

cromatografică, aceasta din urmă se lasă cel puțin **30 minute** închisă etanș pentru **saturarea** atmosferei cu vapori ai solvenților din FM [36].

2.Pepararea soluțiilor de probă (conținând toxicii) și **standard** (conținând substanțele etalon) de concentrație aproximativ egală cu cea a probei [36].

3.Aplicarea soluțiilor de analizat și soluțiilor etalon cu o **micropipetă** sau **seringă Hamilton** pe **linia de start** a plăcii (trasată la aproximativ **2 cm** față de marginea inferioară) [36].

4.Uscarea cromatoplăcii [36].

5.Developarea prin imersarea cromatoplăcii în camera cromatografică, care conține solventul sau amestecul de solvenți folosit ca developant (FM). Nivelul acestuia trebuie să fie sub cel al liniei de start a cromatoplăcii. Developantul (FM) urcă prin capilaritate spre partea superioară a plăcii, linia la care ajunge solventul fiind denumită linia de front (la aprox $\frac{3}{4}$ de la marginea inferioară a plăcii) [36].

6.Uscarea cromatoplăcii (cromatogramei) [36].

7.Vizualizarea spoturilor (probă, etalon, impuritate, etc) urmată de **identificare toxicilor** (comparând valorile R_f ale spoturilor analiților din probă cu cele ale celor din soluția etalon) și/sau **dozare** după caz [36].

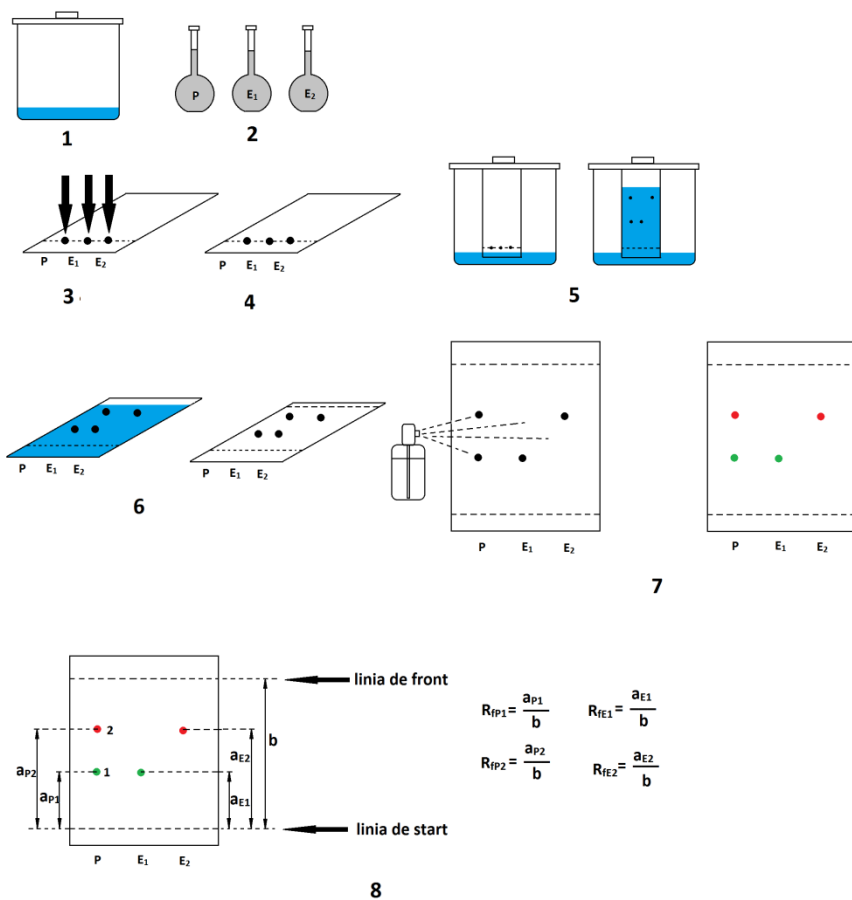


Fig. 7. Etapele de lucru ale CSS, conform etapelor descrise mai sus.

Detecția spoturilor în CSS se poate realiza prin metode vizuale, sau metode instrumentale [37].

Se realizează prin **vizualizare directă**, pentru spoturile deja colorate [6].

Pentru spoturile incolore, pentru detecție se utilizează următoarele tipuri de metode de detecție vizuală [6, 36]:

Metode chimice

Se bazează pe reacțiile chimice care au loc între toxicii separați pe placă și reactivii cu care se realizează revelarea, cu formarea unor compuși colorați la nivelul spotului.

Există mai multe tipuri de reactivi de revelare:

- generali (permanganat de potasiu, dicromat de potasiu, azotat de argint, etc)-permanganatul de potasiu și dicromatul de potasiu se utilizează pentru analiții reducători care, în urma oxidării formează compuși colorați.

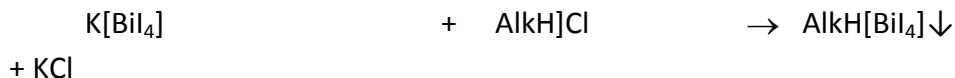
- specifici – (pentru anumite clase de substanțe organice):

Dragendorff – pentru alcaloizi – se formează o colorație portocalie;

Ninhidrina – pentru aminoacizi – se formează o colorație violet;

2,4-dinitrofenilhidrazina – pentru aldehide și cetone – se formează un aduct colorat în galben.

-Reacția generală a reactivului Dragendorff cu alcaloizii este:



Reactiv Dragendorff portocaliu	alcaloid sare	precipitat roșu-
-----------------------------------	---------------	------------------

(clorhidrat)

-Reacția generală a 2,4-dinitrofenilhidrazinei cu compuși carbonilici este prezentată în fig. 8.

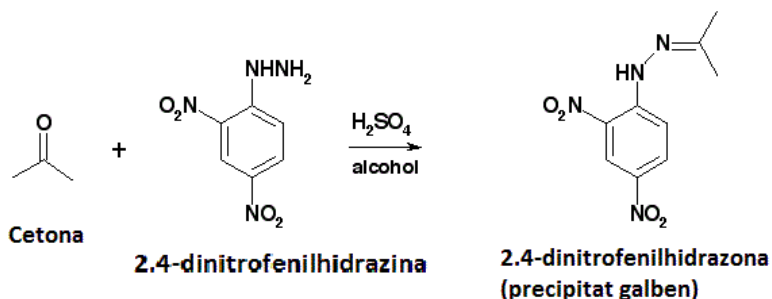


Fig. 8. Reacția generală a 2,4-dinitrofenilhidrazinei cu compuși carbonilici

-Reacția generală a ninhidrinei cu aminoacizii este prezentată în fig. 9.

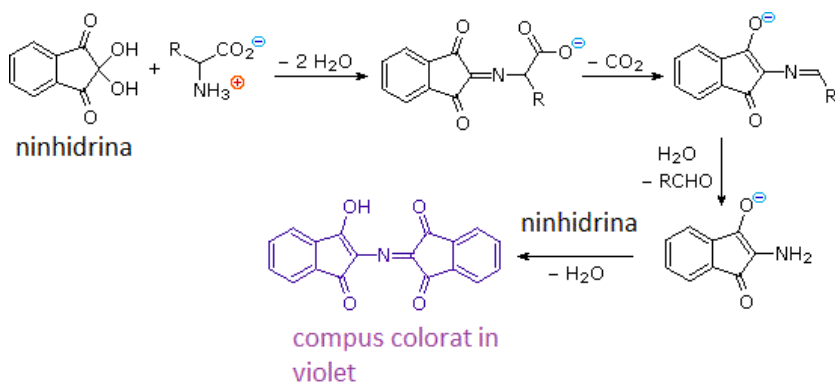


Fig. 9. Reacția generală a ninhidrinei cu aminoacizii

Metode fizice [6, 36]

Se pot aplica doar pentru unii toxici.

Fluorescența este proprietatea unei substanțe de a emite radiații din domeniul vizibil atunci când este iradiată cu radiații din domeniul UV.

Vizualizarea se realizează prin iradierea probei cu radiații din domeniul UV la:

- lungimea de undă 254 nm (fig. 10), dacă hârtia sau faza staționară sunt pretratate cu indicatori fluorescenți, spoturile apar sub forma unor pete întunecate pe fond fluorescent. Practic, analitul se leagă de indicatorul de fluorescență și îi *stinge* fluorescența.

- lungimea de undă 366 nm (fig. 11), dacă hârtia sau faza staționară nu sunt pretratate cu indicatori de fluorescență, spoturile apar fluorescente pe fond întunecat. Această metodă se aplică pentru analiții fluorescenți sau care pot deveni fluorescenți în urma unei reacții chimice.

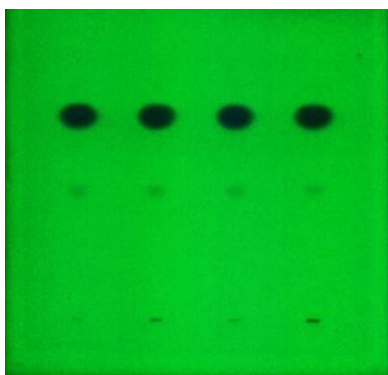


Fig. 10. Detecția la 254 nm

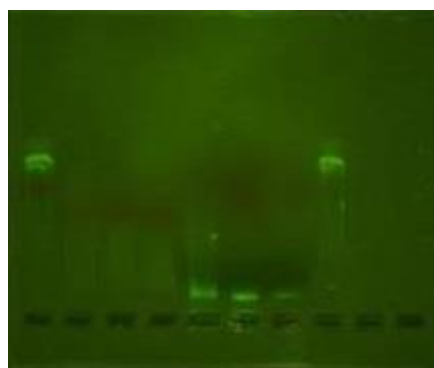


Fig. 11. Detecția la 366 nm

(<http://www.chemeuropa.com/>)