

Analisi mediante cromatografia su strato sottile (TLC) delle sostanze solubili in diclorometano

A cura della Dott.ssa Cira Acunzo – 28 Agosto 2026

La cromatografia su strato sottile o TLC (Thin Layer Chromatography), è una tecnica cromatografica di semplice preparazione e rapida esecuzione che la rende particolarmente adatta per l'esecuzione di valutazioni qualitative o semi-quantitative o per seguire una reazione chimica durante il suo svolgersi.

Come altri tipi di tecniche cromatografiche, si basa sulla diversa ripartizione di sostanze differenti tra una fase stazionaria ed una fase mobile, in funzione dell'affinità di ogni sostanza con esse.

La fase stazionaria è generalmente uno strato di materiale adsorbente, depositato su una lastra di vetro, alluminio o plastica e il materiale adsorbente può essere gel di silice, allumina, cellulosa in polvere o Kieselguhr, a seconda dell'applicazione richiesta.

La fase mobile è un solvente scelto (o una miscela di solventi) secondo una serie eluotropa, capace di separare i componenti della miscela da analizzare e poco affine per polarità alla fase stazionaria scelta, in questo caso è stata scelta una miscela Esano/Etere dietilico/Acido Acetico in rapporto 70:30:1.

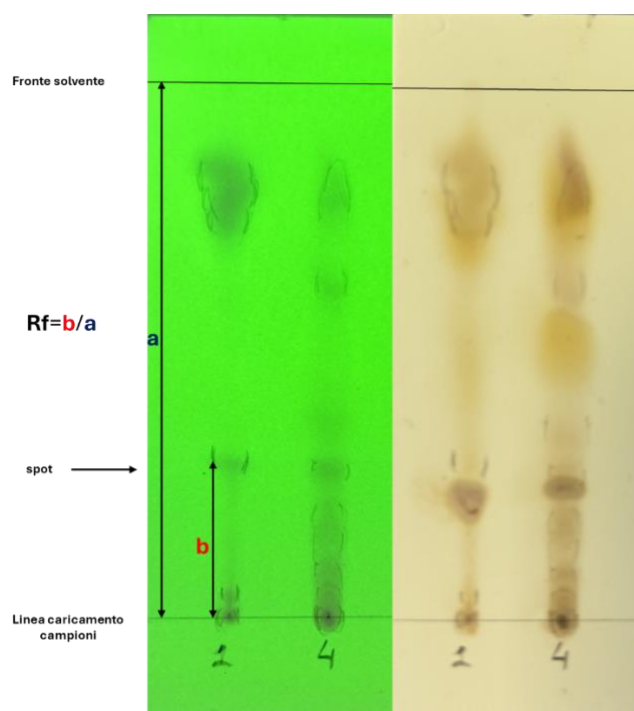
Il comportamento cromatografico dei composti viene espresso mediante il valore di R_f (Retention factor), definito come il rapporto tra la distanza percorsa dal composto (in figura “b”) e la distanza percorsa dal fronte del solvente (in figura “a”). Valori elevati di R_f indicano generalmente sostanze meno polari e maggiormente trascinate dalla fase mobile, mentre valori bassi di R_f sono associati a composti più polari, caratterizzati da una maggiore interazione con la fase stazionaria silicea. Dopo eluizione, ad eccezione di composti colorati, le bande non sono visibili ad occhio nudo e pertanto si utilizza un mezzo esterno per rivelarle.

Allo scopo di approfondire la composizione degli estratti di due campioni di pelle, ottenuti dalla determinazione delle sostanze solubili in diclorometano secondo la metodica UNI EN ISO 4048, i campioni sono stati analizzati su una lastra TLC di gel di silice. Gli estratti analizzati sono relativi a campioni di pelle in crust ottenuti da pelli diversamente conciate e ingrassate, lavorate dalla stessa azienda e per le medesime destinazioni d'uso.

Le lastre sono state prima esaminate alla lampada UV a 254 nm, delimitando con l'ausilio di una matita le macchie osservate, e poi successivamente, sono state sottoposte a trattamento con una soluzione etanolo/ H_2SO_4 al 10%, seguita da riscaldamento a 100-110 °C per alcuni minuti. Tale analisi è stata eseguita su due estratti in diclorometano sia di un crust da wet blue e di un crust da wet white.

La rivelazione UV a 254 nm consente l'evidenziazione dei composti UV-attivi; le lastre TLC sono impregnate con un indicatore fluorescente che, a tale lunghezza d'onda, emette una fluorescenza verde e nelle zone in cui sono presenti composti in grado di assorbire la radiazione UV si osservano pertanto bande scure su fondo fluorescente.

Il trattamento con la soluzione di H_2SO_4 consente invece la visualizzazione delle sostanze organiche come ad esempio le sostanze lipidiche, mediante carbonizzazione, con formazione di bande marrone scuro o nere.



In figura: campione 1 e campione 4 alla lampada UV a 254 nm e con rivelazione ad H₂SO₄

Le lastre evidenziano differenze significative nella composizione delle frazioni lipofile estraibili.

Il campione 1 è un crust ottenuto a partire da una pelle wet blue, presenta un numero relativamente limitato di bande ed è caratterizzato prevalentemente da una frazione ad elevato Rf, attribuibile a componenti a bassa polarità, potenzialmente riconducibili a sostanze lipidiche.

Questo comportamento suggerisce la prevalenza quindi di composti a polarità medio-bassa ed una limitata presenza di composti trattenuti dalla silice, indice di una composizione relativamente meno ricca in specie altamente polari; la banda osservata in prossimità della linea di deposizione del campione può essere attribuita a componenti più polari o comunque a sostanze con maggiore affinità per la fase stazionaria. Dopo trattamento con H₂SO₄, il campione evidenzia ulteriori bande al di fuori di quelle osservate alla lampada UV, tra cui una particolarmente intensa con Rf medio e ad altre bande meno intense a Rf medio alto.

Il campione 4 è invece un campione in crust ottenuto a partire da una pelle da wet white e presenta invece un profilo TLC più complesso, con numerose bande distribuite lungo l'intero sviluppo cromatografico. In particolare, si osservano componenti a basso e medio Rf, indicative della presenza di specie più polari con maggiore interazione con la fase stazionaria silicea.

La rivelazione alla lampada UV a 254 nm evidenzia nel campione wet white una maggiore presenza di composti UV-attivi; dopo trattamento con soluzione H₂SO₄, mostra inoltre un profilo cromatografico ancora più intenso e distribuito, confermando la presenza di una miscela organica sicuramente più complessa comprendente differenti classi di composti organici caratterizzati da polarità e proprietà cromoforiche differenti.

Nel complesso, i risultati TLC ottenuti suggeriscono che la diversa tipologia di lavorazione possa influenzare la composizione, la polarità e il comportamento cromatografico delle sostanze organiche estraibili.

Un ulteriore approfondimento potrebbe prevedere l'impiego di TLC preparativa finalizzata all'isolamento delle principali bande cromatografiche, consentendo successivamente la caratterizzazione delle singole componenti mediante tecniche spettroscopiche e cromatografiche avanzate.

Cozzi R., Protti P., Ruaro T., Elementi di chimica analitica strumentale – Zanichelli

ISO 4048:2018, Leather — Chemical tests — Determination of matter soluble in dichloromethane and free fatty acid content, International Organization for Standardization