

Návod pro Chromatografii 2 (TLC)

Pomůcky a chemikálie

- TLC destička o rozměrech 4x4 cm s nakreslenou startovní čárou 1 cm od okraje
- Žlutá a zelená fixa značky KOH-I-NOOR HARDTMUTH (viz obrázek). Konkrétně sada 1002 školní popisovače 24ks (771002BD01TE)



- Měkká tužka
- Pinzeta
- Přibližně 15 ml vody
- Přibližně 5 ml octa pro lepší rozdělení barev (tedy poměr 1:3, ocet:voda)
- 100ml kádinka
- Petriho miska s kádinkou

Postup

Pro přípravu mobilní fáze slijeme do 100ml kádinky přibližně 15 ml vody a 5 ml octa. Mobilní fázi přelijeme do prázdné kádinky. Hladina mobilní fáze by měla být asi půl centimetru vysoko. Následně kádinku překryjeme Petriho miskou a chvíli počkáme, aby se vzduch uvnitř nasýtil parami mobilní fáze. Mezitím si připravíme vystřiženou TLC destičku. Na startovní čáru 1 cm od okraje si tužkou vyznačíme body tam, kam budeme nanášet barviva z fixů. Body by měly mít mezi sebou vzdálenost 1 až 2 cm. Při nanášení barviv z fixů stačí lehký dotek špičky fixy na povrch destičky. Každou skvrnu necháme zaschnout a postup opakujeme 2-3krát, aby byla barva dostatečně intenzivní. Stejný postup nanášení aplikujeme i u žluté fixy.

Hotovou destičku pak pomocí pinzety opatrně vložíme do otevřené kádinky tak, aby startovní čára nebyla ponořená v kapalině. Pro správný průběh chromatografie opět uzavřeme kádinku Petriho miskou.

Průběh a ukončení

Můžeme pozorovat průběh chromatografie na tenké vrstvě. Vidíme, jak kapalina vzlíná po destičce a unáší s sebou barviva, která se od sebe oddělují. Opět za tím stojí principy chemie a fyziky! Různá barviva se pohybují jinou rychlostí, protože každá látka má jinou polaritu. Tento faktor ovlivňuje afinitu dané látky k mobilní a stacionární fázi.

Jakmile mobilní fáze doputuje zhruba 1 až 2 cm pod horní okraj destičky v oblasti unášených skvrn, tak destičku pomocí pinzety opatrně vyndáme z kádinky s mobilní fází.

Měkkou tužkou nakreslíme čáru tam, kam vyvzlínala mobilní fáze. Tato čára se nazývá čelo

Vysvětlení prohození barviv u křídly, papíru a TLC destičky

Pořadí žluté a modré barvy na filtračním papíru se liší od pořadí těchto barev na TLC destičce. Žluté barvivo je více polární než modré barvivo. Silikagel na TLC destičce je středně polární látkou. Naopak celulóza, ze které je vyroben filtrační papír, je poměrně polární látka. V systému s filtračním papírem, respektive s celulózou, se na stacionární fázi více zdržovalo žluté barvivo, které je více polární, stejně jako celulóza. Naopak je tomu u modrého barviva. V systému s TLC destičkou (silikagel) je efekt polarity opačný. Více polární žluté barvivo se na stacionární fázi zdržovalo méně, protože tento typ stacionární fáze je méně polární. Proto se žluté barvivo nechalo více unášet mobilní fází. U modrého barviva je to naopak. Rozdělení barviv v systému s křídou je podobné systému s TLC destičkou.