

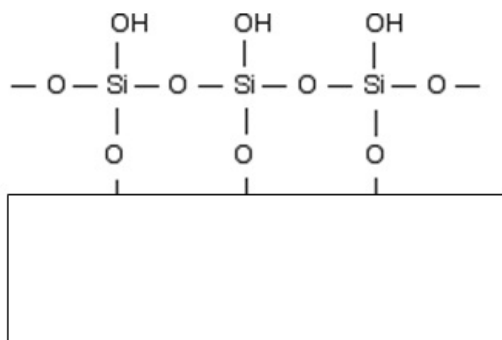
Chromatografie na tenké vrstvě

Chromatografie na tenké vrstvě patří mezi separační metody, oddělující látky ze směsi na základě odlišné afinity jednotlivých složek směsi ke stacionární a mobilní fázi.

U tenkovrstvé chromatografie je skleněná, hliníková nebo plastová deska potažena tenkou vrstvou **stacionární fáze** (silikagel, oxid hlinitý atd.), na kterou je nanášen analyzovaný vzorek. Látkové množství nanášeného vzorku by nemělo přesáhnout absorpční kapacitu stacionární fáze (je třeba optimalizovat množství vzorku a použitou tloušťku stacionární fáze).

Silikagel

Silikagel je forma oxidu křemičitého, u kterého jsou atomy křemíku mezi sebou navázány přes molekuly kyslíku. Směrem k povrchu destičky jsou na atomy křemíku navázány -OH skupiny. Celá struktura pak vypadá následovně:



Navázané -OH skupiny dávají povrchu destičky polární vlastnosti s možností tvorby vodíkových můstků a dalších nekovalentních interakcí se separovanými látkami.

Mobilní fáze

Mobilní fáze je specificky definovaná směs rozpouštědel, kterou nalijeme v malé vrstvě (do 1 cm sloupce kapaliny) do chromatografické vany. Poté do vany vložíme chromatografickou desku s naneseným vzorkem tak, aby vzorek byl nad hladinou rozpouštědla a aby se TLC deska opírala o stěnu pouze zadní stranou. Mobilní fáze vzlíná po desce směrem vzhůru a unáší s sebou i analyzovaný vzorek. Rychlost, kterou je vzorek unášen směrem vzhůru, závisí na rozpustnosti vzorku v mobilní fázi a na stupni interakce s fází stacionární (afinitě k stacionární fázi). Čím větší je afinita vzorku ke stacionární fázi, tím pomaleji stoupá vzhůru. Když rozpouštědlo dorazí dostatečně daleko od startu (většinou více než do $\frac{3}{4}$ desky), vyjmeme desku z chromatografické vany a pozici na desce, kam doputovalo rozpouštědlo, označíme čarou (= čelo).

Retenční faktor

Poté změříme vzdálenost jednotlivých látek od startu a pro každou látku vypočítáme takzvaný **retenční (retardační) faktor R_f** . Hodnota R_f udává, jak daleko zaostává skvrna analyzované látky za čelem rozpouštědla. R_f je pro danou látku v daném systému charakteristický, tzn., že pokud experiment zopakujeme, měli bychom ve stejném uspořádání získat stejný R_f . V našem případě bude pro látku A $R_f = a/c$, pro látku B $R_f = b/c$ (viz obrázek).

V případě, že se nejedná o barevné látky, je třeba je před analýzou **vizualizovat**. Metod je několik, od přítomnosti fluorescenční látky přímo v desce, kdy se jednotlivé látky pod UV lampou jeví jako černé skvrny, po chemickou detekci, kdy se vyvinutá chromatografická deska postříká činidlem (ninhydrin pro aminokyseliny atd.), které zreaguje s danými látkami a vytvoří tak barevný produkt.

Postup:

V tomto praktickém cvičení budeme používat plastovou destičku potaženou silikagelem. Celý postup by měl probíhat kvůli organické mobilní fázi v digestoři. Na aktivní stacionární fázi nesaháme, při manipulaci s deskou používáme rukavice.

1. **Nalijeme rozpouštědlo do chromatografické vany**, uzavřeme ji víkem a necháme chvíli ekvilibrovat. Výpary rozpouštědla by měly vysytit vnitřní prostor nad hladinou.

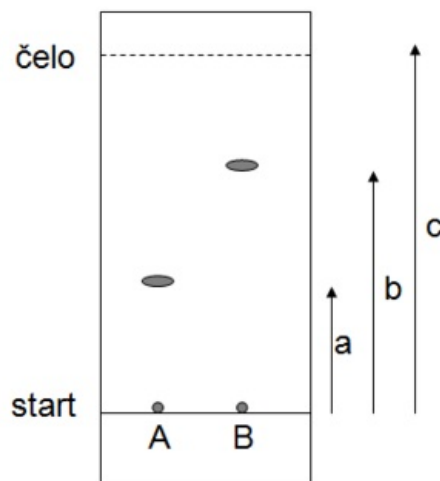


Schéma tenkovrstvé chromatografie a výpočtu Retenčního faktoru (podrobnosti v textu)

2. Pipetou nebo stříkačkou **naneseme vzorek** na TLC desku a nanesenou směs necháme uschnout.
3. Odklopíme víko a **desku vložíme** co nejrychleji dovnitř. Víko ihned zaklopíme.
4. Kontrolujeme, **aby se čelo rozpouštědla nedostalo až za horní hranu desky**. V tom případě by část vzorku "vyjela" ven a nebylo by možné určit R_f .
5. **Analýzu ukončíme** vyjmutím desky z chromatografické vany a označením čela analýzy.

Odkazy

Související články

- Chromatografie

Zdroj

Leníček M., Muchová L.: Organika I