

## Ćwiczenie 2: Chromatografia dwuwymiarowa (TLC 2D)

Celem ćwiczenia jest zaobserwowanie rozdziału mieszaniny aminokwasów w dwóch układach rozwijających.

**Aminokwasy:** Asp, Tyr, His, Leu, Ala, Val, Gly (1% roztwory wodne)

**Eluent 1:** n-butanol: kwas octowy: woda (4:1:1)

**Eluent 2:** fenol: woda (3:1)

**Wizualizacja:** UV, następnie roztwór ninhydryny

Próbkę наносimy w narożniku płytki. Po rozwinięciu w eluencie 1 suszymy starannie płytkę (24 h, lepiej tydzień), ponownie наносimy próbkę w narożniku startowym i rozwijamy płytkę w eluencie 2 tak, aby ścieżka rozwinięcia 1 stanowiła teraz linię startową.

Płytkę suszymy (ostrożnie! fenol) i, po obejrzeniu w UV, wywołujemy roztworem ninhydryny.

Obliczymy współczynniki  $R_f$  (dla obu układów). Po porównaniu z płytka wzorcową i uwzględnieniu danych literaturowych wskazujemy, którego aminokwasu nie zawierała badana mieszanina.

### Ćwiczenie 3: Leki przeciwbólowe, metody wizualizacji

Celem ćwiczenia jest zaobserwowanie selektywności wizualizacji w zależności od stosowanego odczynnika. Dodatkowym celem jest zaobserwowanie wpływu obecności kwasów w eluencie na kształt plamek analizowanych substancji.

Leki przeciwbólowe i substancje czyste: aspiryna, kwas salicylowy, paracetamol, kofeina, witamina C (roztwory metanolowe)

**Eluent 1:** octan butylu: chloroform: 85% HCOOH (60:40:20)

**Eluent 2:** octan butylu: aceton: butanol: woda amoniakalna (50:40:30:10)

**Wizualizacja UV**, wybrany odczynnik

W1 UV 254, 366

W2 pary jodu

W3 D6

W4 1% wodny roztwór  $\text{KMnO}_4$  (i zmieszany 1:1 z 5% wodnym roztworem  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , kontrola pH)

W5 dwuchromian potasu

W6 1% alkoholowy roztwór  $\text{FeCl}_3$

W6a wywoływacz **235**

W7 kwas siarkowy z aldehydem anyżowym **15**

W8 wywoływacz **293**

W9 stężony kwas azotowy

**(lub inne)**

Na 2 płytki наносimy wzorce i analizę (X, środkowy tor), rozwijamy we wskazanych układach. Wyszuszone płytki po obejrzeniu w UV wywołujemy wybranym odczynnikiem.

Obliczymy współczynniki  $R_f$ . Identyfikujemy X. Dodatkowo porównujemy metody wizualizacji (czułość, skuteczność).

**Ćwiczenie 4: Analiza olejku eterycznego**

Analizę olejku wykonuje się według instrukcji szczegółowej, zależnej od rodzaju olejku.

(Chromatografia cienkowarstwowa w analizie farmaceutycznej, B. Borkowski (red.), PZWL Warszawa 1973)

Po rozwinięciu oglądamy płytkę w świetle UV, zaznaczamy plamki. Umieszczamy płytkę w oparach amoniaku, obserwujemy zmiany barw.

Proszę ocenić skuteczność ekstrakcji i wyjaśnić powód zmiany zabarwienia plamek po zastosowaniu amoniaku.

### **Ćwiczenie 5: Nasycenie komory chromatograficznej (barwniki)**

Celem ćwiczenia jest zaobserwowanie wpływu przygotowania komory chromatograficznej na wynik analizy, a także porównanie nanoszenia kroplowego i liniowego oraz testowanie błędów proceduralnych.

Analizowane substancje: barwniki według listy.

Eluent (do wyboru): toluen: metanol (9:1), toluen:etanol (9:1), eter dietylowy:etanol (9:1)

Warianty: zlewka + szalka, zlewka z paskiem bibuły (poniżej lub powyżej kontaktu z płytką) i szalką, zlewka zabezpieczona folią, otwarta zlewka niska lub wysoka.

Proszę zaobserwować zmiany szybkości rozwijania płytek i maksymalne osiągnięte zwilżenie płytki w zależności od zastosowanej metody.

### **Ćwiczenie 6: Wpływ eluentów micelarnych na rozdział jonów metali**

Celem ćwiczenia jest porównanie zachowania jonów metali ciężkich w zależności od dodatków do eluentów

Analizowane substancje: Sole żelaza(III) i miedzi(II) (ew. kadmu).

Eluent: woda i roztwory CTAB (1%, 3%, 5%)

Wywołanie: 1% roztwór  $K_4Fe(CN)_6$

Proszę porównać współczynniki  $R_f$  i na podstawie publikacji spróbować wyjaśnić różnice (jeżeli będą).

(Separation Studies of Transition Metal Ions with Cationic Micellar Eluents in Normal Phase Thin-Layer Chromatography. Chromatography, 24(2), 2003.

**Ćwiczenie 7: Zastosowanie wskaźników pH w wizualizacji.**

1. Celem ćwiczenia jest zaobserwowanie wizualizacji kwasów karboksylowych z wykorzystaniem wskaźników pH.

Kwasy karboksylowe: benzoesowy, ftalowy, 4-metylobenzoesowy, 4-hydroksybenzoesowy, octowy itp.

Eluent: toluen: pirydyna (85:15)

Wskaźniki: zieleń bromokrezolowa, błękit bromotymolowy, czerwień metylowa

**eluent 29.**

Po rozwinięciu płytki i ostrożnym wysuszeniu (wyciąg!!) nanosimy roztwór wybranego wskaźnika i oceniamy efekt. Zmianę zabarwienia barwników w zależności od pH warto sprawdzić na płytkach do analizy kroplowej.