

E X P E R I M E N T Á L N A T E C H N I K A

Chromatografia na tenkej vrstve v úzkych komorách s premenlivým vnútorným priemerom

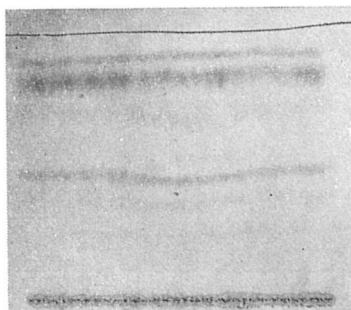
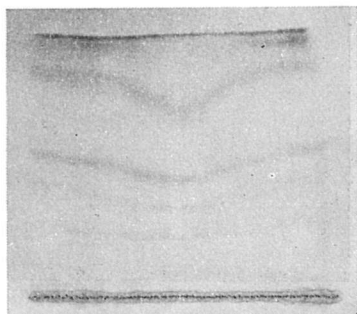
E. PORGES, L. PORGESOVÁ

*Katedra lekárskej chémie Lekárskej fakulty Univerzity Komenského,
Bratislava*

*Katedra analytickej chémie Slovenskej vysokej školy technickej,
Bratislava*

Opisuje sa vplyv vnútorného priemeru vyvíjacej komory na oddeľovanie troch skupín látok chromatografiou na tenkej vrstve. Ako modelové zmesi sa používali: zmes indikátorových farbív, extrakt z výhonkov rastlín (oddeľovanie chlorofylu a karotenoidov) a extrakt lipidov z mozgu (oddeľovanie sfingolipidov). Vnútorný priemer komory sa menil od 1 do 16 mm. Podľa druhu látok sa použili rozličné vyvíjadlá. Zistilo sa, že vnútorný priemer komory nemá vplyv na oddeľovanie v prípade nepolárnych vyvíjadiel. Pri zmesiach s malým podielom polárneho rozpúšťadla sú výhodné komory s vnútorným priemerom 1 mm. Pri použití zmesi s väčším obsahom polárneho rozpúšťadla boli výhodnejšie komory s vnútorným priemerom 16 mm.

Jedným z problémov pri chromatografii na tenkej vrstve s tmelivom je dosiahnuť, aby po vyvíjaní boli jednotlivé komponenty z rozdeľovanej zmesi v rovnakej výške (rovnaké R_F) po celej šírke chromatogramu. Pri klasickom vyvíjaní v kyvete sa táto požiadavka nedá splniť, lebo sa objavuje tzv. okrajový efekt [1] (str. 16), ktorý je zapríčinený rozdielnym odparovaním rozpúšťadla v rozličných častiach chromatogramu (najviac v prostriedku tenkej vrstvy), čo má za následok, že v strede chromatogramu putujú jednotlivé zložky zmesi pomalšie než pri okrajoch dosky (obr. 1).



Obr. 1. Rozdelená listová zeleň bez bočných pruhov filtračného papiera v kyvete.

Obr. 2. Rozdelená listová zeleň s bočnými pruhmi filtračného papiera v kyvete.

Tento okrajový efekt možno čiastočne odstrániť tým, že sa bočné steny kyviet vykladajú pruhmi filtračného papiera, ktoré sa pred vyvíjaním napájajú vyvíjadlom. Tým sa dosiahne, že tlak pár v celej kyvete je rovnomernejší než v predchádzajúcom prípade a oddelovanie sa uskutočňuje rovnomernejšie (obr. 2).

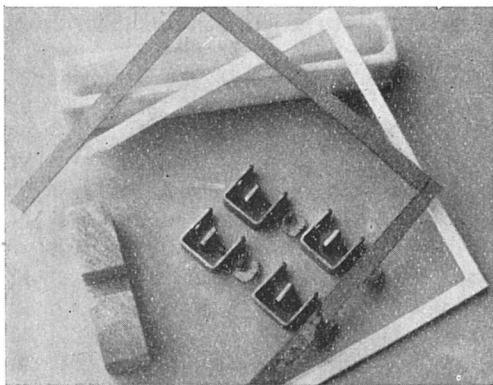
V snahe úplne odstrániť okrajový efekt a rozdeľovať zmesi s najmenším možným množstvom vyvíjadla boli v poslednom čase zhotovené máloobjemové vyvíjacie komory (S komory) [1] (str. 20) [2]. Tieto komory sú veľmi výhodné pre rozdeľovanie zmesí, pri ktorých sa používajú nepolárne vyvíjadlá alebo vyvíjacie zmesi s veľkým obsahom nepolárneho rozpúšťadla. Menej výhodné sa tieto extrémne malé komory ukázali pre vyvíjanie zmesí s väčším obsahom polárnych rozpúšťadiel, lebo v tomto prípade dochádza k vytvoreniu viacerých čiel.

V našich pokusoch sme sledovali vplyv veľkosti vyvíjacej komory:

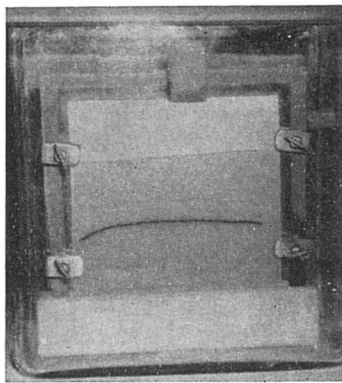
- a) pri rozdeľovaní listovej zelene, keď vyvíjacia zmes obsahovala *väčšie množstvo nepolárneho rozpúšťadla*;
- b) pri rozdeľovaní indikátorových farbív, keď vyvíjadlom bol čistý benzén, teda *nepolárne rozpúšťadlo*;
- c) pri rozdeľovaní lipidov z mozgu, keď vyvíjacia zmes obsahovala *väčšie množstvo polárnych rozpúšťadiel*.

Experimentálna časť

Vyvíjanie sme uskutočnili v komorách o vnútornom priemere 1—16 mm. Vyvíjacie komory sme pripravili v zásade podľa [2]. Pomocou kartónových rámov o rôznej hrúbke sme menili vnútorný priemer vyvíjacej komory. Rozmery rámov boli 20,0 × 18,5 × 1,0 cm.



Obr. 3. Rámy z kartónu, svorky, vanička z plastickej látky, drevený hranol s výrezom.



Obr. 4. Celkové usporiadanie pokusu.

Väčšie hrúbky rámov sme dosiahli spojením niekoľkých kartónových rámov. Keďže vyvíjanie sa robí tak, že sa celý spodný okraj vyvíjacej komory ponorí do vyvíjadla, musia byť bočné ramená kartónových rámov kratšie než samotná komora, aby rám nenasiakol rozpúšťadlom. Jednotlivé pomôcky, ako aj usporiadanie pokusu pomocou vyvíjacej komory s meniteľným objemom sú na obr. 3 a 4.

Všetky tenké vrstvy sa pripravili zo silikagélu podľa [4] a pufovali sa nasýteným roztokom hydroxidu vápenatého [5].

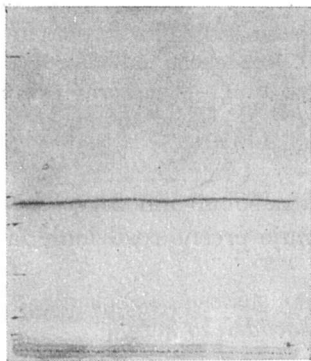
Výsledky a diskusia

a) Rozdeľovanie listovej zelene

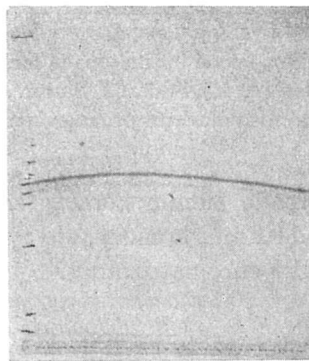
Extrakt chlorofylu a karotenoidov sme pripravili podľa [3] z mladých výhonkov jačmeňa. Na rozdiel od pôvodnej metódy sme namiesto benzínu použili benzén, čím sme dosiahli presnejšie oddelenie zložiek po celom chromatograme. Vyvíjacia zmes obsahovala benzén p. a., izopropanol p. a. a destilovanú vodu (100 10 0,25 v/v).

Obr. 5 až 8 ukazujú vplyv veľkosti vyvíjacej komory na rozdelenie listovej zelene.

Najlepšie rozdelenie sa dosiahne pri komore s vnútorným priemerom 1 mm, najhoršie pri veľkých komorách, kde sa vytvorí obrazec inverzný k obr. 1. Oddelovanie v malých komorách je aj ostrejšie a jednotlivé zložky sa lokalizujú do užších pásov. (Čiarky na stranách chromatogramov naznačujú komponenty, ktoré sú viditeľné pod ultrafialovým svetlom ako ostré červeno fluoreskujúce zóny.)



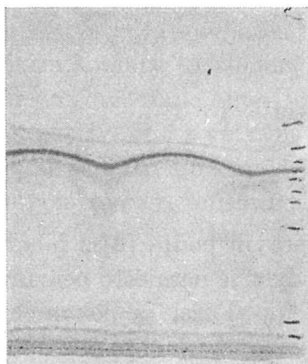
Obr. 5. Rozdelená listová zeleň — komora s vnútorným priemerom 1 mm.



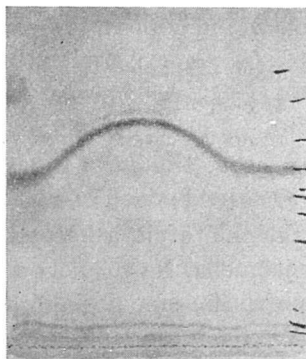
Obr. 6. Rozdelená listová zeleň — komora s vnútorným priemerom 4 mm.

b) Rozdeľovanie indikátorových farbív

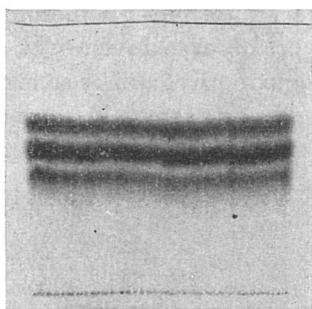
Pri rozdeľovaní farbív (maslovej žlte, Sudanu I a Sudanu III) nedochádzalo k tvoreniu okrajového efektu, lebo tlak pár v celej vyvíjacej komore bol rovnomerný (obr. 9 a 10).



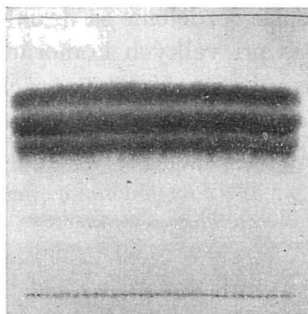
Obr. 7. Rozdelená listová zeleň — komora s vnútorným priemerom 8 mm.



Obr. 8. Rozdelená listová zeleň — komora s vnútorným priemerom 12 mm.



Obr. 9. Rozdelené indikátorové farbivá. Zhora maslová žlt, Sudan I, Sudan III (po 200 μ g) — vnútorný priemer komory 1 mm.



Obr. 10. Rozdelenie indikátorových farbív (po 1 mg) — vnútorný priemer komory 16 mm.

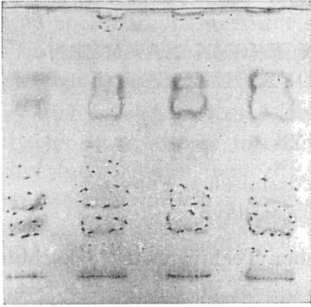
V prípade 16 mm komory sme nanášali päťnásobné množstvo farbív ako v prípade 1 mm komory, ale aj tu sa uskutočňuje presné rozdelenie farbív po celej šírke chromatogramu.

c) Rozdeľovanie sfingolipidov z hovädzieho mozgu

Lipidný extrakt sme získali nasledujúcim spôsobom: Po stiahnutí mozgových blán z hovädzieho mozgu sme mozog homogenizovali v mixeri s trojnásobným množstvom acetónu p. a. Homogenizát sme na 24 hodín odložili do chladničky

pri 0 °C za účelom odstránenia prevažnej väčšiny neutrálnych tukov a cholesterolu. Po odsatí acetónu sme zvyšok mozgu extrahovali éterom v parnej fáze za použitia extrakčnej aparatury podľa Gräfeho.

Pri vyvíjaní sfingolipidov za použitia komôr s malým vnútorným priemerom sa vytvorili dve alebo tri čelá, ktoré za vlhka fluoreskovali pod ultrafialovým svetlom. Až pri použití vyvíjacej komory s minimálne 16 mm vnútorným priemerom sme dosiahli jednotné čelo a rovnaké oddelenie zložiek po celej šírke chromatogramu (obr. 11).



Obr. 11. Rozdelená zmes lipidov z hovädzieho mozgu. Zhora glyceridy, cerebrosidy, cerebrosulfatidy, kefalíny, lecitíny a sfingomyelíny. Vnútorný priemer komory 16 mm.

Naše výsledky poukazujú na to, že pre vyvíjacie sústavy, ktoré obsahujú len nepolárne rozpúšťadlá alebo veľký podiel nepolárnych rozpúšťadiel, sú výhodné komory s malým vnútorným priemerom. Naopak, vyvíjanie v komorách s malým vnútorným priemerom pri používaní vyvíjadiel s veľkým obsahom polárnych rozpúšťadiel vedie k tvoreniu viacerých čiel a k nepresnému oddeleniu zložiek. V tomto prípade musí mať komora určitý minimálny vnútorný priemer, aby nedochádzalo k tvorbe viacerých čiel.

Domnievame sa, že vytvorenie viacerých čiel v prípade zmesného vyvíjadla nesúvisí ani tak s rozdielnym zložením parnej fázy vyvíjadla, ako uvádza D. Jänchen [2], ale je skôr spôsobené rozdielnou adsorpciou polárnejších zložiek vyvíjadla na adsorpčný materiál (silikagél), ktorá sa obzvlášť výrazne prejavuje pri komorách s extrémne malými vnútornými priermi.

ХРОМАТОГРАФИЯ НА ТОНКОМ СЛОЕ В УЗКИХ КАМЕРАХ С ИЗМЕНЯЮЩИМСЯ ВНУТРЕННИМ ДИАМЕТРОМ

Э. Поррес, Л. Порресова

Кафедра врачебной химии Медицинского факультета
Университета им. Коменского, Братислава

Кафедра аналитической химии Словацкого политехнического института,
Братислава

Описывается влияние внутреннего диаметра проявительной камеры на разделение хроматографией на тонком слое трех групп веществ. В качестве образцов применялись: смесь индикаторных красителей, экстракт из побегов растений (разделение хлорофилла

и каротиноидов) и экстракт липидов из мозга (разделение сфинголипидов). Внутренний диаметр камеры изменялся от 1 до 16 мм. В зависимости от характера веществ применялись различные проявители. Нашли, что в случае неполярных проявителей внутренний диаметр камеры не влияет на разделение. Для смеси с малым содержанием полярного растворителя удобны камеры с внутренним диаметром 1 мм. Для смеси с более высоким содержанием полярного растворителя удобными оказались камеры с внутренним диаметром 16 мм.

Preložila T. Dillingerová

DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE IN ENGEN KAMMERN MIT VERÄNDERLICHEM INNENDURCHMESSER

E. Porges, L. Porgesová

Lehrstuhl für medizinische Chemie der Medizinischen Fakultät
an der Komenský-Universität, Bratislava

Lehrstuhl für analytische Chemie an der Slowakischen Technischen Hochschule,
Bratislava

Es wird der Einfluß des Innendurchmessers der Entwicklungskammer auf die Trennung von drei Stoffgruppen durch Dünnschichtchromatographie beschrieben. Als Modellgemische wurden benutzt: ein Gemisch von Indikatorfarbstoffen, ein Extrakt aus Pflanzentrieben (Trennung von Chlorophyll und Carotinoiden), und ein Extrakt von Lipoiden aus dem Gehirn (Trennung von Sphingolipiden). Der Innendurchmesser der Kammer änderte sich von 1 bis 16 mm. Je nach der Art der Stoffe wurden verschiedene Entwicklungslösungen verwendet. Es zeigte sich, daß der Innendurchmesser der Kammer im Falle von unpolaren Entwicklungslösungen keinen Einfluß auf die Trennung ausübt. Bei einem Gemisch mit einem kleinen Anteil an einem polaren Lösungsmittel sind Kammern mit einem Innendurchmesser von 1 mm vorteilhaft. Bei Verwendung eines Gemisches mit einem größeren Gehalt an polarem Lösungsmittel waren Kammern mit einem Innendurchmesser von 16 mm vorteilhafter.

Preložil K. Ulrich

LITERATÚRA

1. Stahl E., *Dünnschicht-Chromatographie*. Springer Verlag, Berlin 1962.
2. Jänchen D., *J. Chromatography* **14**, 261 (1964).
3. Hager E., Bertenrath T., *Planta* **58**, 564 (1962).
4. Porges E., Porgesová L., *Bratislavské lekárske listy* **43**, 513 (1963).
5. Porges E., *Bratislavské lekárske listy* **44**, 3 (1964).

Do redakcie došlo 10. 7. 1964

Adresa autorov:

Inž. Eduard Porges, Katedra lekárskej chémie LFUK, Bratislava, Sasinkova 2.

Inž. Líbuša Porgesová, Katedra analytickej chémie SVŠT, Bratislava, Kollárovo nám. 2.