

Návody na laboratorní cvičení z analytické chemie

Název úlohy: Elektroforéza

Úkol: Identifikace vzorků indikátorů uvedenými metodami.

Teoretický princip:

Elektroforézou se rozumí pohyb nabitých koloidních částic v roztoku elektrolytu vlivem elektrického pole na pórovitém prostředí (speciální papír). Rychlost pohybu nabitých částic závisí na jejich náboji, velikosti a tvaru a na potenciálovém spádu. Proto se zavádí tzv. elektroforetická pohyblivost částic u , což je rychlost částice vztažená na jednotkový potenciálový spád:

$$u = \frac{s/t}{E/l} = \frac{s \cdot l}{E \cdot t}$$

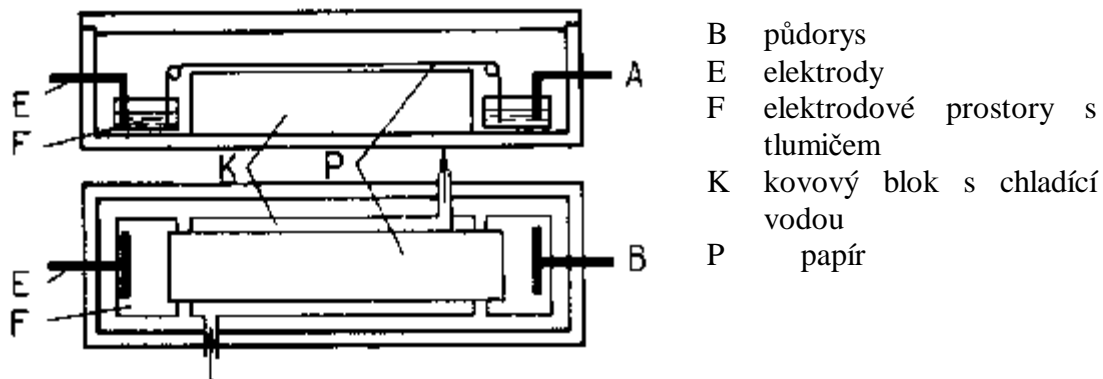
- E napětí vložené na elektrody
l vzdálenost elektrod mezi nimiž se měří napětí E
s dráha částice za dobu t

Na základě různých elektroforetických pohyblivostí lze dělit směsi bílkovin, peptidů, aminokyselin a indikátorů. Pro dělení je velmi důležitá hodnota pH.

Aparatura:

Pro elektroforézu na papíru slouží tzv. vlhká komůrka s papírem v horizontální poloze. Pruh papíru P nasáklý tlumivým roztokem je uložen na skleněné desce a svými konci zasahuje do elektrodových prostorů F naplněných stejným tlumivým roztokem, v nichž jsou umístěny platinové nebo uhlíkové elektrody E. Na tyto elektrody se vkládá stejnosměrné napětí, jehož velikost se řídí délkou papíru a požadovaným potenciálovým spádem. U nízkonapěťové elektroforézy postačuje potenciálový spád 5 až 10 Vcm⁻¹. Požadavky na velikost proudu jsou malé (kolem 1 mA). Jde-li pouze o dělení a ne o přesné určení pohyblivostí částic, stačí i jednocestný usměrňovač. Jako zdroj lze použít baterii akumulátorů nebo variační transformátor doplněný usměrňovačem.

Obr. Aparatura pro zónovou horizontální elektroforézu:



Při průchodu proudu vzniká Jouleovo teplo, a proto bývá deska s papírem umístěna na kovovém bloku chlazeném vodou. Zabraňuje se tak nežádoucímu odpařování roztoku a tím i změně jeho složení. V elektrodových prostorech musí být dostatečný objem tlumivého roztoku a hladina v obou prostorech musí být ve stejné výši, aby papír nepůsobil jako násoska.

Postup práce:

Na papír ovlhčený acetátovým tlumivým roztokem $\text{pH} = 4,7$ nanese se vzorky roztoků indikátorů v ethanolu v objemovém množství 2 až 5 mm^3 . Elektroforézu necháme probíhat při potenciálovém spádu 10 až 20 V cm^{-1} (napětí mezi elektrodami nastavit asi na $180 - 200 \text{ V}$) tak dlouho, až se skvrny dostatečně posunou od místa startu. Papír vysušte v horizontální poloze při laboratorní teplotě. Zjistěte směr a uraženou vzdálenost v závislosti na typu iontu, který při daném pH převládá (vzorce indikátorů najdete v tabulkách). Pokus opakujte v amoniakálním tlumivém roztoku, který má $\text{pH} = 9$ a výsledky porovnejte.