

Laboratorní práce

Chromatografie II

Chromatografie je fyzikálně-chemická separační metoda, která umožňuje oddělení látek ve vzorku. K rozdělení látek dochází na základě odlišnosti jednotlivých složek směsi ke dvěma navzájem nemísitelným fázím, s nimiž je vzorek ve styku. Jedna fáze je stacionární (nepohyblivá) a druhá mobilní (pohyblivá). Stacionární fází může být pevná látka (papír, SiO_2 , Al_2O_3) ale i kapalná fáze zakotvená na pevném nosiči, mobilní fází pak bývá kapalina či plyn. Při chromatografickém oddělování je směs rozpouštědlem (mobilní fáze) pozvolna unášena po vrstvě papíru nebo jiného materiálu (stacionární vrstva). Protože se jednotlivé složky směsi vážou různě pevně ke stacionární fázi, jsou rozpouštědlem unášeny různou rychlostí a tím se od sebe vzdalují a dochází k jejich oddělování.

- **dělení podle skupenství mobilní fáze**
 - § chromatografie kapalinová
 - § chromatografie plynová
- **dělení podle principu separace**
 - § chromatografie adsorpční
 - § chromatografie rozdělovací atd.
- **dělení podle uložení stacionární fáze**
 - § chromatografie sloupcová
 - § chromatografie v plošném uspořádání

Adsorpční chromatografie

Adsorpční chromatografie patří k nejstarším a nejrozšířenějším chromatografickým metodám. Pevný adsorbent je obtékán vhodným rozpouštědlem, které unáší analyzovanou směs, na povrchu adsorbentu dochází k dělení. Nejčastějšími užívanými adsorbenty jsou látky pórovité struktury. Podle povahy se dělí na polární (silikagel, oxid hlinitý) a nepolární (aktivní uhlí). Podle způsobů provedení rozlišujeme sloupcovou chromatografii a tenkovrstevnou chromatografii.

V listech zelených rostlin se vyskytuje větší počet lipofilních barviv, jejichž charakteristickou vlastností je rozpustnost v tukách a tukových rozpouštědlech. Pro fotosyntézu mají rozhodující význam chlorofyly **a** a **b** a karotenoidy. Jsou to látky citlivé vůči vzdušnému kyslíku a na světlo. Rychlé rozdělení listových barviv lze provést chromatografií na vrstvě silikagelu. Využívají se komerčně dodávané desky Silufol.

Úkol: Stanovení lipofilních listových barviv a jejich rozdělení adsorpční chromatografií

Pomůcky a chemikálie

mořský písek, aceton, směs benzín: isopropanol: voda (100:10: 0,25), technický benzín zmrazené listy špenátu, mletá sladká paprika, malá třecí miska s tloučkem, filtrační papír, žluté špičky k nanášení vzorků, silufol

Pracovní postup

2 g listů špenátu rozetřeme v třecí misce s malým množstvím mořského písku a několika ml acetonu. Směs zfiltrujeme přes papírový filtr namočený acetonem. Extrakt odpaříme do sucha a znovu rozpustíme v několika kapkách acetonu. 5 g červené papriky rozetřeme v třecí misce s 20 ml technického benzínu, směs zfiltrujeme přes papírový filtr, přelijeme na odpařovací misku a odpaříme dosucha. Odparek rozpustíme v 1 ml benzínu. (Přípravu extraktů provede laborantka, studenti dostanou hotové zahuštěné extrakty). Takto zahuštěné extrakty naneseme na startovní čáru asi 2 cm od okraje v podobě teček, ve dvou až třech vrstvách. Folii vložíme do vyvíjecí nádoby (kádinky, přikryté hodinovým sklem) s vyvíjecí soustavou benzín: isopropanol: voda (100 : 10 : 0,25). Jakmile čelo soustavy dosáhne okraje folie, folii vyjmeme a obyčejnou tužkou obtáhneme okraje zóny barviv a také si poznačíme konkrétní typ barvy. Pokud máte pastelky, pokuste se zakreslit. Bude k dispozici také digitální fotoaparát, takže nejzdařilejší chromatogramy můžeme fotografovat (vezměte flashdisky).

ÚKOLY:

1. Co znamená chromatografie? O jakou metodu se jedná ?
2. Vysvětlete pojem lipofilní barvivo.
3. Vyhledejte a запиšte, co znamená chemicky fotosyntéza (zapiš chemickou rovnici).
4. Jakou úlohu má chlorofyl při fotosyntéze?
5. Kde se v rostlinách nachází chlorofyl?
6. Co je základní strukturní jednotkou chlorofylu?
7. Kation, kterého kovu je vázán v chlorofylu?

8. Čím se od sebe liší chlorofyl a + b ?

ZÁVĚR: