

## Chromatografie

V běžné školní praxi se na školách žáci setkávají s chromatografií sloupcovou (na stacionární fázi křídě, filtračním papíru nebo Silufolu) a s chromatografií kruhovou (stacionární fázi je filtrační papír vystřižený do kruhu). Na exkurzi v laboratořích biochemických analýz, potravinářského průmyslu, petrochemického průmyslu, analýzy vody, ovzduší, barviv, léčiv nebo na chemicky zaměřených pracovištích středních či vysokých škol se žáci setkávají s metodami plynové (GS, z angličtiny *Gas Chromatography*) a vysokoúčinné kapalinové (HPLC z angličtiny *High-Performance Liquid Chromatography*) chromatografie. Tyto metody umožňují kvalitativní a kvantitativní stanovení malého množství vzorků pomocí výpočetní techniky. V následujících podkapitolách jsou uvedeny náměty k pokusům.

### Extrakce a chromatografie

**Pomůcky:** široká zkumavka, zátka, chromatografický papír Silufol nebo filtrační papír, třecí miska s tloučkem.

**Materiál:** listy z kopřiv nebo špenátu, šípky, mrkev, lusky červené papriky, křemenný písek.

**Chemikálie:** aceton, lékařský benzin.

### Postup:

- Asi 20 g vzorku a 2 g křemenného písku rozetřeme s 5 cm<sup>3</sup> 70% acetonu, provedeme extrakci.
- Baňku se směsí zahříváme ve vodní lázni asi 5 minut, tak, aby směs pozvolna vřela.
- Směs barviv odpaříme na jednu polovinu objemu, přefiltrujeme přes smotek vaty a použijeme pro chromatografii.
- Směs barviv nanese skleněnou kapilárou na Silufol, velikost skvrn nemá být větší než 5 mm.
- Jakmile kapka zaschne, nanese na stejné místo ještě několikrát jednu až dvě kapky a necháme vždy zaschnout.
- Silufol vložíme do zkumavky s lékařským benzínem, zazátkujeme a necháme vyvíjet chromatogram.
- Lékařský benzin začne vzlínat, jakmile rozpouštědlo dosáhne asi 4/5 výšky folie, vyjmeme chromatogram ze zkumavky a označíme čelo chromatogramu a jednotlivé skvrny, protože na světle oxidují a postupně mizí.

**Závěr:** Na základě různé afinity barviv k rozpouštědlu dochází k jejich rozkladu na jednotlivé složky, které se pohybují různými rychlostmi v závislosti na podílu barvy.

## Chromatografie lentilkových barviv

**Materiál:** lentilky, lékovky (zkumavky), nůžky, filtrační papír (papírová utěrka), sklenice s víčkem, víčko od sklenice, kapátka, špejle, lepicí páska, voda.

### Postup:

- Pokud chceme připravit vzorek čistých barviv, vložíme do lékovky lentilku dané barvy a přidáme asi 10 kapek vody. Až bude poleva odbarvená, opatrně lentilku ze zkumavky vytáhneme. Takto připravíme vzorky od všech barev lentilek.
- Na připravený proužek chromatografického papíru si uděláme asi 2 cm od okraje čáru startu. Na start pomocí kapátek naneseeme vzorky jednotlivých barviv. Pokud je kapka málo intenzivní, necháme ji zaschnout a po zaschnutí přidáme další kapku.
- Proužek papíru přilepíme volným koncem ke špejli tak, aby konec, na kterém je vyznačený start, nedosahoval na dno vyvíjecí komory (sklenice s víčkem).
- Do vyvíjecí komory nalijeme jen tolik destilované vody, aby bylo ponořeno asi 0,5-1 cm filtračního papíru.
- Jakmile se čelo mobilní fáze (vody) dostane asi 1 cm od horního okraje. Pak chromatogram vyjmeme z komory a usušíme.
- Budeme-li pracovat se směsným vzorkem, naneseeme na start směsný vzorek a začneme s vyvíjením chromatogramu.

**Závěr:** V lentilkové polevě se vyskytují barviva E163 anthokyany (červené nebo modré zbarvení), E100 kurkumin (oranžové zbarvení), E120 kyselina karmínová, karmíny (červená barva), E160a beta-karoten (žlutá až oranžová barvy), E141 měďnaté komplex chlorofylů a chlorofinů. Na základě různé afinity barviv k rozpouštědлу dochází k jejich rozkladu na jednotlivé složky, které se pohybují různými rychlostmi v závislosti na podílu barvy.

## Chromatografie barviv z fixů

**Materiál:** fixy, ocet, voda, bílý kávový filtr (piják, filtrační papír, papírová utěrka), lepicí páska, tužka.

### Postup:

- Skleničku naplníme asi 1 cm vysoko vodou a přidáme 3 lžice octa.
- Ustříhneme asi 4 cm široký pruh kuchyňské utěrky.
- Pruh nahoře přehneme a do přehybu vložíme tužku. Připevníme ji lepicí páskou. Na spodním konci papírové utěrky nakreslíme pomocí fixů řadu různě barevných bodů.
- Položíme tužku na skleničku tak, aby pruh utěrky visel do tekutiny.

**Závěr:** Octová voda stoupá vzhůru papírem. Rozkládá barvivo fixů do různých složek, které se pohybují různými rychlostmi v závislosti na podílu barvy. Na papíru vidíme, ze kterých jednotlivých barev se skládá barva každého fixu.