

## Chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa

- [Wprowadzenie](#)
- [Przeczytaj](#)
- [Wirtualne laboratorium - I](#)
- [Sprawdź się](#)
- [Dla nauczyciela](#)



## Chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa

Atrament jest mieszaniną różnych barwników, a za pomocą chromatografii jesteśmy w stanie się dowiedzieć, jakie barwniki są w nim zawarte.

Źródło: Natrij, dostępny w internecie: [pl.wikipedia.org](http://pl.wikipedia.org), licencja: CC BY-SA 3.0.

Czy zastanawiasz się czasami, jak chemicy w laboratorium kryminalistycznym ustalają, czy dana osoba miała kontakt z substancjami zabronionymi? Jedną z takich podstawowych metod analitycznych jest chromatografia. Polega na oddziaływaniu rozdzielanej substancji między fazą stacjonarną a fazą ruchomą. Chromatografie planarne, jak cienkowarstwowa TLC oraz bibułowa, są jednymi z prostszych metod. Stosuje się je głównie w laboratoriach analitycznych, farmaceutycznych lub też preparatywnych. Dzięki chromatografii możliwe jest rozdzielenie mieszanin złożonych z wielu składników.

### Twoje cele

- Opiszysz, na czym polega chromatografia.
- Wyjaśnisz, jakim procesom podlega proces chromatografii.
- Porównasz właściwości związków poddanych chromatografii.

# Przeczytaj

## Czym jest chromatografia?

[Chromatografia](#) jest metodą rozdzielania i analizy substancji chemicznych. Polega ona na rozdzielaniu składników jednorodnej mieszaniny między fazę ruchomą a nieruchomą układu chromatograficznego w wyniku ich różnego podziału. Dzięki niej możemy analizować zarówno pojedyncze związki ([aminokwasy](#), [cukry](#)), jak i złożone mieszaniny: próbki krwi, próbki środowiskowe. Proces chromatografii opiera się na [prawie podziału Nernsta](#), które mówi nam o podziale substancji między dwie niemieszające się fazy.

W przypadku chromatografii jest to faza stacjonarna i faza ruchoma. Można przedstawić je wzorem:

$$K_{\text{sub}} = \frac{C_{\text{subS}}}{C_{\text{subR}}}$$

$K_{\text{sub}}$  – stała podziału substancji

$C_{\text{subS}}$  – stężenie substancji w fazie nieruchomej  $\left[ \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right]$

$C_{\text{subR}}$  – stężenie substancji w fazie ruchomej  $\left[ \frac{\text{mol}}{\text{dm}^3} \right]$

Substancja, która ma większe powinowactwo z fazą nieruchomą, wolniej wędruje po płytce chromatograficznej. Jej chromatografia trwa dłużej, a otrzymane plamki są rozmazane. Odwrotnie jest w przypadku substancji z większym stężeniem w fazie – jej chromatografia trwa krócej, a plamki są wyraźne i nierozmyte. Analiza chromatograficzna ma duże zastosowanie do analiz próbek środowiskowych czy biologicznych. Próbki te są złożone, przez co nie jest możliwe bezpośrednie ich analizowanie. W celu analizy próbek złożonych (środowiskowych czy biologicznych), należy wykonać [ekstrakcję](#). Ekstrakcja wykorzystuje **prawo Nernsta**. Proces ekstrakcji

polega na wyodrębnieniu interesującego nas składnika, wykorzystując jego różną rozpuszczalność między dwoma niemieszającymi się cieczami.

## Jakie wyróżniamy typy chromatografii?

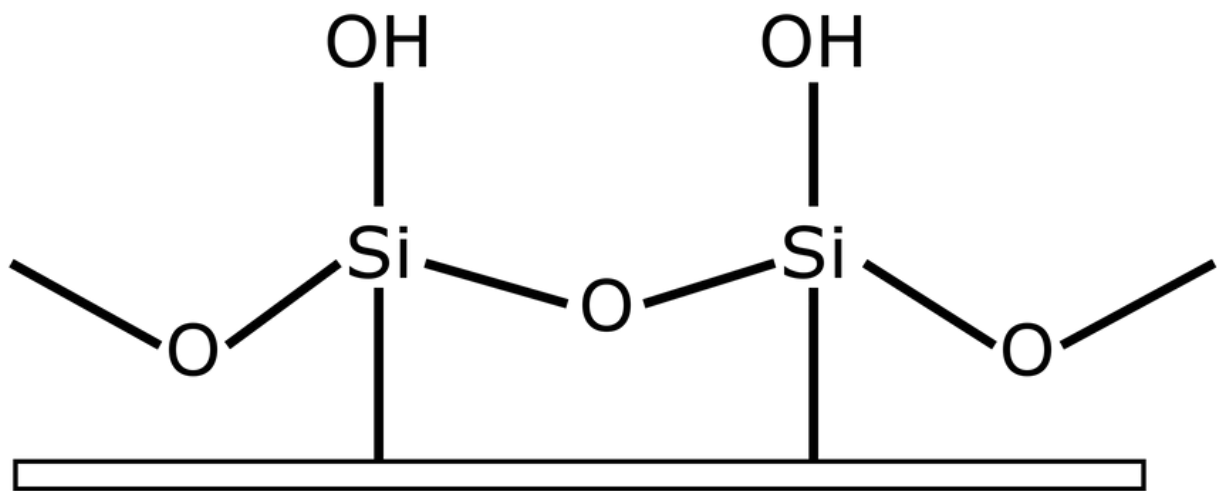
Podstawowy podział chromatografii zależy od fazy ruchomej. W chromatografii jest nią gaz, ciecz lub płyn, który przemieszcza się podczas tego procesu razem z substancjami oznaczanymi po płycie lub kolumnie chromatograficznej (fazie stacjonarnej – nieruchomej). W zależności od fazy ruchomej, wyróżniamy następujące typy chromatografii:

Chromatografię gazową (GC z ang. Gas Chromatography)
Fazą ruchomą jest gaz.
Chromatografię ciekową (LC z ang. Liquid Chromatography)
Fazą ruchomą jest ciecz.
Chromatografię nadkrytyczną (SFC z ang. Supercritical Fluid Chromatography)
Fazą ruchomą jest substancja w stanie nadkrytycznym, czyli takim, w którym dana substancja wykazuje właściwości pośrednie między gazem a cieczą.

Chromatografia cienkowarstwowa TLC (z angielskiego *thin layer chromatography*) i bibułowa są metodami **chromatografii ciekowej** lub **planarnej**, ponieważ proces rozdzielania przeprowadzony jest na płaszczyźnie.

## Chromatografia TLC

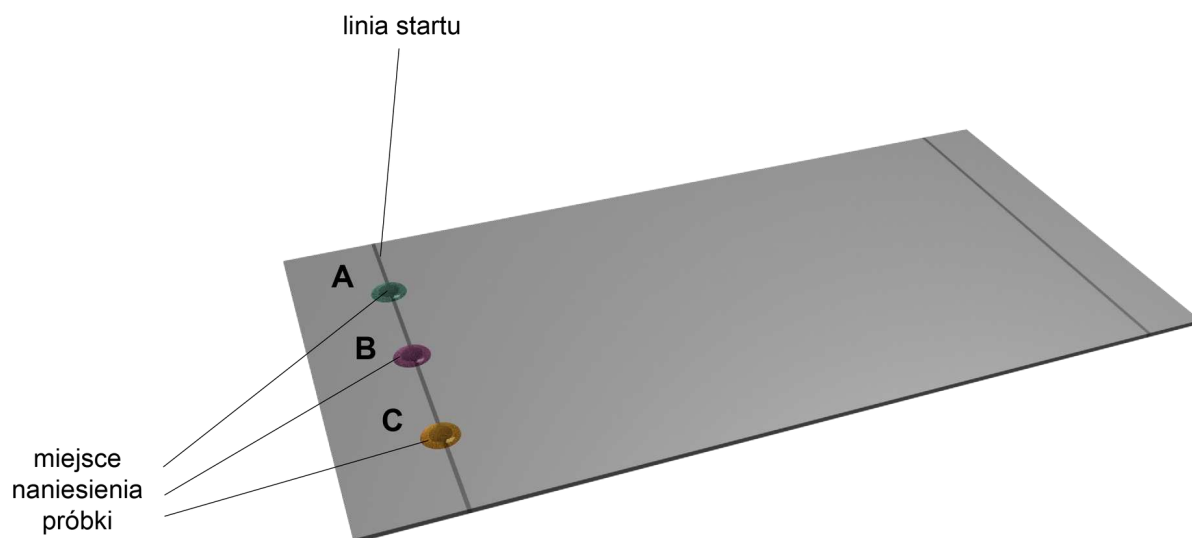
Chromatografię TLC przeprowadza się na płytkach aluminiowych pokrytych odpowiednim adsorbentem. [Adsorbent](#) jest substancją o bardzo dużej powierzchni, na której zachodzą wiązania różnych substancji. Wiązanie między fazą nieruchomą a związkami może zachodzić przez m.in. [wiązania wodorowe](#) czy [oddziaływania van der Waalsa](#). Na co dzień masz do czynienia z adsorbentem w postaci węgla aktywnego. Stosuje się go podczas zatrucia różnymi substancjami chemicznymi. W przypadku chromatografii TLC zazwyczaj używa się [silikażelu](#), inaczej nazywany żelem krzemionkowym. Spotkasz go w woreczku umieszczonym w pudełku z nowymi butami w postaci białych kryształków silikażelu. Jak myślisz, jakie ma zastosowanie? Żel krzemionkowy jest polimerem kwasu krzemowego, a jego wzór można zapisać następująco:  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ .



Schematyczne przedstawienie pokrycia płytki TLC silikażelem. Jak widzisz na rysunku, silikażel ma skierowane „na zewnątrz” płytki grupy hydroksylowej ( $\text{—OH}$ ), które mogą oddziaływać ze związkami polarnymi, takimi jak woda (dlatego właśnie saszetki z silikażelem dodaje się do butów, aby wchłonęły wilgoć, czyli cząsteczki wody z atmosfery). W zależności od potrzeb, fazę stacjonarną można modyfikować.

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Po wybraniu odpowiedniej płytki, ostrożnie, nie dotykając powierzchni silikażelu palcem, na jej dole, co najmniej 1 cm od początku płytki, rysujemy ołówkiem linię startu, a na niej zaznaczamy kropki ołówkiem z podpisem substancji. Następnie наносimy kapilarą niewielką kroplę substancji, uważając, aby krople substancji nie zmieszały się ze sobą. Tak jak jest to przedstawione na rysunku:



Płytki TLC przygotowana do chromatografii

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Po sporządzeniu płytki z substancjami przygotowujemy komorę chromatograficzną. Jest nią nic innego jak zlewka, ale z pokrywą, która ją szczelnie zamyka. Na dno wlewamy trochę fazy ruchomej – eluentu – pamiętając o tym, że wysokość eluentu nie może być większa bądź równa niż wysokość linii startu.

Eluent wybieramy, korzystając z tzw. szeregu eluotropowego. Jest to uszeregowanie rozpuszczalników wg rosnącej mocy elucji na odpowiedniej fazie stacjonarnej, w tym przypadku silikażelu:

- n-pentan (najsłabiej oddziałuje z fazą stacjonarną);
- disiarczek węgla;
- toluen (metylobenzen);
- eter dietylowy;
- chloroform;
- 1-nitropropan;
- aceton (propan-2-on);
- metanol;

- woda;
- kwas octowy (etanowy) (najmocniej oddziałuje z fazą stacjonarną).

### Ważne!

Czyli n-pentan wędruje najszybciej w górę płytki chromatograficznej, zaś kwas octowy porusza się po niej pomału. Można zaobserwować, że siła elucji rośnie wraz ze wzrostem polarności rozpuszczalnika.

Zamykamy komorę – wypełnia się ona parami eluentu. Proces ten nazywamy kondycjonowaniem komory chromatograficznej. Po upływie ok. 15 min możemy umieścić płytkę w komorze.

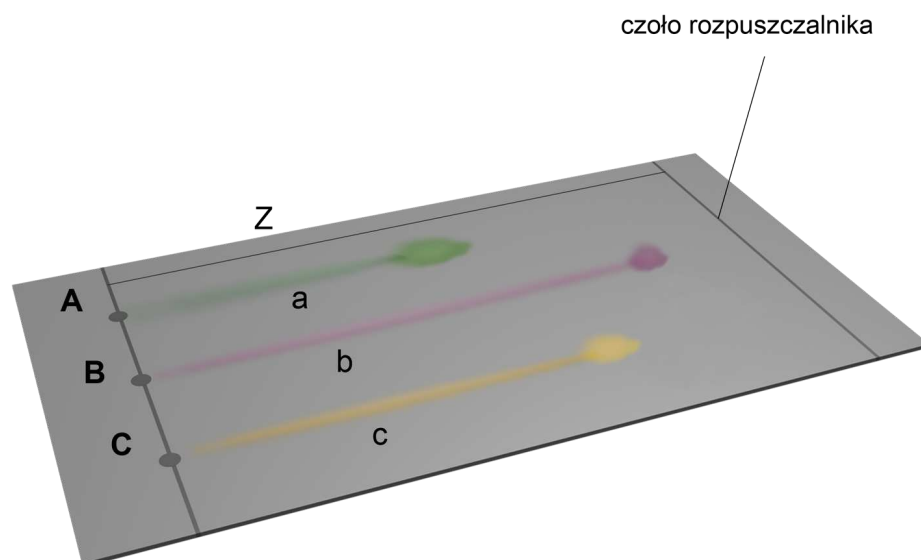


Komora, w której przeprowadzana jest chromatografia.

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Po kondycjonowaniu komory wkładamy płytkę, zamykamy naczynie przykrywką i czekamy, aż eluent dotrze na górę płytki, zostawiając około 1 cm przed górną krawędzią płytki.

Wyciągamy płytkę, zaznaczamy czoło chromatogramu ołówkiem i ją suszymy.



Płytką TLC po przeprowadzeniu chromatografii

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Po wysuszeniu płytki można czasami zauważyć, że z pojedynczej próbki naniesionej na linii startu, po rozwinięciu, widnieje kilka plamek – oznacza to nic innego, jak to, że nasza próbka była mieszaniną substancji. W zależności od ilości plamek, które pojawiły się między linią startu a linią czoła, możemy określić, ile różnych substancji jest w mieszaninie.

Ważnym parametrem chromatografii jest współczynnik retencji  $R_f$  – jest to droga, jaką przebył związek na płytce w stosunku do czoła chromatografu. Możemy przedstawić to wzorem:

$$R_f = \frac{a}{Z}$$

gdzie:

- $a$  – przebyta odległość przez związek od linii startu;
- $Z$  – przebyta odległość przez rozpuszczalnik.

**Przykład 1**

Dla związku A:

$$R_f = \frac{a}{Z}$$

Czoło rozpuszczalnika znajduje się 8 cm od linii startu, natomiast plamka związku znajduje się 4,3 cm od linii startu, więc współczynnik retencji wynosi:

$$R_f = \frac{4,3 \text{ cm}}{8,0 \text{ cm}} = 0,54 \text{ (wartość bezwymiarowa)}$$

$R_f$  przyjmuje wartości od 0 do 1. Im wartość jest mniejsza, tym związek silniej oddziałuje z fazą stacjonarną. Im  $R_f$  jest większy, tym związek słabiej oddziałuje z fazą stacjonarną. Współczynnik  $R_f$  jest stały dla danej substancji pod warunkiem, że jest chromatografowana takim samym eluentem – nawet niewielka zmiana warunków chromatografii może zmienić współczynnik retencji.

Możemy to porównać do zakupów w galerii handlowej: kierujesz się do wyjścia (podążasz z eluentem), patrzysz na boki i widzisz promocje, wchodzisz zatem do sklepu (oddziałujesz mocniej z fazą stacjonarną). Jednak im więcej sklepów odwiedzisz przed wyjściem, tym bardziej oddziałujesz z fazą stacjonarną i potrzebujesz więcej czasu, aby wydostać się z galerii.

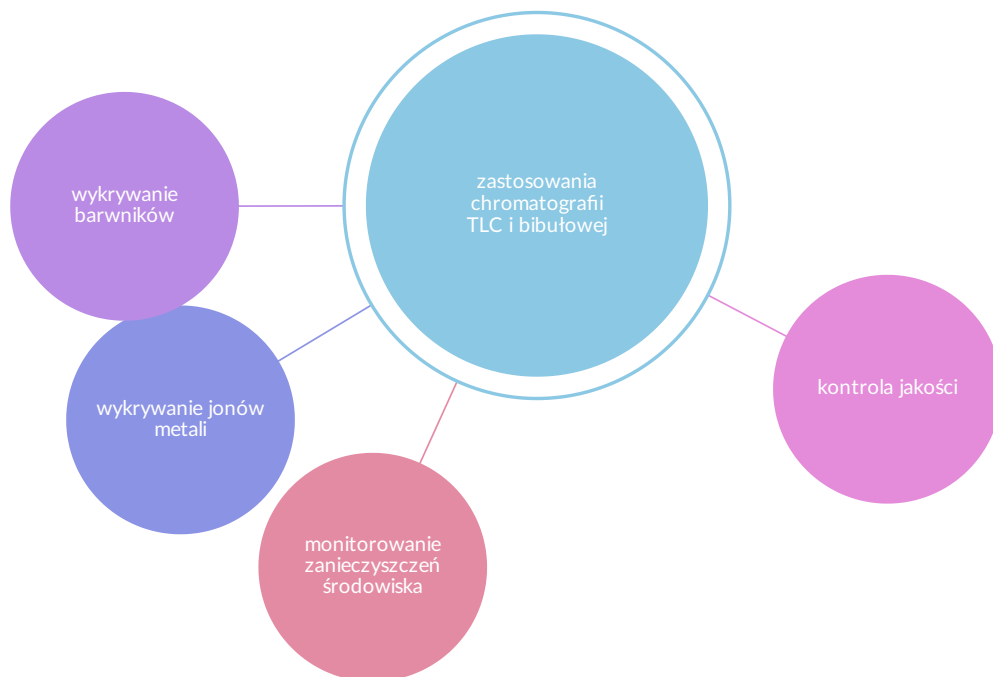
Zamiast płytki TLC możemy użyć bibuły. Zasada działania jest taka sama.

## Zastosowanie chromatografii TLC

Chromatografia TLC i bibułowa znajdują zastosowanie w:

- wykrywaniu jonów metali;
- barwników;

- kontroli jakości;
- monitorowaniu zanieczyszczeń środowiska.



Mapa myśli pt.: "Zastosowania chromatografii TLC i bibułowej"

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Podsumowując, chromatografia dostarcza chemikowi dwie bardzo ważne informacje. Pierwszą z nich jest informacja **jakościowa** – zarówno liczba plamek, jak i sygnałów na chromatogramie określa nam ilość substancji w analizowanej próbce. Drugą informacją jest informacja **ilościowa** – zarówno wielkość plamki, jak i powierzchnia sygnału umożliwia nam obliczenie masy analitu w badanej próbce.

## Słownik

**adsorbent**

substancja stała (krystaliczna lub żel), na powierzchni której zachodzi adsorpcja

**aminokwasy**

(amin(a) + kwas) związki chemiczne występujące w organizmach żywych, które w swojej budowie zawierają grupę karboksylową ( $\text{—COOH}$ ) oraz grupę aminową ( $\text{—NH}_2$ )

### **cukry**

sacharydy (fr. *saccharide*); węglowodany polihydroksylowe; aldehydy (aldozy) lub ketony (ketozy) o wzorze sumarycznym  $(\text{CH}_2\text{O})_n$ , a także ich pochodne

### **chromatografia**

(gr. *chrōma* „barwa”, *gráphō* „piszę”) metoda rozdzielania jednorodnych mieszanin na składniki, w której wykorzystuje się różnicę sił oddziaływania tych składników z fazą ruchomą i nieruchomą (stacjonarną)

### **Prawo podziału Nernsta**

w danej temperaturze opisuje równowagę stosunku stężeń substancji między dwoma niemieszającymi się fazami

### **adsorpcja**

(ang. *adsorption*) proces wiązania się indywidualów chemicznych na powierzchni substancji chemicznej, np.: osadzanie się cząsteczek zanieczyszczeń na powierzchni węgla aktywnego

### **eluent**

rozpuszczalnik, który wymywa substancje zaadsorbowane na fazie stałej

### **ekstrakcja**

(łac. *extractio* „wyciągnięcie”, „wyjęcie”) techn. chemiczna metoda wyodrębniania określonych składników z mieszanin ciekłych lub stałych za pomocą odpowiednio dobranych, selektywnych rozpuszczalników (o różnej zdolności rozpuszczania poszczególnych składników lub określonych ich grup)

## **polarność**

własność indywidualnych chemicznych do występowania w nich nierównomiernego rozmieszczenia ładunku dodatniego i ujemnego

## **silikażel**

żel krzemionkowy; wysuszony żel produktów polikondensacji anionów krzemotlenowych, będący uwodnionym ditlenkiem krzemu  $\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

## **oddziaływania van der Waalsa**

słabe dwuciałowe oddziaływania związane z kwantową naturą powłok elektronowych elektrycznie obojętnych atomów lub cząsteczek; oddziaływania związane z ruchem elektronów

## **wiązanie wodorowe**

rodzaj oddziaływania międzycząsteczkowego lub wewnątrzcząsteczkowego za pośrednictwem atomu wodoru

## **Bibliografia**

Sherma J., Fried B., *Handbook of Thin-Layer Chromatography*, Third Edition, New York 2003.

Witkiewicz Z., Kałużna-Czaplińska J., *Podstawy chromatografii i technik elektromigracyjnych*, Warszawa 2012.

# Wirtualne laboratorium – I

---

## Polecenie 1

Przeprowadź doświadczenie w laboratorium chemicznym. Twoim zadaniem jest rozdział barwników w tuszu markera. Jaki eluent wybierzesz w celu przeprowadzenia tego doświadczenia? W formularzu zapisz swoje obserwacje i wyniki, a następnie sformułuj wnioski.

## Rozdział barwników w tuszu markera.

Rozdzielenie barwników z zastosowaniem chromatografii bibułowej - aceton

Rozdzielenie barwników z zastosowaniem chromatografii bibułowej - alkohol etylowy

Rozdzielenie barwników z zastosowaniem chromatografii bibułowej - woda

Porównanie wyników chromatografii

Wirtualne laboratorium pt. „*Rozdzielanie barwników z zastosowaniem chromatografii bibułowej*”

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

## Szafa laboratoryjna

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

# Sprawdź się

---

Pokaż ćwiczenia:   

## Ćwiczenie 1



Przyporządkuj pojęcia do definicji.

eluent

rozpuszczalnik, który wymywa substancje zaadsorbowane w fazie stałej

chromatografia

metoda rozdzielenia i analizy substancji chemicznych

adsorpcja

proces wiązania się indywidualnych substancji chemicznych na powierzchni substancji chemicznej

## Ćwiczenie 2



Rozwiń skróty: GC, LC, SFE.

**Odpowiedź:**

### Ćwiczenie 3



Zweryfikuj prawdziwość zdań.

Zdanie	Prawda	Fałsz
W chromatografii cieczowej fazą ruchomą jest gaz.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
W chromatografii nadkrytycznej fazą ruchomą jest ciecz.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
W chromatografii gazowej fazą ruchomą jest gaz.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

### Ćwiczenie 4



Oblicz współczynnik retencji  $R_f$  dla związku A, wiedząc, że czoło rozpuszczalnika ma wysokość 5,3 cm, a analizowana substancja znajduje się na wysokości 1 cm.

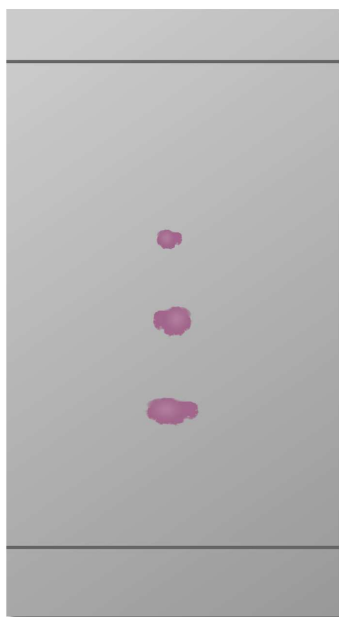
Rozwiązanie oraz odpowiedź zapisz w zeszytcie do lekcji chemii, zrób zdjęcie, a następnie umieść je w wyznaczonym polu.

Zaloguj się, aby dodać ilustrację.

## Ćwiczenie 5



Przeanalizuj poniższą płytkę chromatograficzną. Ustal, czy nieznana próbka była mieszaniną związków, czy jednym związkiem. Uzasadnij swoją odpowiedź.



Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

**Odpowiedź:**

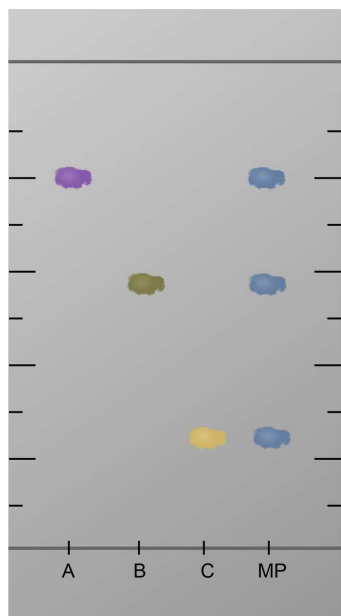
## Ćwiczenie 6



Przeprowadzono reakcję zgodnie ze schematem:



Na rysunku przedstawiono chromatogram uzyskany metodą TLC. Na płytkę naniesiono pojedyncze substancje: A, B i C oraz mieszaninę poreakcyjną (MP).



Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Czy w mieszaninie poreakcyjnej (MP) obserwowany jest produkt? Czy reakcja zaszła z całkowitym przereagowaniem związków A i B?

**Odpowiedź:**

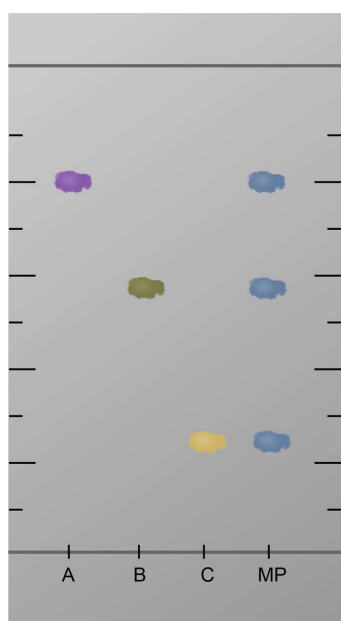
## Ćwiczenie 7



Przeprowadzono reakcję zgodnie ze schematem:



Na rysunku przedstawiono chromatogram uzyskany metodą TLC. Na płytkę naniesiono pojedyncze substancje: A, B i C oraz mieszaninę poreakcyjną (MP).



Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

W której substancji – A, B czy C – występują najbardziej spolaryzowane wiązania?

C

A

B

## Ćwiczenie 8



Uzereguj rozpuszczalniki zgodnie z wzrastającą mocą elucji w fazie stacjonarnej, którą jest silikażel.

eter dietylowy



kwasy octowy



*n*-pentan



metanol



1-nitropropan



# Dla nauczyciela

---

## Scenariusz zajęć

**Autor:** Krzysztof Błaszczak, Robert Wróbel

**Przedmiot:** chemia

**Temat:** Chromatografia bibułowa i cienkowarstwowa

**Grupa docelowa:** uczniowie III etapu edukacyjnego, liceum, technikum, zakres podstawowy i rozszerzony; uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie podstawowym i rozszerzonym

### Podstawa programowa:

Zakres podstawowy

V. Roztwory. Uczeń:

4) opisuje sposoby rozdzielania roztworów właściwych (ciał stałych w cieczach, cieczy w cieczach) na składniki (m.in. ekstrakcja, chromatografia).

Zakres rozszerzony

V. Roztwory. Uczeń:

4) opisuje sposoby rozdzielania roztworów właściwych (ciał stałych w cieczach, cieczy w cieczach) na składniki (m.in. ekstrakcja, chromatografia, elektroforeza).

### Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje w zakresie rozumienia i tworzenia informacji;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii;
- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się.

### **Cele operacyjne:**

#### **Uczeń:**

- opisuje na czym polega chromatografia;
- wyjaśnia, jakim procesom podlega proces chromatografii;
- porównuje właściwości związków poddanych chromatografii.

#### **Strategie nauczania:**

- asocjacyjna;
- problemowa.

#### **Metody i techniki nauczania:**

- burza mózgów;
- dyskusja dydaktyczna;
- eksperyment;
- wirtualne laboratorium;
- analiza tekstu źródłowego;
- ćwiczenia laboratoryjne;
- technika zdań podsumowujących.

#### **Formy pracy:**

- praca indywidualna;
- praca w parach;
- praca w grupach;
- praca zbiorowa.

### **Środki dydaktyczne:**

- komputery z głośnikami, słuchawkami i dostępem do Internetu;
- tablety/smartfony z dostępem do internetu;;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica;
- rzutnik multimedialny.

### **Przed lekcją:**

Nauczyciel prosi uczniów aby przynieśli na zajęcia liście różnych roślin, np. rukoli, sałaty, roszponki.

### **Przebieg zajęć**

#### **Faza wstępna:**

1. Zaciekawienie i dyskusja. Nauczyciel zadaje pytanie o metody rozdziału mieszanin jednorodnych.
2. Rozpoznawanie wiedzy wyjściowej uczniów. Burza mózgów wokół terminu chromatografia. Nauczyciel może wykorzystać aplikację Mentimeter z wykorzystaniem tabletów/smartfonów.
3. Ustalenie celów lekcji. Nauczyciel podaje temat zajęć i wspólnie z uczniami ustala cele lekcji, które uczniowie zapisują w portfolio.
4. Zasady BHP. Nauczyciel zapoznaje uczniów z kartami charakterystyk substancji, jakie zostaną użyte w czasie lekcji.

## **Faza realizacyjna:**

1. Analiza tekstu źródłowego w e-materiale – procedura chromatografii, obliczanie współczynnika retencji.
2. Nauczyciel dzieli uczniów na grupy, rozdaje karty pracy, rozdaje sprzęt, szkło laboratoryjne, odczynniki i instrukcję do eksperymentu. Uczniowie stawiają pytanie badawcze i hipotezę, przeprowadzają eksperyment wg instrukcji, obserwują zmiany, wyciągają wnioski i dokonują obliczeń związanych ze współczynnikiem retencji barwników, zapisują wszystko w kartach pracy. Nauczyciel monitoruje przebieg pracy uczniów, wyjaśnia ewentualnie niezrozumiałe kwestie i wątpliwości.
3. Po przeprowadzeniu chromatografii i wykonaniu obliczeń chętni uczniowie prezentują efekty pracy grupowej na forum klasy. Nauczyciel kontroluje pod względem merytorycznym wypowiedzi uczniów.
4. Nauczyciel odsyła uczniów do wirtualnego laboratorium w medium bazowym e-materiału. Uczniowie w parach pracują i wykonują ćwiczenia. Nauczyciel monitoruje pracę uczniów i ewentualnie wyjaśnia niezrozumiałe kwestie.

## **Faza podsumowująca:**

1. Nauczyciel sprawdza wiedzę uczniów zadając przykładowe pytania: co to jest chromatografia? Czy polarność cząsteczek ma wpływ na współczynnik retencji? Co to jest współczynnik retencji?
2. Jako podsumowanie lekcji nauczyciel może wykorzystać zdania do uzupełnienia, które uczniowie również zamieszczają w swoim portfolio:
  - Przypomniałem/łam sobie, że...
  - Co było dla mnie łatwe...
  - Czego się nauczyłem/łam...
  - Co sprawiało mi trudność...

## **Praca domowa:**

Uczniowie sprawdzają swoją wiedzę wykonując ćwiczenia w e-materiale - zestaw ćwiczeń. Nauczyciel prosi uczniów, aby opisali jakie związki występują w chlorofilu.

### **Wskazówki metodyczne opisujące różne zastosowania multimedium:**

Wirtualne laboratorium może być wykorzystane do przedstawienie procedury chromatografii. Uczniowie mogą wykorzystać przygotowując się do lekcji lub do sprawdzianu.

### **Materiały pomocnicze:**

1. Polecenia podsumowujące (nauczyciel przed lekcją zapisuje je na niewielkich kartkach):

- Co to jest chromatografia?
- Czy polarność cząsteczek ma wpływ na współczynnik retencji?
- Co to jest współczynnik retencji?

2. Karta pracy ucznia.

Plik o rozmiarze 82.20 KB w języku polskim

3. Szkło i sprzęt laboratoryjny: probówki lub cylindry miarowe, sączi z bibuły, płytki do chromatografii cienkowarstwowej TLC, końcówki kapilarne do nakładania roztworu barwników na płytkę, pipetki Pasteura, zlewki, komory chromatograficzne. 4. Odczynniki chemiczne: etanol 95% do izolacji barwników, aceton, benzyna ekstrakcyjna. 5. Instrukcja do doświadczenia:

- Umieść 2 g liści w zlewce, dodaj 15 cm<sup>3</sup> etanolu i mieszaj intensywnie zawartość zlewki przez około 10 min.
- Otrzymaną mieszaninę przesącz przez sączek.
- Przesącz nałóż na płytkę TLC za pomocą kapilary na linię startu, która musi znaleźć się 1 cm nad dolną krawędzią płytki.

- Wysusz płytkę.
- Przygotuj mieszaninę  $30\text{ cm}^3$  benzyny i  $3\text{ cm}^3$  acetonu, wlej ją do komory chromatograficznej, pamiętaj aby poziom cieczy w komorze był niższy niż 1 cm (pod linią startu).
- Włóż pionowo płytkę TLC do komory, zakryj komorę chromatograficzną.
- Prowadź chromatografię do momentu, gdy czoło rozpuszczalnika znajdzie się 1 cm pod górną krawędzią płytki.
- Wyjmij płytkę i wysusz.
- Oblicz współczynniki retencji dla barwników.