

Värviproovide uurimine planaarkromatograafia meetodil

Eksperimentaalse töö juhendi koostajad: Jörgen Metsik ja Mihkel Ilisson

Tartu Ülikool, Teaduskool

Meetodi kirjeldus

Värvid võivad tihti koosneda erinevatest komponentidest. Üks lihtsamaid võimalusi nende komponentide eraldamiseks ja uurimiseks on planaarkromatograafia ehk õhukese kihi kromatograafia (TLC – *Thin Layer Chromatography*).

Planaarkromatograafia kaks põhimõistet on **mobiilne ehk liikuv faas** ja **statsionaarne ehk liikumatu faas**. Mobiilseks faasiks on **eluent** (lahusti), mis tõuseb kapillaarjõudude toimele mööda **silikageeliplaati** (statsionaarne faas) aegamisi ülespoole – seda protsessi nimetatakse **elueerimiseks**. Kui silikageeliplaadile on kantud uuritavad segud ja plaat panna otsapidi eluendi sisse, siis võib näha, et komponendid, millest segud koosnevad, liiguvad plaadil erineva kiirusega. Erinev liikumiskiirus sõltub sellest, kas komponendi molekulid on eelistatult mobiilses faasis (eluendis) ja liiguvad koos sellega kaasa või on eelistatult statsionaarse faasi küljes kinni ja liiguvad vähem. Komponendi liikumiskiirus plaadil sõltub suurel määral komponendi **polaarsusest** – mida polaarsem see on, seda tugevam on vastasmõju silikageeliga ja seda aeglasemalt see komponent plaadil liigub.

Värvilisi komponente ja nende liikumist plaadil saab edukalt vaadata palja silmaga. Kui mõni komponent on värvitu, tuleb plaati pärast eksperimenti eraldi **ilmutada**. Ilmutamiseks kasutatakse sageli UV-valgust või spetsiaalseid indikaatorsegusid. Pärast ilmutamist saame igale komponendile arvutada **retentsioonifaktori**, mis on vastava komponendi plaadil liikumist iseloomustav arvuline suurus. Juhendi selle arvutamiseks leiad allpool.

TÖÖJUHEND

Eesmärk: Teostada värviproovide planaarkromatograafiline analüüs ning teha analüüsi tulemustest järeldused.

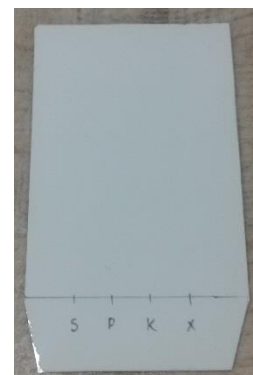
Vajalikud vahendid:

- **Asitõendid:** plastikuub koos värviproovi lahusega sündmuskohalt ja plastikuubid värviproovidega paberil (klassi jaoks 4-5 iga prooviga);
- 100 ml keeduklaas;
- väikesed korgiga tuubid (vastavalt paberil proovide arvule) alusel;
- väiksed Pasteuri pipetid ärälõigatud otsaga (vastavalt paberil proovide arvule);
- suur Pasteuri pipett
- tilgapudel etanooliga;
- kolb eluendiga (etanool – etüülatsetaat 3:1);
- Petri tass või uuriklaas;
- pintsetid;
- silikageeliplaat paberkäterättil;
- UV-lamp,
- kontoritarbed (pliiats, joonlaud, kalkulaator, läbipaistev teip, käärid) ja kaitseprillid ja -kindad.

Töö käik

Sulle on antud uurida röövitud maalilt võetud värviproov (plastiktuub värvi lahusega) ja kahtlusluste jahtidelt leitud värviproovid paberil. Sinu eesmärgiks on võrrelda kahtluslustelt saadud proove maalilt saadud värvainega planaarkromatograafia meetodil ning leida selle abil võimalik kokkulangevus. **Tööd tehes tuleb kanda kaitseprille, et vältida kemikaalide sattumist silma!** Uuring hõlmab järgmisi etappe:

- 1. Proovide ettevalmistamine.** Maalilt võetud värviproovist on juba valmistatud lahus, mis on sobiv silikageeliplaadile kandmiseks. Lahused tuleb valmistada ka kahtlusluste proovidest. Selleks pane paberitükid tindiproovidega eraldi plastiktuubidesse, tähista tuubid proovide tähistega ning lisa igasse tuubi tilgapudelist väike kogus (5 tilka) etanooli. Lükka paberitükk pintsettidega tuubi põhja! Sulge tuubid kindlalt ja raputa neid umbes minuti vältel, et värv ekstraheeruks paberist lahusesse. Pane tuubid alusele.
- 2. Elueerimisnõu ettevalmistamine.** Mõõda suure Pasteuri pipetiga 100 ml keeduklaasi umbes **5 ml eluenti**. Kata keeduklaas Petri tassi või uuriklaasiga ning pane kaetud keeduklaas kõrvale.
- 3. Silikageeliplaadi ettevalmistamine. TÄHELEPANU! – silikageeliplaadi pind on väga õrn! Plaadi liigutamisel tohib seda hoida kinni sõrmedega servadest või pintsettidega ülemisest äärest. Hariliku pliitsiga tehtavad jooned ja märkmed tuleb teha **õrnalt!** Võta silikageeliplaat koos paberkäterätiga endale lähemale ja tõmba hariliku pliitsiga õrnalt stardijoon – alumise, ärälõigatud nurkadega servaga paralleelne joon 1 – 1,5 cm kaugusele servast. Stardijoon peab olema vähemalt 5 mm kõrgemal kui eluendi nivoo elueerimisnõus siis kui silikageeliplaat sellesse pannakse! Märgista hariliku pliitsiga stardijoonele ära (näiteks väikeste kriipsukestega) ka kohad, kuhu hiljem kannad uuritavad proovid. Need kohad võiksid olla plaadi äärtest umbes 8 mm kaugusel ja proovitäppide vahekaugused võiksid olla enam-vähem võrdsed. Iga koha alla kirjuta õrnalt proovile vastav täht.**
- 4. Proovide kandmine silikageeliplaadile.** Märgista markeri abil väikesed Pasteuri pipetid proovidele vastavate tähtedega. Kasta (ära tõmba lahust sifooniga pipetti!) vastav Pasteuri pipett ühes tuubis olemasse tindi lahusesse ning kanna see proov silikageeliplaadi stardijoonel olemasse vastavasse eelmärgistatud kohta. Et proov tuleks pipetist välja, tuleb pipeti ots korraks õrnalt vajutada vastu silikageeli pinda. Pealekantav täpp ei tohiks olla väga suur, selle diameeter võiks olla kuni 4 mm. Seda protseduuri tuleb korrata kõikide proovide jaoks. Iga proovi jaoks võta uus pipett! Kui kõik proovid on silikageeliplaadile kantud, lase plaadil kuivada õhu käes umbes 1 minut.
- 5. Elueerimine.** Võta plaadi ülemisest äärest pintsettidega kinni ning aseta see ettevaatlikult alumise servaga elueerimisnõus oleva eluendi sisse ja lase plaadist pintsettidega lahti nii, et plaadi ülemised nurgad jääksid toetuma vastu keeduklaasi seinu. Kata keeduklaas Petri tassiga ning jälgi toimuvat. Kui eluent on jõudnud umbes 1-2 cm kaugusele plaadi ülemisest servast, tõsta plaat pintsettide abil keeduklaasist



Näidis: tulemus pärast 3. etappi



Näidis: tulemus pärast 4. etappi

välja, aseta paberkäterätile ja märgi kiiresti pliatsiga punktiirjoon, milleni eluent jõudis (finišijoon). Lase plaadil veidi aega kuivada, siis ongi Sinu **kromatogramm** valmis.

6. **Ilmutamine.** Kas kõik komponendid on plaadil palja silmaga nähtavad? Märgi hariliku pliatsiga plaadile need laigud, mida näed. Pärast seda vaata plaati ka UV-lambi all. **TÄHELEPANU! UV-kiirgus on inimesele kahjulik, seega ära suuna UV-lambi valgust enda ega kaaslaste peale ning lülita lamp pärast kasutamist kohe välja!** Tõmba õrnalt hariliku pliatsiga ring ümber kõikidele UV-lambi all fluorestseeruvatele laikudele.
7. **Protokolli täitmine ja retentsioonifaktorite arvutamine.** Täida protokoll, märkides kõikide proovide kohta komponentide värvused, omadused (fluorestsents, laigu sümmeetrilisus) ja arvuta komponentidele retentsioonifaktorid (R_f):

$$R_f = \frac{\text{vahemaa laigu keskmest stardijooneni}}{\text{vahemaa stardijoonest finišijooneni}}$$

Retentsioonifaktori arvutamisel loetakse laigu keskmeks punkt, kus komponendi kontsentratsioon (ehk värvi intensiivsus) on kõige suurem. Sümmeetriliste laikude puhul on see reeglina täpselt laigu keskel, kuid "sabatavate" laikude puhul pigem "peapoolses" osas. R_f väärtused arvuta kindlasti maalilt võetud värviproovi ja sellega kõige enam sarnase värviproovi komponentidele. Teibi saadud kromatogramm oma protokolli vastavasse lahtrisse.

8. **Järelduste tegemine.** Mida saab järeldada saadud tulemustest? Kirjuta järeldused protokolli!

NÄDISPROTOKOLL*

Proov	Komponentide värvid, laikude R_f väärtused ja muud omadused	Koht kromatogrammi teipimiseks:
Näide	Punane laik, $R_f = 0,75$, fluorestseerub UV all. Kollane laik, $R_f = 0.43$, ebasümmeetriline/"sabaga"	
Maalilt võetud värviproov		
Proov A		
Proov B		
Proov C		

Järeldused:

*soovitame paberprotokolli asemel tulemused sisestada arvutiprotokolli!