

A vékonyréteg kromatográfia gyakorlata

Műszeres analitika laboratóriumi gyakorlat

(OLKDA)

Rövidített jegyzet

1. A KROMATOGRÁFIÁKRÓL ÁLTALÁNOSAN

A modern elválasztástechnikai és analitikai eljárások legnagyobb jelentőségű és szélesebb körben használt változatai a különböző kromatográfiai technikák, amelyek egy anyag összetételére, tisztaságára nézve szolgáltatnak adatokat. Kromatográfiai eljárások nélkül ma már nem képzelhető el a modern vegyipar, az egészségügy, vagy a környezetvédelem egyetlen ága sem.

A kromatográfia olyan eljárások gyűjtőneve, amelyek során egy mozgó hordozóközeggel elegyedő, vagy abban oldódó vizsgálati minta alkotóit a mozgó közeg, a mozgó közeggel érintkező álló közeg valamint a minta komponensei közötti eltérő erősségű, reverzibilis kölcsönhatások alapján választjuk szét.

A minta továbbítását végző mozgó közeget mozgó fázisnak, a szétválasztási művelet során álló közeget álló fázisnak nevezzük.

1. táblázat A különböző kromatográfiai technikák csoportosítása az álló és mozgó fázis halmazállapota és az elválasztás alapjául szolgáló fizikai jelenség alapján

Álló fázis	Mozgó fázis	Fizikai jelenség	Kromatográfia
folyadék	gáz	abszorpció	GC (kapilláris, vagy nedvesített töltetes)
szilárd	gáz	adszorpció	GC (töltetes)
folyadék	folyadék	megoszlás	LC, HPLC, TLC (fordított fázisú) papírkromatográfia (PC)
szilárd	folyadék	adszorpció, ioncsere, méretkizárás, affinitás, hidrofób kölcsönhatás	LC, HPLC, TLC (normál fázisú), géلكromatográfia (GPC), ionkromatográfia (IC), affinitás kromatográfia, hidrofób kölcsönhatás kromatográfia
szilárd	szuperkritikus folyadék	adszorpció	szuperkritikus folyadékkromatográfia (SCF)
folyadék	szuperkritikus folyadék	megoszlás	SCF

Halmazállapota szerint a mozgó fázis gáz, folyadék, illetve szuperkritikus állapotú folyadék lehet, ennek alapján megkülönböztetünk gázkromatográfiát (GC), folyadékkromatográfiát (LC), illetve szuperkritikus folyadékkromatográfiát (SFC). Az állófázis mindhárom esetben folyékony vagy szilárd halmazállapotú lehet.

Az elválasztás fizikai alapja lehet adszorpció valamilyen porózus szilárd anyag felületén, abszorpció (egy gáz oldódása folyadékban), megoszlás két folyadékfázis között, molekulaméret szerinti eltérő vándorlási sebesség egy gélvázban, ioncsere folyamat az álló és mozgó fázisban lévő ionos specieszek között, speciális affinitás a mintakomponensekkel szemben, illetve vizes oldatokban mutatott hidrofób kölcsönhatás az apoláris molekulareszek között.

1.1. Oszlopkromatográfia, síkkromatográfia

Ha az állófázis egy csőben helyezkedik el, akkor valamilyen fajta oszlopkromatográfiáról beszélünk. A mozgó fázis gáz, folyadék, vagy szuperkritikus folyadék lehet.

A síkkromatográfias technikáknál az állófázis egy valamilyen vastagságú porózus réteg, amelyen keresztül a réteg síkjában áramlik a folyékony mozgófázis. (Síkkromatográfiában csak folyékony mozgófázist lehet használni.)

A rétegekromatográfiában a réteg anyaga lehet természetes vagy kémiaiilag módosított papír, illetve valamilyen hordozóra felvitt, minimális mennyiségű inert ragasztóval rögzített porózus anyag (rétegekromatográfia), ami leggyakrabban szilikagél, kémiaiilag módosított szilikagél, alumínium-oxid, cellulóz, kémiaiilag módosított cellulóz, polimer, vagy ioncserező gyanta.

A papírkromatográfia az 1950-es években volt nagyon népszerű, de néhány, elsősorban biológiai és biokémiai alkalmazáshoz még ma is széles körben használjuk. A PC-t részben kiszorította a nagyobb felbontóképességet adó, mikrokristályos cellulóz rétegen végzett vékonyréteg kromatográfia.

2. A VÉKONYRÉTEG KROMATOGRÁFIA ALAPJAI

A vékonyréteg kromatográfia napjainkban is a legismertebb, legszélesebb körben használt analitikai eljárás. Elterjedtsége főként egyszerűségének, olcsóságának köszönhető, ugyanis alapszinten nagyon kicsi az eszközigénye. A preparatív kémiai laboratóriumokban a reakciók nyomon követésére, a termékek tisztaságvizsgálatára, azonosítására használják.

2.1. A vékonyréteg kromatográfia anyagai, eszközei, alapvető technikái

2.1.1. Kromatográfiás rétegek

A legáltalánosabban használt réteg a szilikagél, de a hordozó lap anyaga lehet üveg, alumínium, illetve műanyag.

Az állófázis lehet szilikagél, alumínium-oxid, cellulóz, szénhidrogén láncokkal kémiaiilag módosított szilikagél (C8, C18, stb.), poliamid, erős vagy gyenge típusú (funkcionalizált polisztirol ill. cellulóz alapú) ioncserélő gyanta.

Polaritásuk alapján két nagy csoportra oszthatjuk az állófázisokat: normál fázisra (ilyen pl. a szilikagél, az alumínium-oxid), illetve fordított fázisra (ilyenek pl. a C8, C18 rétegek).

A normál fázisra az a jellemző, hogy erősen poláris és hidrofil az állófázis felülete, ezért leginkább a poláris anyagok elválasztására használjuk.

A leggyakrabban használt kromatográfiás normál állófázis a szilikagél, emellett elterjedten használják az alumínium-oxidot.

A fordított fázis felülete apoláris, ezért az apoláris anyagokat tartja vissza a legerősebben. A visszatartás mechanizmusa fordított fázis esetén megfelel a komponensek két, egymással nem elegyedő folyadék közötti megoszlásának, ugyanis a felületen lévő C18 láncok úgy viselkednek, mintha egy kémiaiilag kötött, vékony paraffin olaj film vonná be a szemcsék felületét. A használt eluens ezt a kémiaiilag kötött, álló folyadékfilmet nem tudja leoldani, így a minta komponensei a folyamatos folyadék-folyadék extrakciónál ismert módon valamilyen

koncentrációarányban, dinamikus egyensúlyban oszlanak meg az álló és a mozgó fázis között. Eluensként az oldószerek közül a kis és közepes polaritású szerves oldószerek (pl. acetonitril, dimetil-formamid, dimetil-szulfoxid) a legnagyobb erejűek, a víz erősen poláris oldószer, ezért eluotróp ereje nagyon kicsi.

Kevert fázisként viselkednek azok a kémiailag kötött szorbensek, amelyek apoláris láncot és poláris csoportokat is tartalmaz, ilyenek lehetnek pl. a ciano-propil vagy aminopropil-csoportokat tartalmazó szilikagélek. A kevert fázisok normál és fordított fázisként is használhatók.

Mind a normál, mind a fordított fázis esetén a leggyakrabban nem egy, hanem több komponensű elegyet használunk eluensként, mert így a rétegen a komponensek szétválasztását finomabban szabályozni tudjuk.

Az UV-elnyelésre képes komponensek kimutatására előnyösen használhatók a fluoreszcens rétegek. Ilyen réteget használva a fényelnyelésre képes anyagok világos alapon sötét foltként jelennek meg az UV-lámpa alatt.

2.1.2. Kifejlesztő kádak, kifejlesztési technikák

Vékonyréteg kromatográfias célokra általában öntött üvegből vagy ragasztott üveglapokból készült, sima vagy osztott aljú, csiszolt tetejű kádakat használnak, amelyek mérete a kapható TLC lapokéhoz igazodik. A jól záródó tető nagyon fontos része a kromatográfias kádnak, mert ez akadályozza meg az oldószerek elillanását a kádból. Vizes oldatok használata esetén a gőztér telítettségének viszonylag kicsi a jelentősége, de szerves oldószereket használva a kádak gőztérének az adott oldószerre nézve telítettnnek kell lenniük. Ezt azáltal tudjuk elérni, hogy a kamra belső falát szűrőpapírral béleljük ki úgy, hogy a papír beleér az eluensbe és legalább a réteg tetejéig felnyúlik.

A kromatográfias kádban lévő TLC lap elhelyezkedése álló (vertikális), illetve fekvő (horizontális) lehet.

2.1.3. Az eluens kiválasztása

A megfelelő eluens kiválasztása a folyadékkromatográfia egyik legnehezebb feladata. Az eluens komponenseinek egymással elegyíthetőnek kell lenni. Az eluensnek oldania kell a minta összes komponensét.

2.1.4. Mintafelvétel

Az egyes mintákat a vékonyréteg lap megadott helyére, az ún. startvonalra, azon belül a startpontokra kell minél pontosabban, minél egyenletesebben felvinnünk.

2.1.5. Lemezek szárítása, hőkezelése

2.1.6. Láthatóvá tétel

Fluoreszcens rétegen az UV elnyelésre képes foltokat UV-fénnyel besugározva láthatóvá tehetjük. Világos alapon sötét színű foltokat láthatunk, a sötétedés mértéke arányos a koncentrációval. Fluoreszcens indikátor nélküli réteget használunk abban az esetben, ha valamilyen kémiai reakcióval egyes komponensek fluoreszkáló származékká alakíthatók. Ilyen esetben UV-fény hatására sötét háttéren világos foltokat látunk, a fénykibocsátás mértéke arányos a koncentrációval.

2.1.7. Előhívás

Amennyiben egy vagy több komponens nem tehető láthatóvá UV-fénnyel, valamilyen reagens alkalmazásával színes vegyületekké alakítjuk azokat.

A színreagensek között vannak olyan általánosan használható reagensok, amelyek erősen oxidálnak vagy roncsolnak, különösen hevítés hatására. Ilyen roncsoló reagensok a foszformolibdénsav, a tömény kénsav, tömény kénsav és ecetsav-anhidrid elegye, kénsavban oldott kálium-dikromát vagy kálium-permanganát, tömény kénsav és salétromsav elegye, tömény kálium-hidroxid. Ezekkel különösen vigyázzunk, mert a ruházatot, a bútorokat, jegyzőkönyvet, stb. is pillanatok alatt tönkre tehetik!

Vannak olyan szerves reagensok, amelyek valamilyen funkciós csoporttal színes vegyületet adnak, míg másokkal nem. Ezeket a reagenset specifikusan, bizonyos vegyületcsoportok kimutatására tudjuk felhasználni.

A rétegek dokumentálásának alapvető feltétele, hogy mind UV-fényben, mind látható fényben felvételt tudjunk azokról készíteni.

A kapott képeket egyrészt a jegyzőkönyvünk számára kinyomtatjuk, másrészt megfelelő kromatográfias programmal mennyiségileg és minőségileg ki is tudjuk értékelni. A kiértékeléssel külön fejezetben foglalkozunk.

3. A VÉKONYRÉTEG KROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATOK MENETE

- 1) Kalibráló oldatok elkészítése, ismeretlenek méréshez előkészítése.
- 2) Réteg levágása, minták felcseppentése.
- 3) A réteg kondicionálása, lehetőleg a kádban.
- 4) A réteg kifejlesztése, majd szárítása
- 5) A szemmel látható foltok dokumentálása.
- 6) A láthatatlan foltok egy vagy több lépéses láthatóvá tétele, lépésenkénti dokumentálással.
- 7) Mosogatás, takarítás, rendcsinálás, előkészítés a következő méréshez.
(Az analitikában a tisztaság nem fél egészség, hanem alapvető követelmény!)
- 8) A kromatogramok kinyomtatása, jegyzőkönyvben rögzítése.
- 9) A kromatogramok kiértékelése, az eredmények jegyzőkönyvben rögzítése.

3.1. Oldatsorozatok, minták előkészítése

3.2. Lapok levágása, minták felcseppentése

A legelső dolog a vékonyréteg lap előkészítése a minták felcseppentéséhez. A lapokat lehetőleg az élüknél fogva, illetve a hátlapot tartva kezeljük. Az aktív réteget ne fogjuk meg csupasz kézzel, mert az ujjlenyomatunk rajta marad! Ha van rá lehetőség, érdemes vékony gumikesztyűt használni.

A felcseppentés előtt húzzuk meg a startvonalat, jelöljük ki a startpontokat! A foltok alatti részt felhasználjuk a minta azonosítójának felírására, a réteg két oldalán lévő csíkot pedig az eluens összetételének, illetve a réteg típusának a felírására. Ne írjunk semmit sem a futtatási területre. Csak nagyon puha ceruzát használjunk!

A felcseppentést úgy végezzük, hogy a kapillárist belemerítjük az oldatba, majd kivesszük és óvatosan, kis mozdulatokkal, többször egymás után hozzáérintjük a réteghez a kívánt pontban. Két részlet között szükség lehet a folt megszárazására. Igyekezzünk azonos méretű foltokat felcseppenteni!

3.3. Kifejlesztés, előhívás

A kádáról szóló fejezetben már részletesen láttuk a telített göztér jelentőségét. Amennyiben egyszerű káddal dolgozunk, béleljük ki a kádnak a réteggel szemközti falát szűrőpapírral, öntsük bele az eluent, zárjuk le a kádat, rázzuk meg, hogy a fal megnedvesedjen, majd 15 percig hagyjuk állni. Ezután a kádat csak annyi időre nyitjuk fel, amíg a felcseppentett réteget beleállítjuk, majd visszazárjuk. Az időzítő órán beállítjuk a futás idejét. Amennyiben nem ismerjük a szükséges időt, időközönként ellenőrizzük az oldószerfront helyzetét.

Miután elértük a kívánt futási távolságot, kivesszük a réteget és hajszáritóval megszáritjuk.

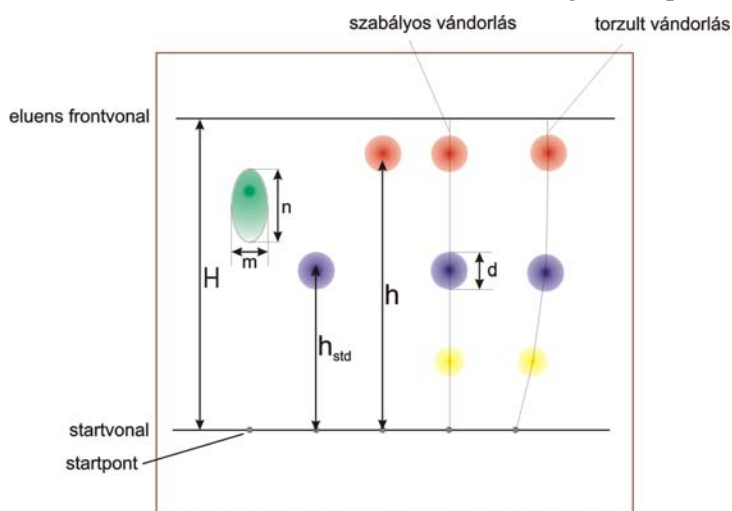
A módszerben előírt előhívási/vizualizációs módot használva láthatóvá tesszük a foltokat és dokumentáljuk a kromatogramot.

4. VÉKONYRÉTEG KROMATOGRAMOK ELEMZÉSE

4.1. Alapfogalmak

A vékonyréteg kromatogramokat kifejlesztésük után minőségileg illetve mennyiségileg ki kell értékelnünk. A kiértékeléshez szükséges alapvető paramétereket a következő ábrán láthatjuk.

Vékonyréteg kromatogram a legfontosabb alapfogalmak és a közvetlenül mérhető paraméterek feltüntetésével:



Két folt azonosságának vagy különbségének az eldöntését a retenciós faktorok (R_f) alapján végezzük. Az R_f értéket a következő képlettel definiáljuk:

$$R_f = \frac{h}{H}$$

ahol h = a kiválasztott folt középpontjának távolsága a felcseppentés helyétől, H = az oldószerfront távolsága a startvonalától számítva.

A belső standard retenciós faktorára ($R_{f(\text{std})}$) vonatkoztatjuk a vizsgált folt R_f értékét, így kapjuk az R_x relatív futási index értékét, ami stabilabb és reprodukálhatóbb, mint az R_f önmagában.

$$R_{f(\text{std})} = \frac{h_{\text{std}}}{H} \quad R_x = \frac{R_f}{R_{f(\text{std})}}$$

5. MÉRÉSI FELADATOK

5.1. Aminosavak elválasztása szilikagél rétegen

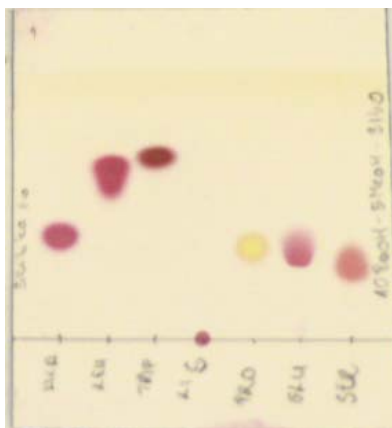
Vizsgálati anyag: alanin (0,66%), leucin (0,66%), triptofán (0,66%), lizin (0,66%)
prolin (0,66%), glutaminsav (0,66%), szerin (0,66%)

Réteg: *Merck Kieselgel 60*, 0,2 mm vastag vékonyréteg lap (40 mm x 50 mm)
Felcseppentés: 10 mm-re a lap alsó szélétől, egyenletes távolságokban, 1-1 csepp

Eluens: 10 ml n-BuOH – 4 ml MeOH – 5 ml H₂O

Kád: vérlemezfestő kád, telítetlen gőzterű, szűrőpapír bélés nem kell

Előhívás: 0,2 % ninhidrinnel beszórás, majd melegítés hajszárítóval (2-8 perc)



25. ábra Aminosavak mintakromatogramja szilikagélen.

Vágjuk le a megadott méretű réteget. Ceruzával jelöljük meg a startvonalat és az egyes minták startpontját. A startpontok alá írjuk fel valamilyen rövidített formában, hogy milyen anyag kerül abba a pontba. A réteg szélére apró betűkkel felírhatjuk a futtatási körülményeket. Cseppentsük fel a standardokat és az ismeretlent! Készítsük elő a kádat, az eluensből 3 ml-t öntsünk a kádba. Fejlesszük ki a réteget. Kifejlődés után szárítsuk meg hajszárítóval, majd fülke alatt a megadott színreagenssel szórjuk be! Hajszárítóval erősen melegítve hívjuk elő a foltokat. Amikor már nem változik a szín, és új foltok sem jelennek meg, abbahagyhatjuk a melegítést.

5.2. Aminosavak elválasztása cellulóz rétegen

Vizsgálati anyag: alanin (0,66%), leucin (0,66%), triptofán(0,66%), lizin (0,66%)
prolin (0,66%), glutaminsav (0,66%), szerin (0,66%)
ismeretlen oldat

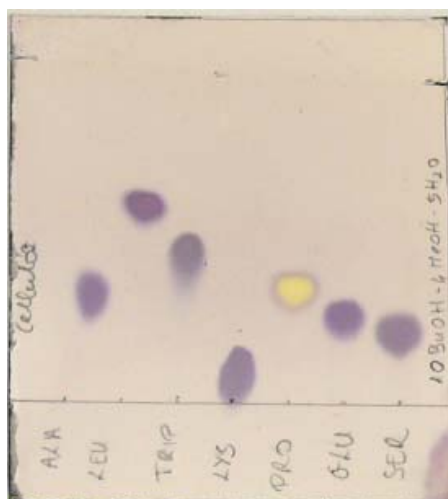
Réteg: **Merck Cellulose** 0,1 mm vastag vékonyréteg lap (40 mm x 50 mm)

Felcseppentés: 10 mm-re a lap alsó szélétől, egyenletes távolságokban, 1-1 nagyon kicsi(!) csepp

Eluens: 10 ml n-BuOH – 4 ml MeOH – 5 ml H₂O

Kád: vérlemezfestő kád, telítetlen gőzterű, szűrőpapír bélés nem kell

Előhívás: 0,2 % ninhidrinnel beszórás, majd melegítés hajszárítóval (2-8 perc)



24. ábra Aminosavak mintakromatogramja cellulózon. Figyeljük meg, hogy minden aminosav ibolyáskék foltot ad, kivéve a prolint, ami sárgát.

Vágjuk le a megadott méretű réteget. Ceruzával jelöljük meg a startvonalat és az egyes minták startpontját. A startpontok alá írjuk fel valamilyen rövidített formában, hogy milyen anyag kerül abba a pontba. A réteg szélére apró betűkkel felírhatjuk a futtatási körülményeket. Cseppentsük fel a standardokat és az ismeretlent! Készítsük elő a kádat, az eluensből 3 ml-t öntsünk a kádba. Fejlesszük ki a réteget. Kifejlődés után szárítsuk meg hajszárítóval, majd fülke alatt a megadott színreagenssel szórjuk be! Hajszárítóval erősen melegítve hívjuk elő a

foltokat. Amikor már nem változik a szín, és új foltok sem jelennek meg, abbahagyhatjuk a melegítést.

Táblázatosan adjuk meg a standardok, valamint az ismeretlenben lévő komponensek R_f értékeit! Állapítsuk meg, hogy milyen komponenseket tartalmazott az ismeretlenünk! A kiértékelést végezhetjük kézzel, illetve szoftveres segítséggel. A jegyzőkönyvbe kerüljön be a kifejlesztett lap képe kinyomtatva, vagy kézzel átrajzolva!

5.3. Emberi bőr felületén lévő aminosavak azonosítása

Az emberi bőr felületét hűtő és a kiszáradástól óvó izzadtság fő komponensei a víz, tejsav, karbamid, ásványi anyagok, nyomelemek, valamint szerves vegyületek, többek között aminosavak. Célunk az, hogy azonosítsuk a bőr felületéről vízzel leoldható aminosavakat a standardokkal összehasonlítva. Bár az aminosavak koncentrációja nagyon kicsi a bőrfelületen, a ninhidrines előhívás már nagyon kis mennyiséget is láthatóvá tesz. (Ne fogjuk meg a réteg felületét csupasz kézzel, mert különben előhíváskor az ujjlenyomatunk is látható lesz!)

Minták: alanin (Ala, 0,66%), leucin (Leu, 0,66%), triptofán (Trp, 0,66%), lizin (Lys, 0,66%), prolin (Pro, 0,66%), glutaminsav (Glu, 0,66%), szerin (Ser, 0,66%)
bőrfelület lemosásából származó ismeretlen oldat

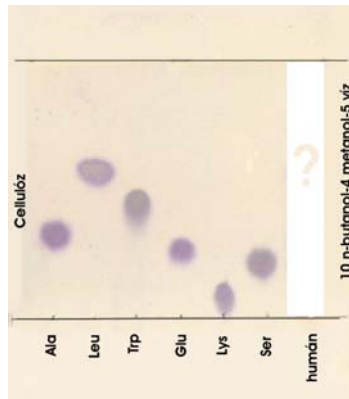
Réteg: **Merck Cellulose** 0,1 mm vastag vékonyréteg lap
(40 mm x 50 mm)

Felcseppentés: 10 mm-re a lap alsó szélétől, egyenletes távolságokban,
1-1 nagyon kicsi(!) csepp

Eluens: 10 ml n-BuOH – 4 ml MeOH – 5 ml H₂O

Kád: vérlemezfestő kád, telítetlen gőzterű, szűrőpapír bélés nem kell

Előhívás: 0,2 % ninhidrinnel beszórás, melegítés hajszárítóval (2-8 perc)



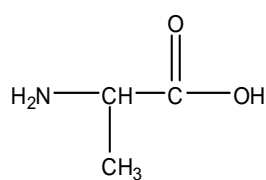
26. ábra Humán bőrfelület aminosavjainak meghatározása

Öntsünk 0,5-1 ml vizet a tenyerünkbe és alaposan dörzsöljük szét! Hajlítsuk be a tenyerünket, hogy kb. 50-100 mikroliter víz összegyűljön, majd egy pipettával szívjuk fel és vigyük át egy mintás üvegbe! Ez az oldat lesz a vizsgálati mintánk. Mivel az oldat nagyon híg, legalább 10-15 cseppet fel kell cseppentenünk ahhoz, hogy látható eredményt kapjunk. Az oldatban nagyon sok nátrium-klorid és egyéb anyagok vannak, a kifejlesztés során általában nem kapunk ideális foltokat, a sótartalom miatt a foltok közepe esetleg világos lesz.

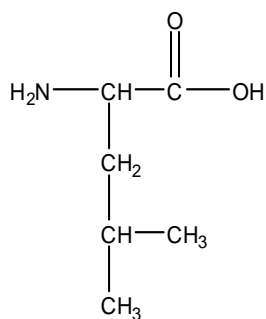
Miután készen van a minta, vágjuk le a megadott méretű réteget. Ceruzával jelöljük meg a startvonalat és az egyes minták startpontját. A startpontok alá írjuk fel rövidített formában, hogy milyen anyag kerül abba a pontba. A réteg szélére apró betűkkel felírhatjuk a futtatási körülményeket. Cseppentsük fel a standardokat és az ismeretlen! Készítsük elő a kádat, az eluensből 3-4 ml-t öntsünk a kádba. Fejlesszük ki a réteget. Kifejlődés után szárítsuk meg hajszárítóval, majd fülke alatt a megadott színreagenssel szórjuk be! Hajszárítóval erősen melegítve hívjuk elő a foltokat. Amikor már nem változik a szín, és új foltok sem jelennek meg, abbahagyhatjuk a melegítést.

Táblázatosan adjuk meg a standardok, valamint az ismeretlenben lévő komponensek R_f értékeit! Állapítsuk meg, hogy milyen aminosavak voltak a vizsgált bőrfelületen! A kiértékelést végezhetjük kézzel, illetve szoftveres segítséggel. A jegyzőkönyvbe kerüljön be a kifejlesztett lap képe kinyomtatva, vagy kézzel árajzolva!

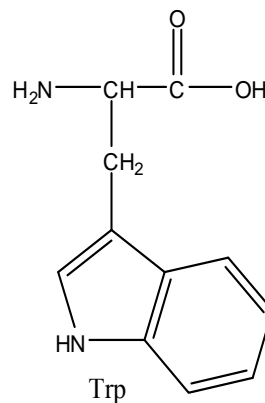
Alanin	Ala	A	Leucin Leu	L	
Arginin	Arg	R	Lizin	Lys	K
Aszparagin	Asn	N	Metionin	Met	M
Aszpartát	Asp	D	Fenilalanin	Phe	F
Cisztein	Cys	C	Prolin	Pro	P
Glutamát	Glu	E	Szerin	Ser	S
Glutamin	Gln	Q	Treonin	Thr	T
Glicin	Gly	G	Triptofán	Trp	W
Hisztidin	His	H	Tirozin Tyr	Y	
Izoleucin	Ile	I	Valin	Val	V



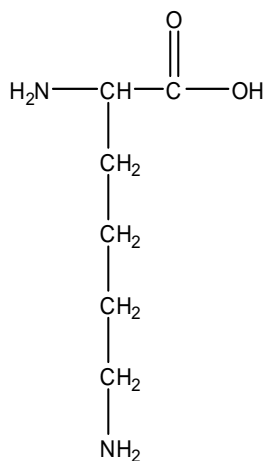
Ala



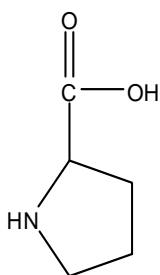
Leu



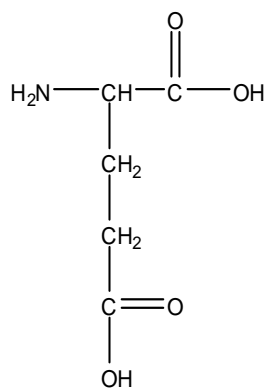
Trp



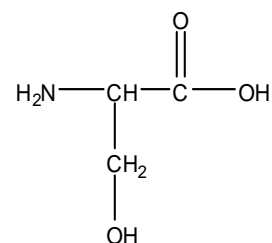
Lys



Pro



Glu



Ser

5.4. Ételfestékek elválasztása papírkromatográfiával

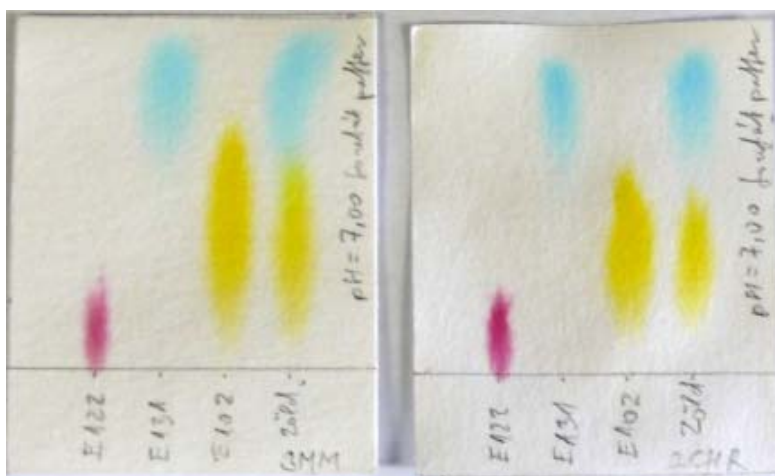
Réteg: **Whatman 3MM** vagy 2CHR kromatográfiás papír
40 mm x 50 mm vagy 40 mm x 66 mm

Felcseppentés: 10 mm-re a lap alsó szélétől, egyenletes távolságokban,
 1-1 nagyon kicsi(!) csepp

Minták: E102, E122, E131 ételfestékek oldatai
ismeretlen (kereskedelmi, ételfestéket tartalmazó oldatok)

Eluens: 10 ml n-BuOH – 4 ml MeOH – 5 ml H₂O elegye

Kád: vérelemezfestő kád, telítetlen gőzterű, szűrőpapír bélés nem kell



27. ábra Ételfestékek mintakromatogramja kétfajta típusú kromatográfiás papíron.

Vágjuk le a megadott méretű réteget. Ceruzával jelöljük meg a startvonalat és az egyes minták startpontját. A startpontok alá írjuk fel, hogy milyen anyag kerül abba a pontba. A réteg szélére apró betűkkel felírhatjuk a futtatási körülményeket. Cseppentsük fel a standardokat és az ismeretlent! Készítsük elő a kádat, az eluensből 3 ml-t öntsünk a kádba. Fejlesszük ki a réteget. Kifejlődés után szárítsuk meg hajszárítóval!

Táblázatosan adjuk meg a standardok, valamint az ismeretlenben lévő komponensek R_f értékeit! Állapítsuk meg, hogy milyen komponenseket tartalmazott az ismeretlenünk! A kiértékelést végezhetjük kézzel, illetve szoftveres segítséggel. A jegyzőkönyvbe kerüljön be a kifejlesztett lap képe kinyomtatva, vagy kézzel átrajzolva!

Hasonlítsuk össze a rétegen és a papíron kapott foltokat saját méréseink, vagy azok hiányában a mintakromatogramok segítségével!

5.5. Ételfestékek elválasztása fordított fázisú rétegen

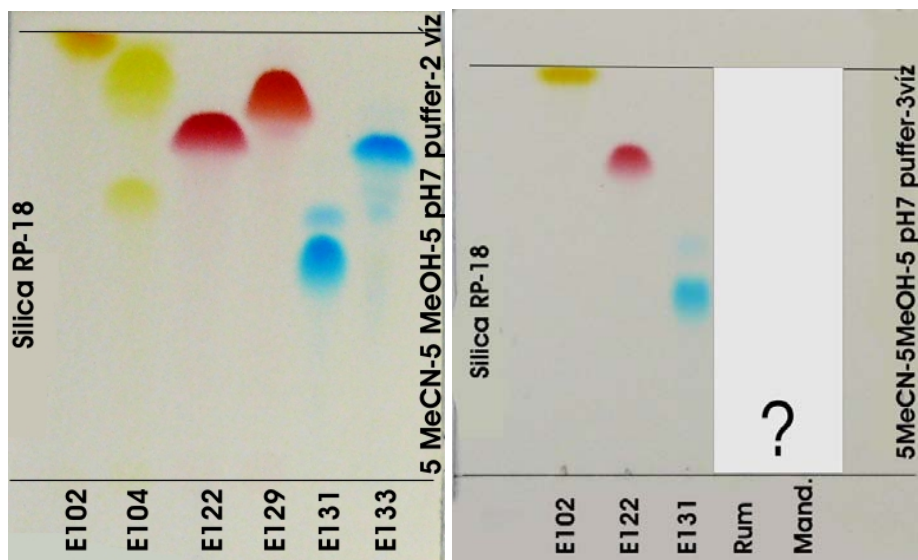
Réteg: *Merck Silica RP-18*, 0,25 mm vastag (TLC-s réteg)
40 mm x 50 mm

Felcseppentés: 10 mm-re a lap alsó szélétől, egyenletes távolságokban,
1-1 nagyon kicsi(!) csepp (metanolos oldat)

Minták: E102, E104, E122, E129, E131, E133 ételfestékek metanolos
oldatai, ismeretlenek

Eluens: 5 ml MeCN – 5 ml MeOH – 5 ml víz,

Kád: vérlemezfestő kád, telítetlen gőzterű, szűrőpapír bélés nem kell



29. ábra Ételfestékek elválasztása fordított fázison

Készítsük elő a kádat, a belsejét béleljük ki 4 cm széles szűrőpapír csíkkal. Az eluensből 4 ml-t öntsünk a kádba, majd tegyük rá a kádra a tetejét. Vágjunk le a megadott méretű réteget. Ceruzával jelöljük meg a startvonalat és az egyes minták startpontját. A startpontok alá írjuk fel, hogy milyen anyag kerül abba a pontba. A réteg szélére apró betűkkel felírhatjuk a futtatási körülményeket. Cseppentsük fel a metanolos standardokat és az ismeretleneket! A standard oldatokból és az

ismeretlenekből is legalább 5 cseppet kell használni! Minden csepp után szárítsuk meg a foltokat! Fejlesszük ki a réteget. Kifejlődés után szárítsuk meg a réteget hajszárítóval.

Táblázatosan adjuk meg a standardok, valamint az ismeretlenben lévő komponensek R_f értékeit! Állapítsuk meg, hogy milyen komponenseket tartalmazott az ismeretlenünk! A kiértékelést végezhetjük kézzel, illetve szoftveres segítséggel. A jegyzőkönyvbe kerüljön be a kifejlesztett lap képe kinyomtatva, vagy kézzel átrajzolva!

Forrás:

Dr. Lázár István: A papír- és vékonyréteg kromatográfia gyakorlata (Debreceni Egyetem, Szervetlen és Analitikai Kémiai Tanszék, 2009.)