

ÚLOHA č.6

CHROMATOGRAFICKÉ SYSTÉMY TLC

CHROMATOGRAFIE NA TENKÉ VRSTVĚ

6.1. PRINCIP METODY

Chromatografie na tenké vrstvě – tímto názvem se souborně označují plošně chromatografické techniky, v nichž jako chromatografické lože místo porézního papíru slouží tenké vrstvy (o tloušťce 100 – 300 μm) velmi jemně zrněných sorbetů nejrůznější povahy, fixované vhodnými pojidly na inertních podkladových deskách. TLC umožňuje kvalitativně i kvantitativně analyzovat složité směsi látek s využitím všech známých dělicích principů kapalinové chromatografie – adsorbce, rozdělování, iontové výměny, molekulárně síťového efektu.

Tenkovrstvá chromatografie patří mezi metody kapalinové chromatografie. Znamená to, že mobilní fází je kapalina, nejčastěji organická rozpouštědla (propanol, aceton, cyklohexan, toluen, chloroform atd.) nebo jejich roztoky. Stacionární fáze je nanášena na skleněné destičce nebo na hliníkové folii. Tenký plíšek hliníku, na kterém je nanesený silikagel se nazývá silufol. Stacionární fází bývá většinou silikagel, oxid hlinitý nebo celulóza.

Tenkovrstvá chromatografie je velmi rychlá, jednoduchá a často používaná metoda, nejčastěji ke kontrole čistoty analytu. U tohoto druhu chromatografie převládá rozdílná adsorbce na tenké vrstvě sorbentu. Na povrch silufolu se nanáší analyzovaná směs a postaví se do mobilní fáze, která vzlíná nahoru stacionární fází a unáší různou rychlostí složky analytu. Vztlínání se přerušuje, jakmile rozpouštědlo dosáhne požadované výšky. Výška, kterou rozpouštědlo dosáhlo, se opět označí tužkou (tvrdost HB), jako čelo chromatogramu. Určujícím ukazatelem je **retenční faktor**, což je poměr vzdálenosti středu skvrny od startu (namalovaná čára tužkou před začátkem vývoje) a vzdálenost čela chromatogramu od startu:

$$R_f = \frac{V_M}{V_R}$$

Kde: V_M je vzdálenost středu skvrny od startu a V_R je vzdálenost čela od startu.

Vyvíjení probíhá v tlustostěnné nádobě přikryté skleněnou deskou. V uzavřené nádobě dojde k nasycení prostředí parami mobilní fáze.

6.2. ÚKOL

6.2.1. Připravit si chromatogramy jednotlivých barviv

6.2.2. Stanovit jednotlivá barviva v neznámém

6.3. CHEMIKÁLIE A APARATURA

6.3.1. LABORATORNÍ SKLO A POMŮCKY

Skleněné pipetky (kapiláry) podle počtu zkoumaných barviv, Silufol (sorbent silikagel Silpearl pro TLC), tlustostěnná skleněná vyvíjecí hranolová komora (2x), odměrný válec 100 ml (1x), měkká tužka (tvrdost HB), pravítko.

6.3.2. CHEMIKÁLIE

Kyselina octová konc., n-propanol, destilovaná voda, eriochromová čerň, anilinová žlut', cottonová červec, brilantní zeleň, methylenová modř

6.4. POSTUP

Silufol si nastříháme na asi 2 cm široké pásy, na které zakreslíme měkkou tužkou (tvrlosti HB) 1cm od okraje START, opatrně tak aby nedošlo k porušení vrstvy silikagelu.

Poté si přichystáme vyvíjecí soustavy:

- | | |
|--|-------------|
| 1) n-propanol : voda | 9 : 1 |
| 2) n-propanol : voda : kyselina octová | 85 : 14 : 1 |

Každou z vyvíjecích soustav si nachystáme do tlustostěnné hranolové nádoby a přikryjeme skleněným víkem, aby došlo k nasycení par.

Jakmile máme nachystané vyvíjecí roztoky, přistoupíme k přípravě silufolu. Pro každé barvivo máme nachystané 2 proužky silufolu s čárou startu pro 2 vyvíjecí soustavy.

Doprostřed každé čáry startu budeme kapilárou nanášet barvivo a to tak, že do kapiláry nabere kapku roztoku barviva a přiložíme na místo ve středu čáry startu. Počkáme, až se barvivo nasaje do silikagelu a vznikne nám skvrna o velikosti 2-4 mm, necháme skvrnu zaschnout a opakujeme nanášení 2-3x. Toto opakujeme se všemi barvivými. Postupně již vkládáme silufol do vyvíjecí soustavy tak, aby byl opřen v mírném sklonu o stěnu vyvíjecí nádoby a ihned vyvíjecí nádobu uzavřeme víkem. Sledujeme, jak mobilní fáze vzlíná, a počkáme, až dostoupí cca 1 cm pod vrchol silufolu. Poté zakreslíme opět tužkou čáru vrcholu čela mobilní fáze a pokusíme se obtáhnout skvrnu, kterou nám zanechalo barvivo, neboť po usušení silufolu by nemusela být skvrna dostatečně zřetelná. Pravítkem změříme vzdálenost čela mobilní fáze od startu a vzdálenost středu skvrny od startu a hodnoty si zapíšeme.

Tento postup opakujeme u všech druhů barviv pro obě 2 rozpouštědla i pro neznámé vzorky.

Důležité!

V žádném případě nesmí dojít k záměně kapilár použitých pro jednotlivá barviva, každé barvivo i neznámý vzorek má svoji vlastní kapiláru na nanášení.

Veškeré sklo musí být řádně omyto, aby nedošlo ke kontaminaci dalších vzorků.

Opatrnost při nakládání s barvivými, neboť barviva se špatně dostávají jak z pracovní plochy, tak z oblečení.

6.5. VYHODNOCENÍ

6.5.1. Vypočítat refrakční faktory jednotlivých barviv a určit dle nich složení neznámého vzorku.

6.5.2. Sledovat rozdíl mezi působením 1. a 2. vyvíjecí soustavy.