PROTOKOL č.10

Téma: Chromatografia

Úloha: Pomocou papierovej chromatografie oddeľte od seba zmes rastlinných farbív.

Teória: Chromatografia je fyzikálno-chemická, analytická metóda používaná na separáciu a identifikáciu zložiek kvapalných zmesí a roztokov. Pre svoju jednoduchú realizáciu patrí k najčastejšie používaným chromatografickým technikám. Jej podstatou je rozdeľovanie zložiek zmesi medzi dvoma fázami – stacionárnou a mobilnou. Samotná separácia je dôsledkom rozdielnej afinity jednotlivých zložiek ku týmto dvom fázam. Stacionárna a mobilná fáza sa od seba odlišujú niektorou základnou fyzikálno – chemickou vlastnosťou, napr. polaritou.

Princíp papierovej chromatografie:

Stacionárnu fázu pri papierovej chromatografii tvorí chromatografický papier a mobilnú fázu kvapalina (napr. butanol, pentán, acetón). Pri papierovej chromatografii sa kladie veľký dôraz na čistotu mobilnej fázy a homogénnu štruktúru papiera. Niekedy je možné namiesto chromatografického papiera použiť obyčajný filtračný papier.

Mobilná fáza postupne pomocou kapilárnych síl vzlína po papieri, na ktorom sú v jednej línii (tzv. štart) nanesené pomocou kapiláry separované zmesi a štandardy (t. j. zložky, ktoré v zmesi očakávame). Jednotlivé zložky zmesi sú k vláknam papiera priťahované rôznou silou (t. j. afinita) a preto sú mobilnou fázou unášané rôznou rýchlosťou.

Po určitom čase sa škvrna nanesenej zmesi rozdelí na viacero škvŕn v rôznej vzdialenosti od štartu. Samotný štart nie je nikdy ponorený v mobilnej fáze.

Podmienkou toho, aby sa zmes dala rozdeliť papierovou chromatografiou je, že všetky zložky musia byť farebné, alebo ľahko vyfarbiteľné. Na vyfarbovanie (tzv. vyvolanie) chromatogramu sa používa najčastejšie amoniak, pary jódu, ninhydrín a UV žiarenie.

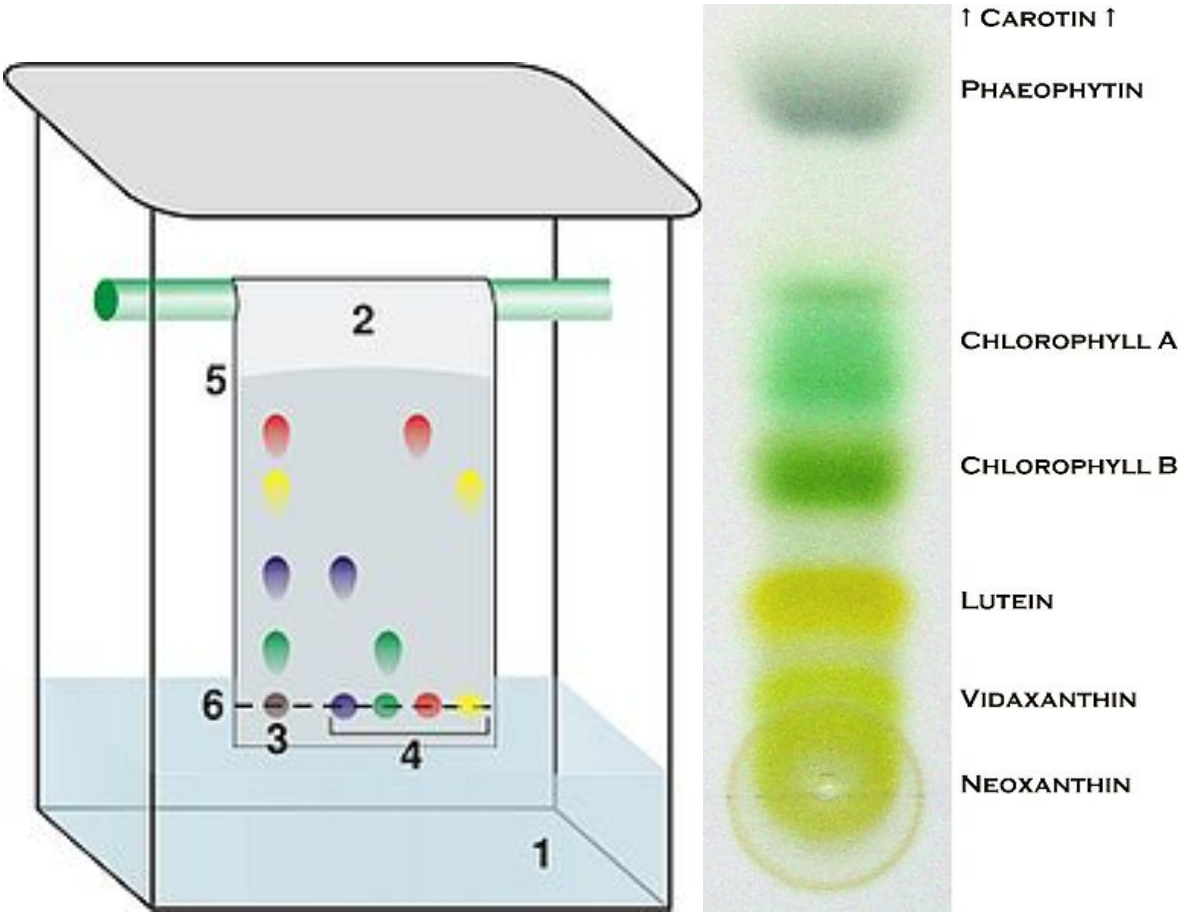
Pre každú vytvorenú škvrnu možno vypočítať retardačný faktor R_F:

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

a — vzdialenosť škvrny od štartu

b — vzdialenosť čela mobilnej fázy od štartu

Hodnota retardačného faktora je pri rovnakých podmienkach (teplota, rozpúšťadlo atď.) je pre každú látku charakteristická a slúži tak na identifikáciu látok zmesi. Hodnoty faktora sa dajú porovnať s tabuľkovými hodnotami štandardov.



1 — mobilná fáza; 2 — papier; 3 — separovaná zmes; 4 — štandardy; 5 — čelo rozpúšťadlo; 6 — štart

Pomôcky:	chromatografický papier, nožnice, lepiaca páska, sklenená nádoba, pravítko, ceruzka
Chemikálie:	etanolový extrakt z petržlenovej vňate, acetón, etanol
Postup:	Do nádoby sme naliali acetón do výšky asi 1 cm od dna nádoby. Na chromatografickom papieri sme vyznačili štart a naniesli sme kvapku etanolového extraktu petržlenovej vňatky. Chromatografický papier sme vložili do nádoby, ponorili do acetónu tak, že sa nedotýkal dna a ani stien nádoby. Keď sa čelo rozpúšťadla dostalo do výšky 1cm od vrchného okraja, opatrne sme chromatografický papier vybrali z nádoby. Pokus sme opakovali aj s etanolom.
Záver:	Po vysušení sme pozorovali, že najvyššie sa dostalo rozpúšťadlo acetón alebo etanol ktoré majú najväčšiu afinitu k stacionárnej fáze, druhé v poradí žlté rastlinné farbivo xantofyl. Najmenšiu afinitu má zelené farbivo chlorofyl, ktorý sa pohybuje najpomalšie.

Laboratórna práca č.10

Téma: Chromatografia

IV.B