

## IDENTYFIKACJA POMADEK Z WYKORZYSTANIEM CHROMATOGRAFII CIENKOWARSTWOWEJ

Barwne pomadki do ust są jednymi z najczęściej używanych kosmetyków kolorowych. Kolor pomadkom nadają barwniki naturalne i syntetyczne (ok. 8%) zmieszane w różnych proporcjach. Skład szminek wpływa na to, że łatwo przenoszą się z ust na różne powierzchnie zostawiając barwne ślady (odciski ust, smugi) np. na kubkach, kieliszkach, serwetkach, niedopałkach papierosów czy materiale ubrań. Ślady takie mogą być cennymi dowodami kryminalistycznymi zabezpieczonymi w trakcie śledztwa łączącymi podejrzanego z ofiarą lub miejscem zbrodni. Istnieje zatem potrzeba rozróżniania i identyfikacji próbek przy jednoczesnym minimalnym ich uszkodzeniu. Technika spełniająca te wymagania jest chromatografia cienkowarstwowa. Uzyskane w wyniku rozwijania w określonych warunkach plamki pochodzące od składników mieszaniny są podstawą do ich identyfikacji (wartość współczynnika  $R_f$ ). Porównanie układów plamek uzyskanych dla różnych próbek, daje możliwość ich rozróżnienia oraz identyfikacji.

Cel ćwiczenia: Celem ćwiczenia jest identyfikacja pomadki za pomocą techniki chromatografii cienkowarstwowej.

### Odczynniki:

- metanol; izopropanol; amoniak; chloroform; aceton;
- analizowana próbka naniesiona na obiekt badań np. na szklanę, kieliszek, kubek (przygotowywane przez prowadzącego zajęcia);
- próbki wzorcowe naniesione na kawałki ligniny (przygotowywane przez prowadzącego zajęcia).

### Aparatura i sprzęt laboratoryjny:

- płytki chromatograficzne TLC o wymiarach (4 x 7) cm – 2 szt.;
- eppendorfki o pojemności 1,5 ml – 4 szt.;
- zlewka o pojemności 20 ml – 2 szt.;
- pęseta – 1szt.;
- pionowa komora chromatograficzna – 2 szt.;
- pipeta jednomiarowa o pojemności 1 ml - 2 szt.;
- pipeta jednomiarowa o pojemności 5 ml - 3 szt.;
- pipeta jednomiarowa o pojemności 10 ml – 1 szt.;
- pipeta automatyczna o zmiennej pojemności (0,2-2)  $\mu$ l – 1 szt.;
- końcówki do pipety – 8 szt.;
- ołówek, linijka, pisak do pisania na szkłe;
- lignina.

### Przed wykonywaniem doświadczenia należy:

- zapoznać się z instrukcją wykonania ćwiczenia oraz zawartymi w niej spisem zagrożeń związanych z wykonywanym ćwiczeniem, zapobieganiu im oraz zasadami pierwszej pomocy w trakcie ich wystąpienia;
- założyć fartuch laboratoryjny oraz rękawiczki i okulary ochronne;
- sprawdzić czy zestaw wykorzystywanych w ćwiczeniu naczyń jest kompletny i czy nie są one uszkodzone;
- sprawdzić czy rozpuszczalniki stosowane w ćwiczeniu są dostępne na stanowisku pracy lub pod wyciągiem, jeśli taki jest wymóg;

**Próbkę do analizy oraz odpowiednie wzorce należy pobrać od prowadzącego zajęcia.**

### W trakcie wykonywania ćwiczenia należy:

- wszystkie czynności z użyciem odczynników chemicznych wykonywać pod wyciągiem przy włączonym wentylatorze;
- dbać o czystość stanowiska pracy;
- po pobraniu odpowiedniej ilości rozpuszczalników niezwłocznie zamykać butelki korkiem.

### Przygotowanie próbek:

- próbkę naniesioną na badany obiekt dokładnie zetrzeć niewielkim kawałkiem ligniny nasączonym acetonem;
- badaną próbkę oraz otrzymane wzorce umieścić w oznakowanych probówkach Eppendorfa o pojemności 1,5 ml;
- do eppendorfek dodać 300  $\mu$ l chloroformu wykorzystywanego jako rozpuszczalnik;
- tak przygotowane próbki wytrząsać energicznie;
- każdą probówkę podpisać symbolem odpowiadającym jej zawartości np. P dla próbki, W1 dla wzorca 1 itp.

### Przygotowanie fazy ruchomej (pod wyciągiem!):

- w zlewce przygotować mieszaninę amoniaku i wody destylowanej w stosunku 3 : 7 (v/v);
- do jednej komory chromatograficznej odmierzyć octan etylu, metanol oraz mieszaninę amoniaku z wodą (3 : 7, v/v) w stosunku objętościowym 5 : 1 : 1. Komorę przykryć i roztwór dobrze wymieszać.
- do drugiej komory chromatograficznej odmierzyć izopropanol oraz mieszaninę amoniaku z wodą (3 : 7, v/v) w stosunku objętościowym 4 : 1 Komorę przykryć i roztwór dobrze wymieszać.

### Przygotowanie płytki chromatograficznej:

- w odległości 0,5 cm od brzegu płytki delikatnie ołówkiem zaznaczyć linię startu;
- w odległości 6 cm od linii startu zaznaczyć linię końca (droga migracji eluentu 6 cm);
- na linii startu w równych odległościach od siebie zaznaczyć delikatnie cztery punkty, na które naniesione będą przygotowane wcześniej roztwory;
- nad linią końca zaznaczyć ołówkiem symbole roztworów (odpowiadające tym na eppendorfkach), które będą nanoszone na kolejne punkty.

### Nanoszenie roztworów na płytkę i rozwinięcie chromatogramów:

- za pomocą pipety automatycznej nanieść na punkty zaznaczone na płytce chromatograficznej po 1  $\mu$ l roztworów badanej próbki oraz wzorców;
- tak przygotowaną płytkę umieścić ostrożnie w komorze chromatograficznej.
- po osiągnięciu przez czoło rozpuszczalnika linii mety wyciągnąć płytkę za pomocą pęsety i pozostawić ją pod wyciągiem do wyschnięcia.

### Po wykonaniu ćwiczenia należy:

- roztwory wykorzystywane w ćwiczeniu wylać do przygotowanego w tym celu pojemnika do przechowywania odpadów organicznych;
- zużyte probówki Eppendorfa oraz końcówki do pipety wyrzucić do przygotowanego w tym celu pojemnika;
- uporządkować miejsce pracy i dokładnie umyć ręce.

### Opracowanie wyników:

- zapisać obserwacje dotyczące rozdzielania barwników analizowanych pomadek;
- wyznaczyć wartości współczynników opóźnienia  $R_f$  dla plamek otrzymanych dla próbki i wzorców;

$$R_f = \frac{A}{B}$$

gdzie:

A- droga migracji przebytej przez substancję, mierzona od punktu startu do środka plamki;

B- droga przebyta przez fazę ruchomą, mierzona od linii startu do czoła fazy ruchomej – 6 cm.

- porównać chromatogramy otrzymane w obu eluentach i na podstawie poczynionych obserwacji oraz obliczonych wartości  $R_f$  wyciągnąć wnioski odnośnie pomadki będącej badaną próbką.

## ZASADY BEZPIECZNEJ PRACY Z ODCZYNNIKAMI

### **1. Identyfikacja zagrożeń**

#### Metanol

- Działa toksycznie po połknięciu.
- Działa toksycznie w kontakcie ze skórą.
- Działa toksycznie w następstwie wdychania.
- Powoduje uszkodzenie narządów (oczy).

#### Aceton

- Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
- Powtarzające się narażenie może powodować wysuszenie lub pękanie skóry.

#### Octan etylu

- Powoduje poważne oparzenia skóry lub uszkodzenia oczu.
- Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
- Powtarzające się narażenie może powodować wysuszenie lub pękanie skóry.

#### Amoniak

- Działa drażniąco na oczy.
- Może powodować podrażnienie dróg oddechowych.

#### Izopropanol

- Działa drażniąco na oczy.
- Wdychanie może powodować depresję centralnego systemu nerwowego.
- Może wywoływać uczucie senności lub zawroty głowy.
- Działa drażniąco po połknięciu.

#### Chloroform

- Działa toksycznie w następstwie wdychania.
- Działa szkodliwie po połknięciu.
- Działa drażniąco na skórę.
- Działa drażniąco na oczy.
- Podejrzewa się, że powoduje raka.
- Podejrzewa się, że działa szkodliwie na płód.

## **2. Środki ostrożności**

- Pracować przy włączonym wyciągu.
- Stosować rękawice ochronne, odzież ochronną, ochronę oczu.
- Unikać wdychania par.
- Nie należy ogrzewać azydku sodu, ani roztworów go zawierających, gdyż w wyniku ogrzewania istnieje ryzyko wybuchu i/lub tworzenia toksycznych gazów.

## **3. Środki pierwszej pomocy**

- W przypadku wdychania – jeżeli osoba poszkodowana oddycha, przenieść na świeże powietrze. Jeżeli osoba poszkodowana nie oddycha, zastosować sztuczne oddychanie. Zasięgnąć porady medycznej.
- W przypadku kontaktu ze skórą – zanieczyszczoną skórę natychmiast przemyć dużą ilością wody.
- W przypadku kontaktu z oczami – natychmiast przepłukać oczy dużą ilością wody, od czasu do czasu podnosząc górną i dolną powiekę. Jeżeli są usunąć szkła kontaktowe. Zasięgnąć porady lekarskiej, jeśli pojawi się podrażnienie.
- W przypadku połknięcia – NIE prowokować wymiotów. Jeżeli materiał został połknięty, a narażona osoba jest przytomna, należy podać do wypicia małą ilość wody. Przerwać, jeżeli narażona osoba ma mdłości, ponieważ wymioty mogą być niebezpieczne. Wezwać pomoc medyczną.