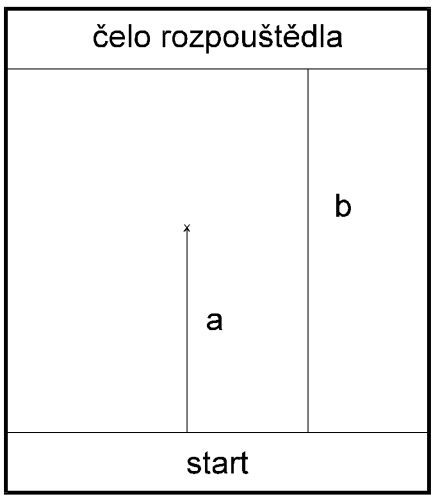
Návody na laboratorní cvičení z analytické chemie	
Název úlohy:	Papírová a tenkovrstvá chromatografie
Úkol:	1) Důkaz hydrochinonu a metholu chromatografií PC, určení hodnoty R_f 2) Důkaz aminokyselin chromatografií TLC, určení R_f

Teoretický princip :

Chromatografie je separační metoda, kdy se složky vzorku dělí mezi dvě fáze, přičemž jedna je pohyblivá, tzv. mobilní a druhá je nepohyblivá, tzv. stacionární.K rozdělení dochází na základě různé schopnosti složek zachycovat se na stacionární fázi. Během separačního procesu dochází několikrát k zadržení složky na stacionární fázi a vymytí složky mobilní fází. Složka, která se více zadržuje ve stacionární fázi se opožďuje vhledem ke složce, která se zachycuje méně.Stacionární fáze v papírové (PC) a tenkovrstvé (TLC) chromatografii je uspořádána plošně. Vzorek je dávkován ve formě kapky na startovní čáru a je sledována dráha, kterou jednotlivé složky urazí za stejnou dobu. Pro každou složku je typická hodnota retardačního faktoru R_f , která se vypočítá jako poměr vzdálenosti skvrny složky od startu *a* (v mm, cm) ku vzdálenosti čela mobilní fáze od startu *b* (v mm, cm):

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Nákres :



Hodnoty R_f vystihují zpožďování složek za čelem mobilní fáze a jsou reprodukovatelné pouze za přesně stejných podmínek. Proto se vždy současně se vzorkem dávkují na startovní čáru i standardní látky, které slouží k porovnávání hodnot R_f se vzorkem. Tak se vyhodnotí složení vzorku z hlediska kvalitativní analýzy.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

V PC je stacionární fáze (voda) zakotvena na nosiči, kterým je chromatografický papír. Mobilní fáze je kapalné rozpouštědlo, nejčastěji směs kapalných rozpouštědel, která vyhovuje svou polaritou. Z hlediska principu separace jde o rozdělovací chromatografii.
V TLC je stacionární fází tuhý sorbent nanesený ve velmi tenké vrstvě na skleněnou nebo hliníkovou destičku a mobilní fázi tvoří opět kapalné rozpouštědlo, popř. směs rozpouštědel. Jde tedy o adsorpční chromatografii.
Nejčastěji se používají tyto způsoby vyvíjení :

a) vzestupný - mobilní fáze postupuje vzhůru po stacionární fázi (v TLC) ↑ .
b) sestupný - mobilní fáze se pohybuje svislým směrem dolů (v PC) ↓ .
c) kruhový - mobilní fáze se pohybuje ze středu po soustředných kružnicích .

Postup práce :

Chromatografie PC

Papírovou chromatografií proveďte důkaz hydrochinonu a metholu ve vzorku.

a) sestupné vyvíjení

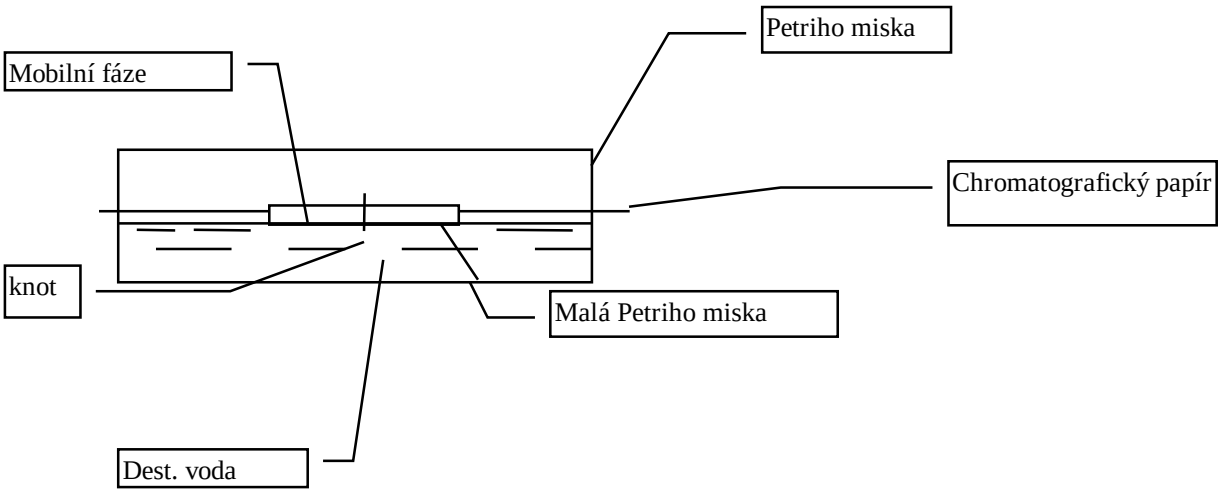
Připravte si proužek chromatografického papíru asi 10 - 15 cm dlouhý a široký tak, aby se nedotýkal chromatografického válce. Asi 3 cm od okraje označte tužkou startovní čáru, na kterou naneste kapilárou vzorek a standardní roztoky metholu a hydrochinonu. Po zaschnutí papír zasuňte do prázdné vaničky a zajistěte skleněnou tyčinkou. Na dno válce nalijte destilovanou vodu (stacionární fázi) , uzavřete válec víkem a ponechte sytit chromatografický papír vodní parou asi 45 min. Pak opatrně nalijte pipetou do vaničky mobilní fázi, kterou tvoří 4 díly n-butanolu, 1 díl ledové kyseliny octové a 5 dílů destilované vody (směs tvoří dvě kapalné fáze - použijte horní vrstvu). Zajistěte víkem a nechte postupovat mobilní fázi do vzdálenosti asi 12 cm. Papír vyndejte, tužkou označte čelo mobilní fáze a usušte. Analyzované látky netvoří barevné skvrny, proto je nutné provést detekci skvrn. Papír ovlhčete 1%ním amoniakálním roztokem $AgNO_3$. Po nástřiku se objeví skvrny, které tužkou obtáhněte a vyznačte středy. Změřte vzdálenosti a vypočítejte R_f . Určete složení vzorku.

b) Kruhové vyvíjení

Z chromatografického papíru vystřihněte kruh, jehož průměr souhlasí s průměrem Petriho misky. Kružítkem vyznačte start, což bude soustředná kružnice s nejmenším průmětem asi 1 - 2 cm a naneste vzorek a standardy. Na dno Petriho misky nalijte destilovanou vodu a mezi obě misky vložte sytit kruhový chromatografický papír. Potom vložte menší Petriho misku s mobilní fází plavat na vodu ve spodní misce a z ní vyveďte knot z kousku stočené vaty do středu chromatografického papíru , kde předem vystřihněte otvor. Po skončení vyvíjení označte čelo mobilní fáze a postupujte jak již bylo popsáno.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

Nákres :



Chromatografie TLC

Tenkovrstvou chromatografií proveďte důkazy aminokyselin ve vzorku vzestupným vyvíjením. Na chromatografické destičce označte tužkou asi 2 cm od okraje start. Na startovní čáru naneste pipetou kapku vzorku a standardních roztoků známých aminokyselin. Nechte zaschnout. Do chromatografické vany vlijte mobilní fázi tvořenou 3 díly butanolu, 1 dílem ledové kyseliny octové a 1 dílem destilované vody. Startovní čára musí být po vložení destičky do mobilní fáze nad hladinou kapaliny. Uzavřete víkem vanu. Mobilní fáze bude vzlínat a postupně unášet skvrny od startu. Čelo mobilní fáze nechte dojít asi 2 cm od horního okraje destičky. Vyjměte destičku z vany a nechte ji usušit na vzduchu. Bezbarvé skvrny je nutné opět detekovat. Lehce je postříkejte 0,2%ním roztokem ninhydrinu v acetonu a usušte v sušárně při teplotě 105 - 110°C. Skvrny obtáhněte tužkou , vyznačte středy a počítejte R_f . Vyhodnoťte analyzovaný vzorek. Hodnoty R_f uspořádejte do tabulky.

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com