.1.2.2 Vzorkování a úprava vzorku 15	
1.1.2.3 Analytické metody 16	
1.1.2.4 Kalibrační metody 18	
1.1.2.5 Výsledek analýzy 21	
1.2 Přehled metod pro analýzu organických sloučenin 25	<i>Josef Čáslavský</i>
1.2.1 Vážková analýza – gravimetrie 25	
1.2.2 Odměrná analýza – volumetrie 26	
1.2.3 Elementární analýza organických látek 26	
1.2.4 Optické metody – molekulová spektrometrie 26	
1.2.5 Elektroanalytické metody 26	
1.2.6 Separační techniky 26	
1.2.7 Hmotnostní spektrometrie (MS) 27	
1.2.8 Tandemové techniky 27	
1.2.9 Nukleární magnetická rezonance (NMR) 27	

2 ODBĚR A PŘÍPRAVA VZORKŮ K ANALÝZE – EXTRAKČNÍ TECHNIKY, PASIVNÍ VZORKOVÁNÍ ORGANICKÝCH POLUTANTŮ 29*Martin Adam, Petra Bajerová, Karel Ventura*

2.1 Odběr vzorků vzduchu a plynů pro analýzu organických látek 29	
2.1.1 Využití difúzních denuderů pro zakoncentrování plynných organických polutantů ze vzduchu 29	
2.1.2 Extrakce tuhým sorbentem 31	
2.1.3 Extrakce plynem se zkonzentrováním na tuhém sorbantu 34	
2.2 Vzorkování ovzduší 34	
2.2.1 Princip pasivního záchytu – diffuse 35	
2.2.2 Záchyt – adsorpce 35	
2.2.3 Desorpce 36	
2.2.4 Axiální pasivní vzorkovače 36	
2.2.5 Radiální pasivní dozimetr – Radiello® 37	
2.2.5.1 Složení vzorkovače 38	
2.2.5.2 Příslušenství vzorkovače 38	
2.3 Příprava vzorků k analýze - extrakční techniky 39	
2.3.1 Klasické extrakční techniky 39	
2.3.1.1 Extrakce kapalina-kapalina 39	
2.3.1.2 Extrakce v Soxhletově extraktoru 40	
2.3.1.3 Automatizovaná Soxhletova extrakce 41	
2.3.1.4 Extrakce tuhou fází 42	
2.3.2 Mikroextrakční techniky 42	
2.3.2.1 Mikroextrakce tuhou fází 43	
2.3.2.2 Sorpční extrakce na míchadle a sorpční extrakce v headspace prostoru 44	
2.3.2.3 Mikroextrakce tuhou fází s využitím stříkačky 44	
2.3.2.4 Mikroextrakce jednou kapkou 45	
2.3.2.5 Disperzní kapalinová mikroextrakce 46	
2.3.2.6 Mikroextrakce využívající duté vlákno 46	
2.3.3 Headspace extrakce – extrakce z plynné fáze 47	
2.3.3.1 Statistická headspace extrakce 47	

2.3.3.2	Dynamická headspace extrakce	47
2.3.4	Extrakce založené na použití alternativních rozpouštědel	47
2.3.4.1	Iontové kapaliny	48
2.3.4.2	Extrakce nadkritickou tekutinou	48
2.3.4.3	Vysokotlaká extrakce horkou vodou	49
2.3.5	Asistované extrakce	50
2.3.5.1	Extrakce mikrovlnným zářením	50
2.3.5.2	Ultrazvukové extrakce	50
2.3.5.3	Vysokotlaká extrakce rozpouštědlem	51

3 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE.....

Jiří G. K. Ševčík, Petr Vozka

3.1	Principy plynové chromatografie	57
3.1.1	Parametry elučního profilu	57
3.1.2	Charakteristiky plynově chromatografického systému	60
3.1.3	Charakteristiky rozdělení	61
3.1.4	Optimalizace rozlišení	62
3.1.5	Identifikace analytů	62
3.1.6	Stanovení analytů	63
3.2	Schéma instrumentálního uspořádání GC	65
3.2.1	Mobilní fáze	65
3.2.2	Nástřik vzorku	68
3.2.3	Separační systém	72
3.3	Měřící systém	75
3.3.1	Signál v GC	76
3.3.2	Zpracování signálu	81
3.3.3	Detektory v plynové chromatografii	84
3.4	Rychlá plynová chromatografie	88
3.5	Miniaturizovaná plynová chromatografie	89
3.6	Vícerozměrná plynová chromatografie	89

4 SUPERKRITICKÁ FLUIDNÍ CHROMATOGRAFIE

Kateřina Plachká, Josef Planeta, Lucie Nováková

4.1	Úvod	93
4.2	Mobilní fáze v SFC	93
4.2.1	Čistý oxid uhličitý	94
4.2.2	Směsi CO ₂ a organického modifikátoru	96
4.3	Stacionární fáze v SFC	99
4.3.1	Náplňové kolony	99
4.3.2	Kapilární kolony	100
4.4	Instrumentace v SFC	101
4.4.1	Zdroj nadkritické tekutiny a organického modifikátoru	101
4.4.2	Dávkovací zařízení – automatické dávkovače	102
4.4.2.1	Automatické dávkovače	102
4.4.2.2	Dávkování systémem s časovým omezením nástřiku (timed-delay)	103
4.4.2.3	Dávkování pomocí vstupního děliče	103
4.4.3	Termostat kolony v SFC	104
4.4.4	Regulace tlaku v SFC	104
4.4.4.1	Regulátor zpětného tlaku - BPR	104
4.4.4.2	Restriktory	104
4.4.5	Detektory v SFC	106
4.4.5.1	Spojení SFC-MS	107
4.5	Využití SFC v současné praxi	109
4.6	Další využití SFC	113
4.6.1	Využití SFC k izolaci analytů - preparativní SFC	113
4.6.2	Využití SFC pro měření distribučních konstant v systému scCO ₂ – IL	115

4.7 Závěr	116
-----------------	-----

5 KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (LC).....119

<i>Pavel Jandera, Petr Česla</i>	
5.1 Princip kapalinové chromatografie	119
5.2 Nízko- a vysokotlaké techniky, analytická a preparativní LC	120
5.3 Termodynamický a kinetický aspekt chromatografie, chromatografická data	121
5.4 Kolony v HPLC	123
5.4.1 Tok mobilní fáze kolonou, náplně kolon pro HPLC - pórovité, povrchově pórovité, monolitické	124
5.4.2 Stacionární fáze	125
5.5 Instrumentace v HPLC	127
5.5.1 Zásobníky, úprava a čerpání mobilní fáze	127
5.5.2 Systémy pro tvorbu gradientu mobilní fáze	128
5.5.3 Dávkování vzorků	129
5.5.4 Detektory pro HPLC	129
5.6 Chromatografické fázové systémy	133
5.6.1 Chromatografie v systémech s obrácenými (převrácenými) fázemi	134
5.6.2 Chromatografie v systémech s normálními fázemi	135
5.6.3 Iontově-výměnná chromatografie, iontová chromatografie a chromatografie iontové výluky	137
5.6.4 Chromatografie prostorové výluky	139
5.6.5 Separace založené na tvorbě komplexů, chirální separace, bioafinitní chromatografie	140
5.7 Vývoj a optimalizace pracovních podmínek při HPLC	140
5.8 Programované a kombinované HPLC separační techniky	141
5.8.1 Gradientová eluce	141
5.8.2 Dvourozměrná kapalinová chromatografie	142
5.9 Závěr	145
5.10 Kapalinová chromatografie v plošném uspořádání: Chromatografie na papíru a na tenkých vrstvách	148
<i>Pavel Jandera, Aneta Hartmanová</i>	

6 HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE153

<i>Josef Čáslavský, Vítězslav Otruba</i>	
6.1 Teoretické základy	153
6.2 Konstrukce hmotnostního spektrometru	154
6.2.1 Ionizační techniky	155
6.2.1.1 Elektronová ionizace (EI)	155
6.2.1.2 Chemická ionizace (CI)	156
6.2.1.3 Elektrosprej	157
6.2.1.4 Chemická ionizace za atmosférického tlaku	158
6.2.1.5 Fotoionizace za atmosférického tlaku (APPI)	159
6.2.1.6 Maldi	160
6.2.1.7 Indukčně vázané plazma (ICP)	161
6.2.1.8 Iontové zdroje pro přímou analýzu vzorku	161
6.2.2 Analyzátor	163
6.2.2.1 Magnetický analyzátor (B)	163
6.2.2.2 Elektrostatický analyzátor (ESA, E)	164
6.2.2.3 Analyzátor s dvojitou fokusací	164
6.2.2.4 Kvadrupól (Q)	165
6.2.2.5 Sférická iontová past (3D-IT)	166
6.2.2.6 Lineární iontová past (LIT)	166
6.2.2.7 Analyzátor doby letu (TIME-OF-FLIGHT, TOF)	167
6.2.2.8 Iontová cyklotronová rezonance s Fourierovou transformací (FT-ICR)	168
6.2.2.9 Orbitrap	168
6.2.3 Detektory	169
6.2.4 Vakuový systém	170
6.2.4.1 Mechanické vývěvy	171

6.3	Tandemová hmotnostní spektrometrie.....	172
6.3.1	Tandemové hmotnostní spektrometry na bázi sektorových analyzátorů.....	172
6.3.2	Trojité kvadrupól (QQQ, QqQ).....	172
6.3.3	Tandem TOF-TOF.....	173
6.3.4	Trojité kvadrupól s lineární iontovou pastí (QqQLIT).....	173
6.3.5	Q-TOF	173
6.4	Mobilní hmotnostní spektrometrie.....	173
6.5	Hmotnostní spektrometrie izotopových poměrů (IRMS)	174
6.5.1	Princip IRMS.....	174
6.5.2	Využití IRMS	175
7	SPOJENÍ CHROMATOGRAFICKÝCH TECHNIK A HMOTNOSTNÍ SPEKTROMETRIE.....	181
<i>Josef Časlavský</i>		
7.1	Spojení plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrií (GC/MS)	181
7.2	Instrumentace pro GC/MS	183
7.2.1	GC/MS s kvadrupólem	183
7.2.2	GC/MS se sférickou iontovou pastí.....	183
7.2.3	GC/MS s trojitým kvadrupólem	183
7.2.4	GC/MS se sektorovými analyzátorami	183
7.2.5	GC/MS s analyzátorem doby letu.....	183
7.2.6	GC/MS s Orbitrapem.....	184
7.2.7	GC/FT-ICR MS	184
7.2.8	GC/Q-TOF	184
7.3	Spojení kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií.....	185
7.3.1	Instrumentace pro LC/MS	186
7.4	Spojení superkritické fluidní chromatografie s hmotnostní spektrometrií.....	186
8	ELEKTROSEPARAČNÍ METODY	189
8.1	Kapilárna zónová elektroforéza, izotachoforéza a epitachoforéza	189
<i>Marián Kovalčík, Ludmila Křivánková, Ivona Voráčová</i>		
8.1.1	Teoretické princípy.....	189
8.1.2	Konštrukcia prístrojov	191
8.1.2.1	Zdroj prúdu (napäťia)	191
8.1.2.2	Kapiláry	191
8.1.2.3	Detektory	193
8.1.3	Zónová elektroforéza.....	194
8.1.4	Izotachoforéza	196
8.1.4.1	Inštrumentácia pre ITP	199
8.1.5	Aplikácie ITP a CZE	200
8.1.6	Epitachoforéza.....	206
8.1.6.1	Princip.....	206
8.1.6.2	Instrumentace.....	208
8.1.6.3	Aplikace	208
8.2	Afinitní kapilární elektroforéza	209
<i>Petr Kubáň</i>		
8.2.1	Úvod	209
8.2.2	Princip ACE	209
8.2.3	Vyhodnocení naměřených dat – Scatchardův graf	210
8.2.4	Techniky ACE	211
8.2.4.1	Analýza rovnovážných směsí	212
8.2.4.2	Analýza založená na změně elektroforetických mobilit	213
8.2.4.3	ACE s imobilizovaným ligandem	215
8.2.5	Aplikace ACE.....	215
8.2.6	Závěr.....	215
8.3	Gelová elektroforéza.....	217
<i>Petr Kubáň</i>		

8.3.1	Úvod	217
8.3.2	Princip GE	217
8.3.3	Instrumentace	217
8.3.4	Typy gelů.....	218
8.3.4.1	Agarosový gel.....	218
8.3.4.2	Polyakrylamidový gel (PAGE).....	218
8.3.4.3	Další typy gelů.....	219
8.3.5	Separační elektrolyt.....	219
8.3.6	Elektroforéza v polyakrylamidovém gelu s dodecylsulfátem sodným (SDS-PAGE)	219
8.3.7	Detekce.....	220
8.3.8	Blotting.....	220
8.3.9	Dvoudimenzionální (2D) gelová elektroforéza	220
8.3.10	Kapilární gelová elektroforéza (CGE).....	221
8.3.10.1	DNA sekvenování pomocí kapilární gelové elektroforézy.....	221
8.3.11	Závěr.....	222
8.4	Elektrokinetické chromatografické metody	223
	<i>Petr Česla, Jana Váňová</i>	
8.4.1	Micelární elektrokinetická chromatografie	224
8.4.1.1	Tenzidy používané v micelární elektrokinetické chromatografii	225
8.4.2	Další elektrokinetické chromatografické techniky	227
8.4.3	Instrumentální aspekty spojené s elektrokinetickou chromatografií	228
8.4.4	Aplikace elektrokinetické chromatografie	229
9	ELEKTROANALYTICKÉ METODY.....	235
	<i>František Opekar, Vlastimil Vyskočil</i>	
9.1	Obecný úvod a rozdělení elektroanalytických metod	235
9.1.1	Struktura mezifází kov/elektrolyt, elektrická dvojvrstva	235
9.1.2	Vznik elektródového potenciálu.....	236
9.1.3	Elektrochemický článek	236
9.1.4	Průchod proudu elektrochemickým článkem – kinetika elektrodových reakcí.....	237
9.1.5	Transportní procesy v elektrochemickém článku.....	239
9.1.6	Rozdělení elektroanalytických metod	241
9.2	Voltametrická analýza	242
9.2.1	Princip metody	242
9.2.2	Instrumentace	243
9.2.3	Pracovní elektrody.....	244
9.2.3.1	Rotující disková elektroda	246
9.2.3.2	Mikroelektrody a jejich soubory.....	246
9.2.4	Další komponenty voltametrické cely	248
9.2.5	Varianty voltametrických měření	248
9.2.5.1	Diferenční pulsní voltametrie	248
9.2.5.2	Elektrochemická rozpouštěcí voltametrie	249
9.2.6	Nové trendy ve voltametrické analýze	251
9.2.6.1	Netradiční elektrodové materiály	252
9.2.6.2	Voltametrické DNA biosenzory	254
9.3	Ampérometrie	256
	<i>Jana Skopalová</i>	
9.3.1	Ampérometrické senzory	256
9.3.1.1	Clarkovo kyslíkové čidlo	256
9.3.1.2	Enzymové biosenzory	257
9.3.1.3	Tkáňové a bakteriální biosenzory	259
9.3.2	Ampérometrické detektory	259
9.3.2.1	Průtokové cely	260
9.3.2.2	Pracovní elektrody pro průtoková měření	261
9.3.2.3	Měřící techniky	262
9.3.2.4	Použití ampérometrické detekce v průtokové analýze organických látek	262

10.5.4	^{15}N NMR spektroskopie	331
10.5.5	Způsoby měření ^{15}N NMR spekter v roztoku.....	333
10.5.5.1	Přístrojové vybavení pro měření ^{15}N NMR spekter.....	334
10.5.5.2	Standardy v ^{15}N NMR.....	335
10.5.6	Interpretace ^{15}N NMR spekter.....	335
10.5.7	Speciální kvantitativní analýza.....	339

11 MOBILNÍ SPEKTRÁLNÍ ANALYZÁTORY 347

Tomáš Černohorský

11.1	Členění podle technik a vybraných aplikací	347
11.2	Ramanova spektrometrie	347
11.2.1	Nejrozšířenější aplikace mobilních Ramanových spektrometrů	354
11.2.1.1	Bezpečnostní aplikace – detekce nebezpečných látok	354
11.2.1.2	Mobilní detekce narkotik a jejich prekurzorů	355
11.2.1.3	Kontrola pozitivní shody vstupních surovin ve farmac. a kosmetickém průmyslu	356
11.2.1.4	Detekce padělků léčiv.....	357
11.2.1.5	Rychlá kvantitativní analýza v terénu a v provozech	358
11.3	Infračervená spektrometrie ve střední oblasti	359
11.3.1	Filtrové spektrometry a spektrometry na principu LVF (Linear Variable Filter)	359
11.3.2	FT-IR spektrometry pro identifikaci pevných a kapalných látok	359
11.3.3	FT-IR spektrometry pro identifikaci a kvantifikaci plynů a par	361
11.3.4	Spektrometry využívající laditelné infračervené lasery	362
11.4	NIR spektrometrie	363
11.5	Hmotnostní spektrometrie	365

12 ORGANICKÁ ELEMENTÁRNÍ ANALÝZA 371

Jan Langhans

12.1	Princip metod organické elementární analýzy	371
12.2	Stanovení celkového organického uhlíku (TOC) a forem uhlíku	371
12.2.1	Základní pojmy a rozdělení metod	371
12.2.2	Stanovení TOC suchým spalováním	372
12.2.3	Stanovení TOC oxidační mineralizací s UV zářením	372
12.2.4	Stanovení forem uhlíku postupným termickým rozkladem	372
12.3	Stanovení organického dusíku	373
12.3.1	Stanovení dusíku podle Dumase	373
12.3.2	Stanovení dusíku podle Kjeldahla	374
12.3.3	Stanovení vázaného dusíku (TN_b)	374
12.3.4	Další metody stanovení dusíku	375
12.4	Stanovení fosforu	376
12.5	Stanovení síry	376

Antonín Povolný

12.6	Stanovení halogenů	376
12.6.1	Základní pojmy a rozdělení metod	377
12.6.2	Analyzátor organicky vázaných halogenů	377

12.7	Stanovení rtuti	379
------	-----------------------	-----

Věra Spěváčková, Mája Čejchanová

12.7.1	Vlastnosti rtuti	379
12.7.2	Stanovení rtuti	379
12.7.2.1	Přímé stanovení celkového obsahu Hg	379
12.7.3	Sledování vlivu obsahu rtuti v životním prostředí na zdraví člověka	381
12.7.3.1	Stanovení anorganicky a organicky vázané rtuti ve vlasech	381

12.8	Stanovení C, H, N, S spalovacími analyzátory	382
------	--	-----

Pavel Novák

12.8.1	Charakteristické vlastnosti elementárních analyzátorů	382
12.8.1.1	Způsoby detekce prvků C, H, N, S	382
12.8.1.2	Navázky vzorku	382

12.8.1.3	Spalování vzorku	383
12.8.1.4	Měřicí rozsah analyzátorů.....	383
12.8.2	Obvyklé kombinace měřených prvků.....	383
12.8.2.1	Analyzátor CHNS	383
12.8.2.2	Analyzátor CNS	384
12.8.2.3	Analyzátor SC.....	384
12.8.2.4	Analyzátor stanovení obsahu kyslíku.....	385
12.9	Závěr	385
13	PŘÍKLADY APLIKACÍ ANALYTICKÝCH METOD V RŮZNÝCH OBLASTECH	389
13.1	Kontrola životního prostředí	389
	<i>Vladimír Kraják, Jiří Pavlosek, Lucie Hellebrandová</i>	
13.1.1	Vody	389
13.1.1.1	Nejužívanější nespecifické (skupinové, neselektivní) parametry	389
13.1.1.2	Selektivní stanovení.....	391
13.1.2	Ovzduší	393
13.1.2.1	Přímá měření pomocí analyzátorů	393
13.1.2.2	Záchyt na kolektor k následnému analytickému stanovení	394
13.1.2.3	Venkovní ovzduší (imise)	396
13.1.2.4	Emise (odpadní plyn)	397
13.1.2.5	Ovzduší pobytových místností	397
13.1.2.6	Pracovní ovzduší	398
13.1.2.7	Půdní vzduch (atmogeochemický průzkum)	398
13.1.3	Odpady a kaly.....	399
13.1.4	Půda a sedimenty	400
13.2	Organická analýza v chemickém průmyslu	402
	<i>Pavel Kuráň, Pavel Janoš</i>	
13.2.1	Specifika analýzy v chemickém průmyslu	402
13.2.2	Výroba polypropylenu.....	403
13.2.3	Hodnocení vlastností petrochemických surovin a produktů pomocí NIR	404
13.2.4	Výroba kaprolaktamu	407
13.2.5	Výroba generátorového plynu zplyňováním biomasy	409
13.3	Klinická biochemie a toxikologie	412
13.3.1	Klinická biochemie.....	412
	<i>Luděk Dohnal, Richard Průša</i>	
13.3.1.1	Glukóza v krvi (v plazmě)	412
13.3.1.2	Močovina v séru	412
13.3.1.3	Kreatinin v séru.....	413
13.3.1.4	Kyselina močová v séru.....	413
13.3.1.5	Cholesterol celkový v séru.....	413
13.3.1.6	Bilirubin celkový v séru.....	414
13.3.1.7	Gamaglutamyltransferasa (GGT) v séru.....	414
13.3.1.8	Alaninaminotransferasa a aspartátaminotransferasa (ALT a AST) v séru	414
13.3.1.9	Albumin v moči (mikroalbuminurie)	414
13.3.1.10	Celková bílkovina v séru	415
13.3.1.11	Elektroforéza bílkovin krevního séra	415
13.3.2	Toxikologie	417
	<i>Štěpánka Vlčková</i>	
13.3.2.1	Toxikologická analýza	417
13.3.2.2	Průmyslová toxikologie	418

13.4 Kriminalistické a celní laboratoře.....	419
13.4.1 Kriminalistické a forenzní aplikace metod organické chemické analýzy	419
<i>Oldřich Vyhálek</i>	
13.4.1.1 Subjekty kriminalistické a forenzní chemie.....	419
13.4.1.2 Objekty kriminalistickotechnické expertizy organických látek.....	419
13.4.1.3 Separační metody.....	420
13.4.1.4 Spektroskopické metody.....	421
13.4.1.5 Nové směry.....	422
13.4.2 Stanovení organických látek v Celně technické laboratoři	423
<i>Stanislav Ondroušek</i>	
13.4.2.1 Úkoly Celně technické laboratoře	423
13.4.2.2 Používané analytické metody	424
13.5 Farmacie: stanovení nitrosonečistot	428
<i>Jaroslav Kuchyňa, Kirill Mitusov, Zbyněk Mružek</i>	
13.5.1 Monitoring N-nitrosaminů ve farmaceutických produktech	428
13.5.2 Chromatografické metody stanovení N-nitrosaminů	429
13.5.3 Headspace metody GC/MS a GC/MS/MS	430
13.5.3.1 Příprava vzorku.....	430
13.5.3.2 Parametry headspace autosampleru	430
13.5.3.3 Parametry plynového chromatografu.....	430
13.5.3.4 Porovnání výsledků analýz s použitím SQ a MS/MS detektoru.....	430
13.5.4 Extrakční metody GC/MS a GC/MS/MS	431
13.5.4.1 Příprava extraktu vzorku.....	431
13.5.4.2 Parametry ALS	432
13.5.4.3 Parametry plynového chromatografu.....	432
13.5.4.4 Hodnocení GC/MS a GC/MS/MS analýzy extractů vzorků léčiv	432
13.5.5 Analýza metodou LC/MS/MS.....	433
13.5.5.1 Příprava vzorku.....	433
13.5.5.2 Hodnocení analýzy N-Nitrosaminů pomocí LC/MS A LC/MS/M	433
13.5.6 Závěr.....	433
Autorský rejstřík.....	439
Sponzoři, inzerce	442