



Chromatografie

Zdroj: <http://www.scifun.org/homeexpts/homeexpts.html> [34]

Didaktický záměr: Vysvětlení pojmu chromatografie.

Popis: Žáci si vyzkouší velmi jednoduché dělení látek pomocí papírové chromatografie.

Připraví si proužek filtračního papíru, na který nanesou barvy podle jejich uvážení. Po ukončení vyvíjení a uschnutí chromatogramu z něj vyčtou hodnotu vzdálenosti čela od startu a středy jednotlivých analytů od startu. Ze získaných hodnot vypočítají retardační faktory.

Výhody: Levné, jednoduché a rychlé.

Nevýhody: Nejdelsí je vyvíjení v Alpe[®]. Nevznikají velké skvrny, ale dlouhé protáhlé skvrny, proto se velmi těžko určuje jejich střed.

Zkušenosti při realizaci: Z důvodu přilepení filtračního papírku k víčku, je dobré nejprve zjistit, jak dlouhý musí být filtrační papír (odhadnout dle velikosti sklenice, v níž se bude chromatogram vyvíjet). Nesmí být příliš dlouhý, aby se start nepotopil, ani příliš krátký, protože by se filtrační papír v rozpouštědle vůbec neponořil.

Místo potravinářských barviv lze použít lentilky, fixy, dále také Tang nebo další přípravky, které obsahují barviva.

Bylo by vhodné také předem vysvětlit, k čemu se chromatogramy a retardační faktory využívají.

Možná modifikace: Úlohu lze provést tak, že nejprve se provede stanovení retardačních faktorů pro známá barviva (žlutá - E102, E104 a E110; modrá - E132 a E133; červená - E120, E122, E124, E127 a E129). Poté se provede rozdělení směsi barviv, např. zelené barvivo je směsí žlutého a modrého barviva. Porovnáním retardačních faktorů se posléze identifikují konkrétní barviva.

Typ experimentu: laboratorní, demonstrační



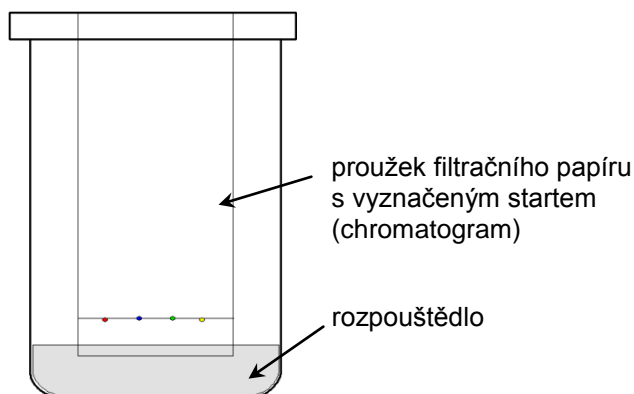
Název: Dělení barviv pomocí papírové chromatografie

Doba experimentu: cca 40 minut

Zadání: Rozdělte potravinářská barviva pomocí Alpy[®] a vody a vypočítejte jejich retardační faktory

Chemikálie a pomůcky: voda, Alpa[®], potravinářská barviva, 2 vyšší sklenice s víčky, lepenka a filtrační papír

Nákres aparatury:



Princip: Chromatografie je analytická metoda, při které dochází k separaci (neboli dělení) látek ve směsi. V zásadě poskytuje kvalitativní, ale někdy i kvantitativní informace o vzorku. Jinými slovy nám může zodpovědět, jaká látka, popřípadě jaké množství, je ve vzorku obsaženo.

Chromatografie využívá rozdělení látek mezi pohyblivou (mobilní) a nepohyblivou (stacionární) fází. Pohyblivou fází bývá kapalina nebo plyn a nepohyblivou fází bývá kapalina nebo pevná látka. Některá látka více interaguje s pohyblivou fází a jiná látka interaguje zase lépe s fází nepohyblivou. Pokud necháme procházet pohyblivou fází přes nepohyblivou, látka, která lépe interaguje s fází pohyblivou je unášena rychleji, než látka, která interaguje lépe s fází nepohyblivou.

V našem případě se jedná o tzv. papírovou chromatografii (PC). Nepohyblivou fází je papír nasycený za daných podmínek kapalinou, vodou. (Na každém papíru je za daných podmínek částečně adsorbována voda z okolí). Pohyblivou fází je kapalina, v našem případě voda nebo Alpa[®].



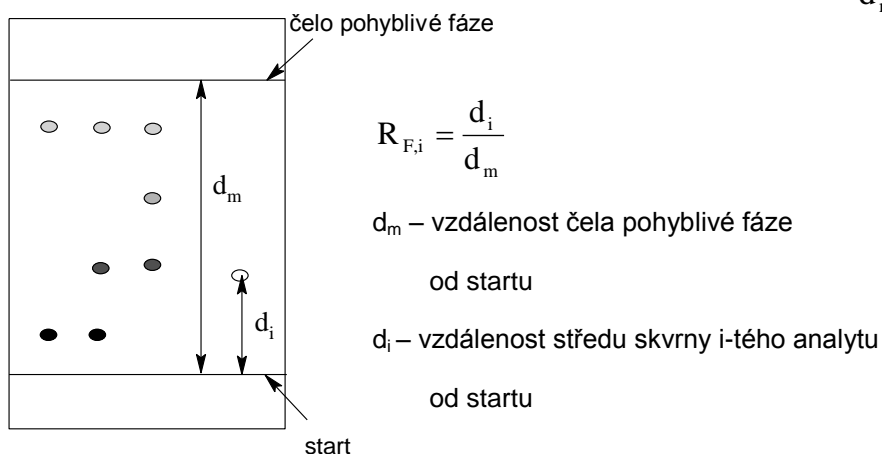
UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

Při vlastní papírové chromatografii pohyblivá fáze vzlíná póry papíru, nepohyblivé fáze, a unáší látky ze vzorku, které interagují různě, jak již bylo řečeno, s pohyblivou a nepohyblivou fází. Rychlost pohybu jednotlivých látek je pak v soustavě různá, a tím dochází k jejich separaci.

Jak již bylo uvedeno, chromatografie je analytickou metodou. Jednotlivé separované analyty se často charakterizují tzv. retardačním faktorem (R_F). V dané soustavě definované pohyblivou a nepohyblivou fází je tento faktor pro danou látku charakteristický. Pro dané látky jej lze stanovit a tabelovat. Pokud se posléze provádí analýza neznámé směsi pomocí stejné pohyblivé a nepohyblivé fáze, mohou se výsledné retardační faktory jednotlivých složek neznámé směsi porovnat s tabelovanými hodnotami. V případě, že se některé hodnoty shodují nebo se pohybují ve velmi malém rozsahu od dané hodnoty, s největší pravděpodobností se jedná o tutéž látku, které přísluší retardační faktor. Příkladem může být analýza benzínu, která se provádí pomocí plynové chromatografie. Postupně se zjistí retardační faktory standardů jednotlivých uhlovodíků, jejichž přítomnost v benzínu očekáváme, a pak se provede analýza benzínu. U jednotlivých analytů se provede výpočet retardačního faktoru a poté se podle hodnot přiřadí k jednotlivým analytům příslušný uhlovodík.

Stanovení retardačních faktorů v papírové nebo tenkovrstvé chromatografii probíhá následovně. Změří se vzdálenosti čela od startu, d_m , (kam až doputuje pohyblivá fáze) a dále středu skvrny od startu, d_i , kterou vytváří dělené látky, viz obrázek. Retardační faktory se vypočítají podle vztahu $R_{F,i} = \frac{d_i}{d_m}$.





UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Přírodovědecká fakulta

- Postup:**
- 1) Připravte si dva proužky filtračního papíru, rozměry upravte tak, aby se filtrační papír dal snadno přichytit na víčko sklenice (je potřeba, aby filtrační papír nebyl příliš krátký nebo zase příliš dlouhý).
 - 2) Do jedné sklenice nalijte Alpu[®] a do druhé vodu tak, aby jejich hladina sahala asi do výšky 1 cm. Poté obě sklenice uzavřete asi na 10 minut, aby se prostor nasýtil parami pohyblivé fáze.
 - 3) Na připravený proužek filtračního papíru nakreslete velmi jemně obyčejnou tužkou čáru ve vzdálenosti 1,5 cm od okraje. Tato čára reprezentuje start chromatografie. Na start si nakreslete tečky od sebe vzdálené přibližně 1 cm. Na tyto tečky poté naneste jednotlivá potravinářská barviva ve formě malé kapky. Chvilku počkejte, až kapky uschnou.
 - 4) Filtrační papír přilepte na víčko sklenky tak, aby byl filtrační papír mírně ponořen do vody a Alpy[®]. Start NESMÍ být ponořen do rozpouštědla.
 - 5) Pozorujte změny i čas při dělení barviv.
 - 6) Až bude čelo 2 až 3 cm od víka, ukončete chromatografii. Vyndejte proužek papíru ze sklenice, tužkou si poznamenejte na papír čelo pohyblivé fáze a nechte uschnout.

Úkoly: 1) Pozorujte rychlost chromatografie ve vodě a v Alpe[®]. Jaký je rozdíl?

Postup vody je o poznání rychlejší než postup Alpy[®].

2) Na základě čeho se rozdělují jednotlivé složky?

Na základě různé interakce jednotlivých analytů mezi nepohyblivou a pohyblivou fází.

3) Vypočítejte retardační faktory R_F jednotlivých barviv.

Př. Alpa[®]

Barvivo	d_i	d_m	R_F	
Žluté	6,9	9,5	0,73	
Zelené	modrá		5,2	0,55
	žlutá		6,8	0,72
Červené	7,1		0,75	



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta

Barvivo		d_i	d_m	R_F
Modré		4,2	9,5	0,44
Fialové	červená	6,5		0,68
	modrá	5,3		0,56

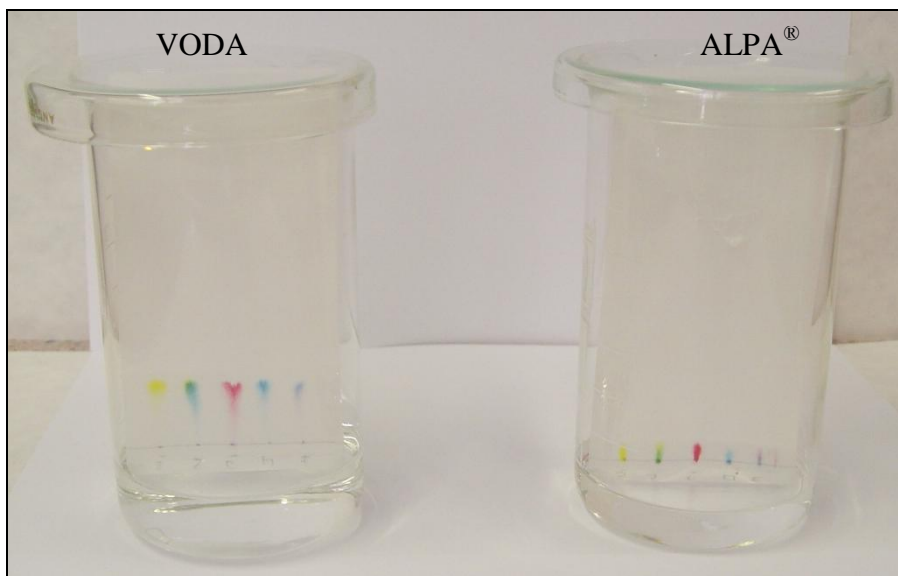
Př. Voda

Barvivo		d_i	d_m	R_F
Žluté		9,0	9,3	0,97
Zelené	modrá	8,2		0,88
	žlutá	8,9		0,96
Červené		6,2		0,67
Modré		8,2		0,88
Fialové	červená	6,8		0,73
	modrá	7,8		0,84

4) Porovnejte hodnoty retardačních faktorů ve vodě a v alpě.

Hodnoty R_F v Alpě[®] jsou nižší, což je způsobeno snížením obsahu vody v mobilní fázi.

Závěr: Pomocí vody a Alpy[®] jako pohyblivé fáze bylo provedeno rozdělení potravinářských barviv, u kterých byly vypočteny retardační faktory pro vodu a Alpu[®] jako fázi pohyblivou a vodu jako fázi nepohyblivou.



Obr. 3 Vytvoření chromatogramu během papírové chromatografie