

Kromatográfia

Gáz- vagy **folyadékelegyek szétválasztására** szolgáló vegyi eljárás. A kromatográfiai módszerek közé azok az eljárások tartoznak, amelyeknél az elválasztandó alkotórészek két fázis között oszlanak meg;

- az egyik fázis **álló** (stacioner),
- a másik **mozgó** (mobilis), amely átáramlik az álló fázison.

Az álló fázis általában szilárd anyag. A mozgó fázis lehet

- folyadék vagy
- gáz, ami egyben folyadék- vagy gázkromatográfiát jelöl.

Szilárd, adszorpciós tulajdonságokkal bíró álló fázis esetében adszorpciós kromatográfiáról beszélünk. Az egyes alkatrészek aszerint választódnak el és vonulnak az álló fázison keresztül, hogy

- mennyire adszorbeálódnak az álló fázisra és
- milyen az oldékonyságuk a mozgó fázisban.

Az álló fázisként szolgáló finomszemcsés adszorbens, ami lehet például Al_2O_3 , aktívszén, cellulóz, egy üvegcsőbe van töltve. Ez alkotja a kromatográfiai oszlopot. Erre viszik fel a mintaoldatot a szétválasztandó elegyet, ami, mint mozgó fázis mozog az álló fázison keresztül. Azok a komponensek, amelyek erősebben adszorbeálódnak a szilárd fázisra, kisebb sebességgel vándorolnak a folyadékáramlás irányába, nagyobb mértékben lefékeződnek mint azok, amelyek kevésbé vagy egyáltalán nem adszorbeálódnak. Az egyes alkatrészek, az adszorptivitásuknak megfelelően a folyadékmozgás irányában elválasztódnak egymástól és gyűrű formájú mozgó zónákba összpontosulnak.

A fotoszintetikus pigmentek oszlopkromatográfiai szétválasztása

Szükséges anyagok: zöld levél (spenót), kvarchomok, aceton, etanol, aceton-petroléter (1:9), kromatografáló papír (10 cm x 1 cm), vagy krétaoszlop

- A növény levelét 1 g kvarchomokkal és 25 ml acetonnal a színanyagok kivonása céljából dörzsmozsárban alaposan eldörzsölünk.
- A keveréket redős papírszűrőn Erlenmeyer-lombikba szűrjük.
- A szűrletből 5 ml-t kémcsőbe öntünk, meghígítjuk kb. 2 ml desztillált vízzel, majd az erősen apoláros klorofillok kioldására kb. 3 ml petrolétert adunk hozzá, végül a kémcsövet összerázzuk.
- A petroléteres és a vizes fázis elkülönül.
- A kromatografáló papírcsík aljára a petroléteres (felső) fázisból 20-25 cseppet cseppentünk úgy, hogy minden egyes csepp után a cseppet megszáritjuk (ha a vizes fázisból is felcseppentünk, a kromatográfiai szétválasztás nem sikerül).

Egy főzőpohárba öntsünk a fúttatóelegyből, és a papírcsíkot lefelé lógassuk bele, úgy, hogy a felső részét a főzőpohár peremén rögzítjük.

- karotinoidok sárga foltja legmagasabban
- klorofill-b sárgászöld foltja közepén
- klorofill-a kékeszöld foltja legalul



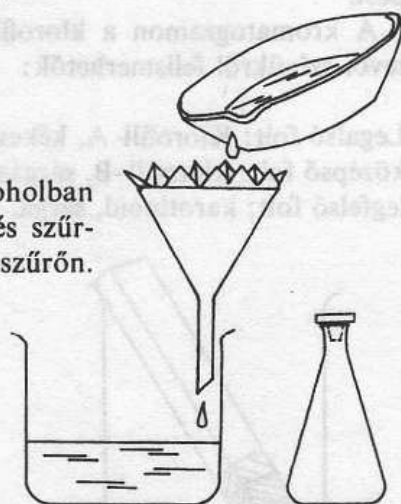
8.17. Nyers klorofilloldat készítése

Kísérleti alanyként választhatjuk a spenót (*Spinacia oleracea*) levelét.

Mártjuk a zöld leveleket forró vízbe.

Daraboljuk fel a forró vízből kivett leveleket, és dörzsöljük szét dörzsmozsárban. Adjunk hozzá egy kevés homokot is.

Oldjuk alkoholban a zúzalékot, és szűrjük át redős szűrőn.



A forró vízben a sejtek elhalnak.

A sejtek roncsolásához használjunk dörzsanyagként homokot, így az őrlés hatásfoka nagyban növelhető.

Hasznos, ha már ekkor kevés alkoholt öntünk hozzá, így a levéldarabok kevésbé tapadnak össze.

Az alkohol kioldja a klorofillt és a többi növényi színanyagot. A kioldás hatásfokát növeljük, ha kevés alkohollal és többször végezzük a mosást. A redős szűrő gyorsítja a szűrést, mert nagy a felülete. Ezt akkor alkalmazzuk, ha csak szűrletre van szükség.

8.18. Növényi festékek szétválasztása

A növényekből kivont festékanyagok különböző színű kémiai összetételű és fizikai tulajdonságú vegyületeket tartalmaznak. Ezek a vegyületek eltérő tulajdonságaik alapján szétválaszthatók. Szétválasztásuk egyik módszere a *kromatográfia*. A módszer elméleti alapja az adszorpció.

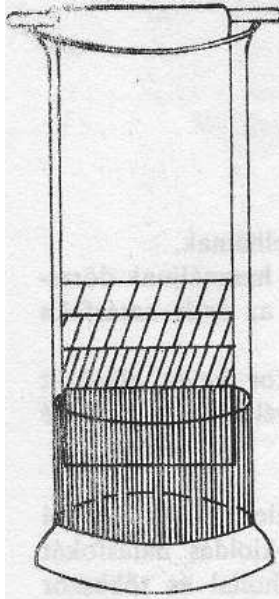
Az adszorpció az anyagok megkötődése a testek külső és belső felületén. Az adszorpció mértéke a megkötődő (adszorbeálódó) anyag és a megkötő felület (adszorbens) fizikai és kémiai tulajdonságaitól függ. Az adszorpció képesség minden anyagra jellemző sajátosság. Az anyagok szétválasztásához általában nagy felületű szilárd anyagot (pl. cellulózt vagy alumínium-oxid port) használnak adszorbensként. Az adszorbens minősége szerint többféle elválasztási (kromatográfiai) eljárás ismeretes. Növényi festékkivonatok alkotórészeit egyszerűen elkülöníthetjük papír- vagy oszlopkromatográfiai (kréta) eljárással.

Az adszorbens mindkét esetben hajszálcsöves szerkezetű. A festékelegyet a kapilláris erők mozgatják felfelé. Mozgás közben az oldott festékmolekulák adszorpció képességének megfelelően kötődnek meg az adszorbens felületén. Tehát minél jobban megkötődik egy anyag a felületen, annál rövidebb utat tesz meg a festéket jelző folt az oldat határfelületéhez képest.

A kromatográfia hosszú ideig tartó folyamat; egy („krétás”) kromatográfia kb. két óráig tart, amelynek eredménye a szétvált festékanyagokat mutató *kromatogram*.

A kromatográfia igen nagy jelentőségű eljárás, mert lehetővé teszi kis anyagmennyiség szétválasztását és pontos meghatározását.

Ma már nemcsak a biológiai kutatásokban alkalmazzák, hanem az orvosi gyakorlatban is nélkülözhetetlen.



Papírkromatográfiás módszer

Erősítsünk keskeny szűrőpapírcsíkot hurkapálcára, és így tegyük klorofilloldatot tartalmazó hengerbe. (A szűrőpapírcsík oldalt ne érjen a henger falához.)

Figyeljük meg a szűrőpapírcsíkon kialakult foltokat.

Oszlopkromatográfiás módszer

Állítsunk iskolai táblakrétát klorofiloldatot tartalmazó főzőpohárba vagy Erlenmeyer-lombikba.

Fedjük le az edényt, mert az oldószer gyorsan párolog.

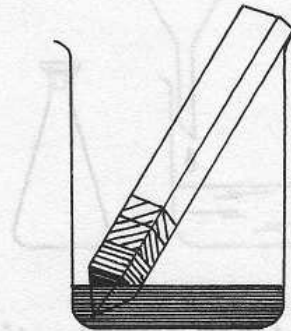
Figyeljük meg a változást.

Az elválasztandó elegy komponensei nagy felületű, porózus anyagon különböző mértékben kötődnek meg (adszorbeálódnak).

Minél jobban kötődnek a molekulák a hordozóanyag felületéhez, annál rövidebb utat tesz meg a folt az oldat határfelületéhez képest.

A kromatogramon a klorofilloldat összetevői színükről felismerhetők:

Legalsó folt: Klorofill-A, kékeszöld;
középső folt: klorofill-B, sárgászöld;
legfelső folt: karotinoid, sárga.



A krétán mint oszlopon a papírkromatogramhoz hasonlóan válnak szét a festékek.