

## Лабораторна робота № 7

**Тема:** Розділення суміші речовин за допомогою тонкошарової та колонкової хроматографії

**Мета:** оволодіти методами тонкошарової хроматографії як одними з методів хроматографічного аналізу на прикладі розділення суміші органічних речовин.

### Завдання:

1. Виготовити пластинки для тонкошарової хроматографії.
2. Підібрати розчинник для розділення суміші речовин.
3. Наповнити хроматографічну колонку.
4. Провести розділення суміші органічних речовин за допомогою колонкової хроматографії.

### Обладнання та реактиви

Скляні пластини для тонкошарової хроматографії, станок для нанесення тонкого незакріпленого шару сорбенту, ексикатор, камери для хроматографування, пластинки “Silufol”, скляні капіляри, хроматографічні колонки, адсорбенти: алюміній оксид, силікагель, суміші барвників, суміші вуглеводів, розчинник (бутанол/ацетон/вода – 2:7:2), розчинник (бутанол/ацетон/вода – 4:5:1).

### Хід роботи

#### I. Виготовлення пластинок для хроматографії

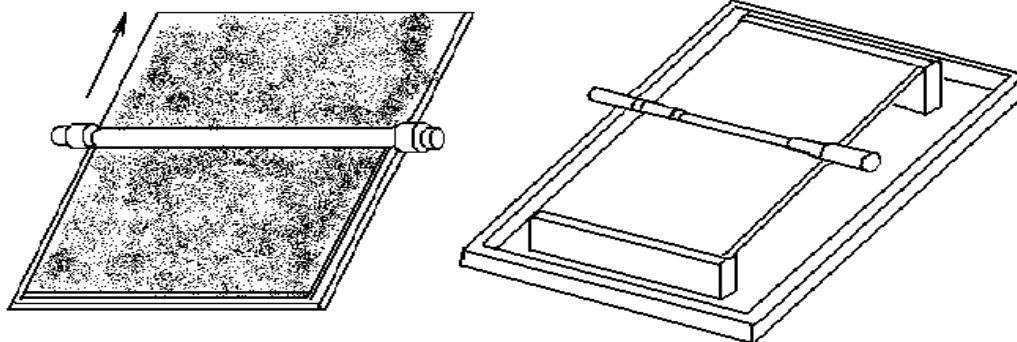


Рис. 44. Станок для нанесення тонкого незакріпленого шару сорбенту.

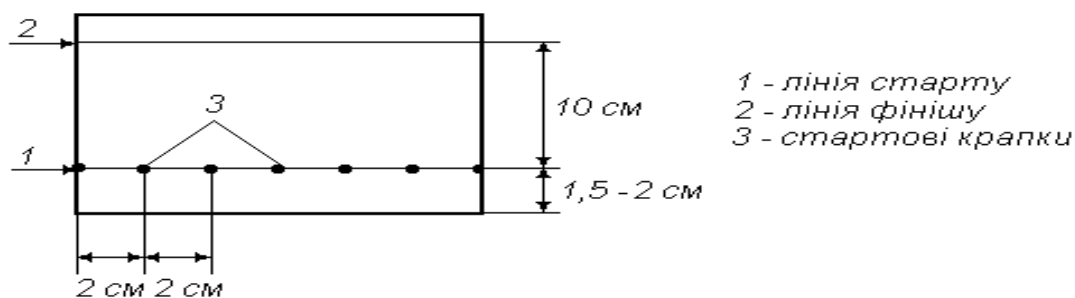
Рис. 45. Підготовлена пластинка до ТШХ

Вставити чисту, ретельно вимиту скляну пластину 13X18 см у станок (рис. 44).

Насипати на неї шар алюміній оксиду для хроматографії чи іншого сорбенту.

Розрівняти шар за допомогою хроматографічного валика (рис. 45). Сорбент поглинає вологу повітря, тому його слід зберігати в банці з притертою пробкою. На відстані 1,5 – 2 см від нижнього краю пластинки нанести лінію старту за допомогою гострого предмета (простий олівець), стартові крапки та лінію фінішу

розчинника на відстані 10 см від лінії старту. Стартові крапки повинні знаходитися суворо на одній прямій на відстані 2 см одна від одної.



## II. Підготовка пластинок “Silufol”

Сілуфольні пластинки – це пластинки з алюмінієвої фольги, на які в заводських умовах нанесений закріплений тонкий шар силікагелю. На відстані 1,0 см від нижнього краю пластинки олівцем нанести лінію старту та на відстані 1 см від лівого та правого країв і між собою нанести крапки старту. Лінію фінішу нанести на відстані 10 см від лінії старту.

## III. Підготовка хроматографічної колонки до роботи

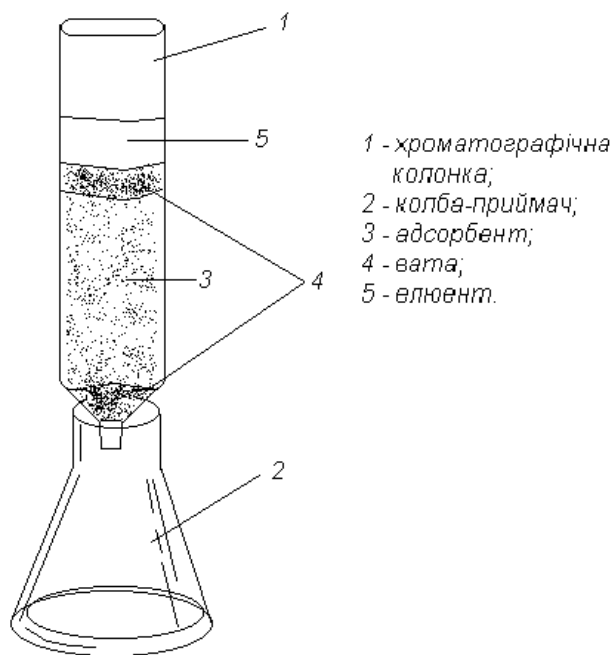


Рис. 46. Хроматографічна колонка

Для препаративного розділення використовують колонки з різними діаметрами та довжиною в залежності від кількості суміші, що розділяють. Звичайно для хроматографічного розділення суміші речовин на алюміній оксиді використовують скляні колонки діаметром 8-10 мм та довжиною 25-30 см.

Перед роботою колонку ретельно вимити, висушити, помістити у нижню частину колонки тампон з вати й закріпити у штативі так, щоб під нею можна було розташувати прийомник – конічну колбу об’ємом 25-50 см<sup>3</sup>. Алюміній оксид для наповнення колонки повинен мати марку “для хроматографії”,

ступінь активності не нижче III. Для наповнення колонки адсорбентом по сухому методу у верхню частину колонки вставити лійку і всипати алюміній оксид невеликими порціями, безперервно постукуючи по ній шматком товстостінного вакуумного шлангу, щоб забезпечити рівномірне осадження адсорбенту. Коли алюміній оксид повністю осяде, у верхню частину колонки помістити шматочок вати. Маса адсорбенту повинна бути в 100-1000 разів більшою за масою суміші, що розділяють. Після заповнення колонки адсорбентом через шар алюміній оксиду пропустити підібраний для розділення суміші елюент. Розчинник повинен

витікати з колонки зі швидкістю 30-40 крапель в хвилину і над шаром адсорбенту завжди повинен бути шар елюенту (рис. 46).

#### IV. Розділення суміші на пластинках для ТШХ

На попередню підготовлену пластинку нанести окремими капілярами досліджувану суміш (суміш барвників чи вуглеводів) та зразки стандартних речовин (свідки). Діаметр плями не повинен перевищувати 3-5 мм. Хроматографічну пластинку помістити в хроматографічну камеру (рис. 47) так, щоб нижній край пластинки був занурений у розчинник.

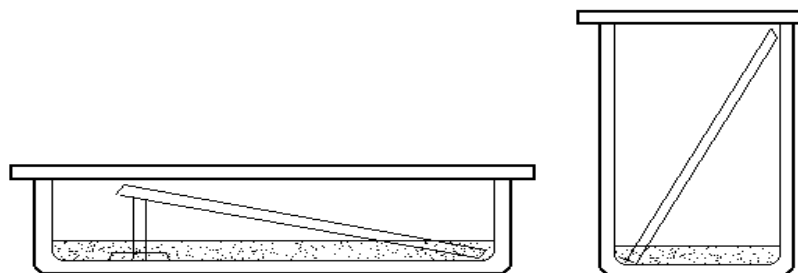


Рис. 47 Хроматографічна камера з пластиною

Після того, як фронт розчинника досягне лінії фінішу, вийняти пластинку з камери, висушити. Якщо пластинка з незакріпленим шаром адсорбенту і якщо плями безбарвні, то проявити хроматограму в парах йоду. Якщо пластинка має закріплений шар і якщо плями безбарвні, то хроматограму проявити в парах йоду або обприскуючи проявником (для вуглеводів – амоніачний розчин аргентум нітрату). Олівцем відзначити плями на хроматограмі, виміряти довжину пробігу плям ( $l$ ) і визначити  $R_f$ :

$$R_f = \frac{l(\text{плями})}{10}$$

Порівнюючи  $R_f$  плям суміші з  $R_f$  плям свідків, визначити склад суміші барвників та вуглеводів.

#### V. Розділення суміші речовин на хроматографічній колонці.

Після підготовки колонки до розділення, коли рівень розчинника в колонці знизиться до верхнього шматочка вати, в колонку внести виготовлений розчин суміші речовин, яку необхідно розділити. Як тільки рівень суміші, що розділяється, знизиться до верхнього шматочка вати, додавати порціями розчинник упродовж усього часу розділення. Слід пам'ятати, що під час роботи адсорбент завжди повинен бути покритий розчинником. Якщо речовини, що розділяються, забарвлені, то по мірі розділення суміші речовин у колонці з'являються забарвлені зони. Треба зібрати ці зони по мірі витікання з колонки в окремі колби. При розділенні безбарвних речовин результат розділення визначити, досліджуючи окремі фракції (об'єм 5 – 6 см<sup>3</sup>) розчину, що витікають з колонки методом тонкошарової хроматографії. Фракції, що мають однаковий  $R_f$ , об'єднати, а перехідні фракції (що містять суміш речовин) відкинути чи об'єднати та знову пропустити через колонку.