

1. IZOLACIJA I ČIŠĆENJE ORGANSKIH

Nakon kemijske reakcije redovito se dobije smjesa koja osim željenog spoja (produkta) sadrži i nusprodukte, neizreagirane reaktante, razgradne produkte i druge nečistoće koje treba ukloniti. Prirodni materijali su također smjese iz kojih je potrebno izolirati pojedine supstancije. Tako je jedna od važnih zadaća kemičara dobivanje čistih spojeva iz heterogenih ili homogenih smjesa. Uz klasične postupke – prekristalizaciju, filtriranje, razne vrste destilacija i ekstrakciju – koristi se i cijeli niz *kromatografskih postupaka*.

1.1. KROMATOGRAFIJA

Kromatografskim metodama moguće je razdvojiti dva ili više sličnih sastojaka smjese što je drugim postupcima prilično teško postići. Pod kromatografijom podrazumijevamo metode odvajanja koje se temelje na različitoj raspodjeli komponenti uzoraka između dvije faze, koje se gibaju jedna u usporedbi s drugom. Nepokretna (stacionarna) faza može biti krutina ili tekućina, a pokretna (mobilna) tekućina ili plin. Komponente uzorka moraju biti topljive u pokretnoj fazi, ali isto tako moraju na neki način djelovati s nepokretnom fazom: otapati se, adsorbirati ili kemijski reagirati. Posljedica toga je da se komponente različito raspodjeljuju između dvije faze što je temelj za njihovo kromatografsko odvajanje.

Kromatografske metode možemo podijeliti prema mehanizmu odvajanja komponenti:

- a) *razdjelna (particijska) kromatografija* – raspodjela poradi otapanja komponenti smjese u tekućoj nepokretnoj fazi
- b) *adsorpcijska kromatografija* – raspodjela poradi vezanja komponenti smjese na čvrstoj površini (adsorbensu)
- c) *ionoizmjenjivačka kromatografija* – vezanje iona (kationa, aniona) na nepokretnu fazu ionskom zamjenom
- d) *gel kromatografija* – razdvajanje prema veličini molekula

1.1.1. Plinska kromatografija

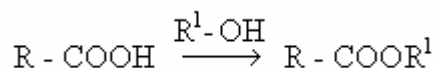
Plinska kromatografija koristi se za odvajanje, kvantitativnu analizu i izolaciju komponenata smjese, za utvrđivanje čistoće tvari te pomoć pri identifikaciji. Temelji se na odvajanju komponenti smjese uslijed razlike u adsorpciji ili particiji na nepokretnoj fazi uz plin kao pokretnu fazu. S obzirom na nepokretnu fazu ovu metodu dijelimo na *plinsko-adsorpcijsku* (engl. *Gas-Solid Chromatography*, GSC) i *plinsko-razdjelnu* kromatografiju (engl. *Gas-Liquide Chromatography*, GLC). Kod plinsko-adsorpcijske kromatografije stacionarna faza je adsorbens (silikagel, aluminijev oksid, diatomejske zemlje), koje na sebe specifično veže komponente smjese. Nepokretna faza kod plinsko-razdjelne kromatografije je tekućina nanešen na kruti nosač (silikonska ulja, tekući ugljikovodici velike molekulske mase, esteri i alkoholi visokog vrelišta). Zbog razlike u topljivosti komponente smjese u stacionarnoj fazi, dolazi do njihova odvajanja. Plinskom kromatografijom može se postići kvalitativna i kvantitativna analiza smjese uz bolje razlučivanje i u kraćem vremenu nego većinom danas uvedenih analitičkih postupaka.

Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila

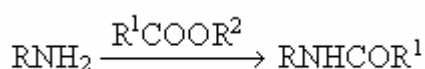
Pokretna faza – plin nosilac – niske je viskoznosti pa se mogu rabiti mnogo dulje, a time i djelotvornije kolone. Detekcija malih količina plinova i para mnogo je jednostavnija i točnija od određivanja malih količina supstancija u tekućem stanju. Međutim, ova metoda je pogodna samo za analizu hlapljivih ($M_r < 500$), ne suviše polarnih (dugo se zadržavaju na koloni) te termički stabilnih spojeva (radne temperature kolone su od -70 do 400°C). Ove uvjete zadovoljava relativno malo spojeva (oko 15 %). Spojevi koji ne zadovoljavaju gornje uvjete mogu se derivatizirati i tada analizirati plinskom kromatografijom. Kruti se uzorci mogu ispitati analizom hlapljivih produkata njihove razgradnje ako pirolizom daju uvijek iste razgradne produkte.

Postupci za derivatizaciju:

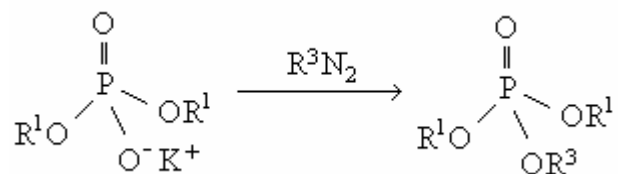
1. Esterifikacija karboksilnih kiselina;



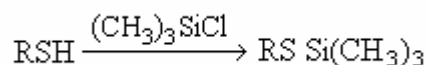
2. Aciliranje amina;



3. Alkiliranje npr. organofosforinih spojeva;



4. Siliranje alkohola, karboksilnih kiselina, amina, tiola i imina;



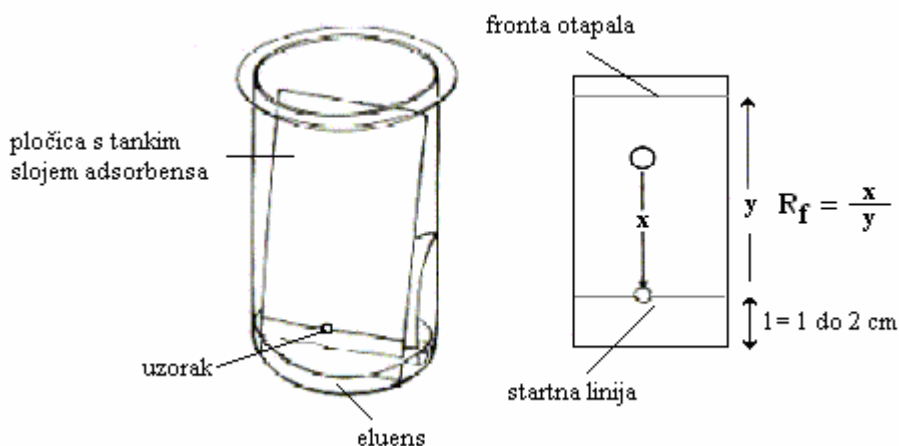
1.1.2. Tankoslojna kromatografija

Tankoslojna kromatografija temelji se na razdiobi tvari među krutim adsorbensom i tekućom pokretnom fazom. Kod tankoslojne kromatografije otapalo se zbog kapilarnih sila uspinje po krutom adsorbensu (slika 1.).

Kao nepokretna faza pri tankoslojnoj kromatografiji najčešće se rabe silikagel i aloks nanese u tankom sloju na staklenu, metalnu ili plastičnu pločicu. Smjesa koja se želi odijeliti nanese se kapilarnom na tanki sloj, blizu jednog kraja pločice u točki što manjeg promjera. Eluens se ulije u staklenu posudu s poklopcem (komoru za razvijanje) toliko da pokrije dno posude. Pločica se uroni u otapalo krajem na koji je nanesen uzorak (*startna linija*). Radi kapilarnih sila eluens se uspinje po adsorbensu i dolazi do razdvajanja komponenti smjese. Kad se otapalo približi gornjem rubu pločice, pločica se izvadi iz komore i zabilježi se udaljenost do koje je došlo otapalo (*fronta otapala*).

Ukoliko komponente nisu obojane mogu se vizualizirati na nekoliko načina. Najčešće se za to koristi ultraljubičasto svjetlo (UV), reverzibilna adicija joda, prskanje s reagensom koji oboji spojeve ili s koncentriranom sulfatnom kiselinom pod čijim djelovanjem spojevi nakon zagrijavanja pougljene i postaju vidljivi. Takva pločica s definiranim mjestima adsorbirane tvari zove se *kromatogram*.

Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila



Slika 1. Tankoslojna kromatografija

Komponente smjese poznatog sastava možemo identificirati na temelju izračunatih R_f vrijednosti (engl. related to front) uspoređujući ih s R_f vrijednostima za čistu komponentu. R_f vrijednost ovisi o prirodi otapala i za određenu komponentu i određeno otapalo je konstantan broj uvijek manji od 1. Računa se kao omjer udaljenosti koju je prešla neka komponenta (x , od starta do centra detektirane mrlje) i udaljenosti koju je istovremeno prešlo otapalo (y).

Upotreba tankoslojne kromatografije je raznovrsna. Koristi se za identificiranje tvari, kontrolu čistoće nekog spoja, te za praćenje tijeka reakcije (pratimo nastajanje produkta, odnosno nestajanje reaktanata). Konačno, prije svake kromatografije na koloni treba tankoslojnom kromatografijom pronaći otapalo optimalne polarnosti koje će dobro odvajati komponente smjese. Osim u analitičke, tankoslojna kromatografija može se koristiti u preparativne svrhe.

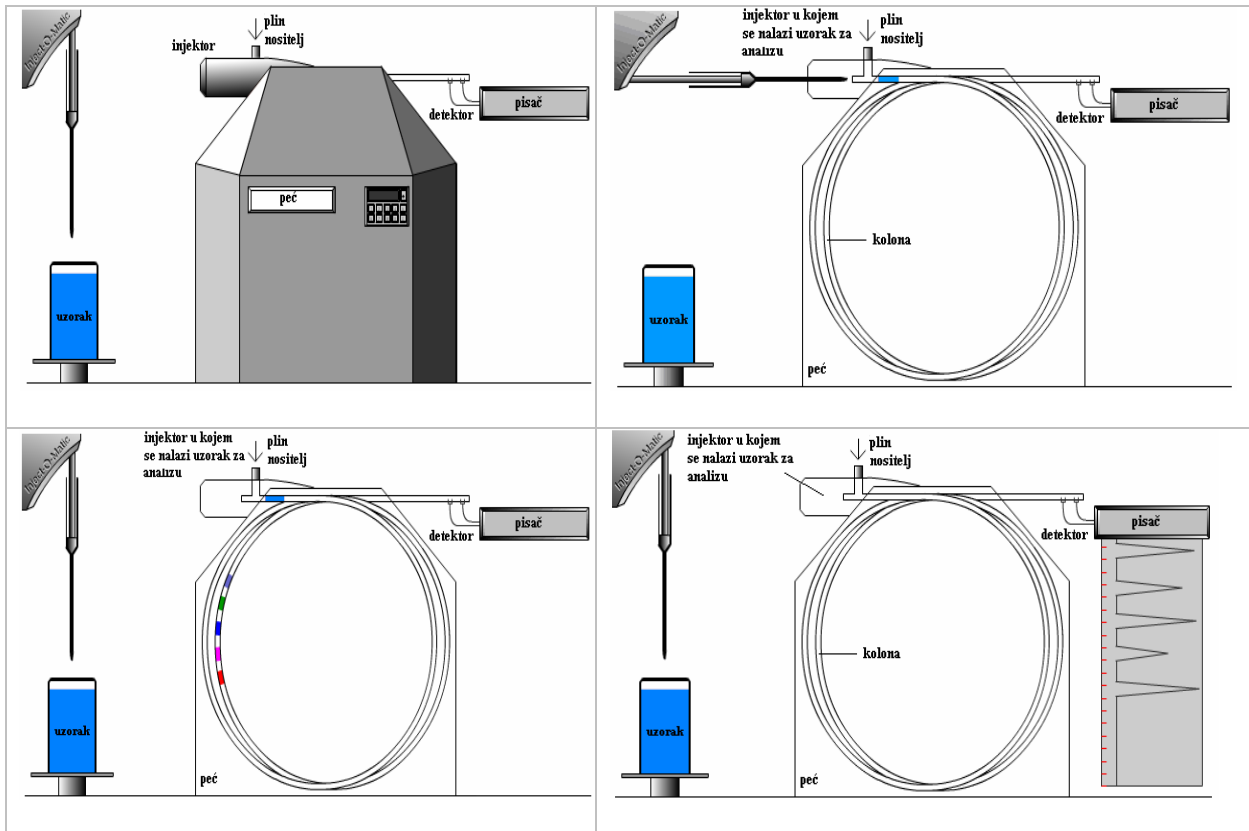
Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila

Pokus 1:

ANALIZA INDUSTRIJSKIH OTAPALA PLINSKOM KROMATOGRAFIJOM

Instrument se pripremi za izvođenje analize. Zabilježe se uvjeti pod kojima se radi kromatografija. Snimi se kromatogram smjese pripremljenih industrijskih otapala.

Plinski kromatograf – princip rada:



Smjesa koja se želi razdvojiti *injektira* se u struju plina pri povišenoj temperaturi, pri čemu uzorak ishlapi. Plin struji i odnosi smjesu na *kolonu* gdje dolazi do otapanja ili adsorpcije na nepokretnu fazu te ponovnog isparavanja tvari u pokretnu fazu. Zbog razlike u hlapljivosti i polarnosti pojedine komponente smjese ne zadržavaju se jednako dugo u koloni. Na taj način komponente se razdvajaju, izlaze iz kolone i bivaju registrirane detektorom. Odziv detektora bilježi se na pisaču kao kromatogram. Ako je odvajanje bilo uspješno svaka krivulja eluiranja u kromatogramu predstavlja jednu komponentu smjese.

Najčešće se kao *plin nosilac* upotrebljava vodik, helij, dušik, argon ili ugljični dioksid, dakle inertni plinovi vrlo visoke čistoće. Izvor plina uključuje i sustav za regulaciju tlaka plina u koloni (redukcijski ventil) te sustav za mjerenje protoka, budući da brzina protoka mora biti konstantna. Plin nosilac ne smije prebrzo nositi uzorak kroz kolonu jer se time smanjuje vrijeme za uspostavljanje ravnoteže među fazama, a time i vjerojatnosti odvajanja komponenti smjese. Nosi li pak plin presporo uzorak kroz kolonu dolazi do difuzije molekula plina i uzoraka u svim smjerovima, što rezultira izlaženjem komponenti u širem vremenskom intervalu.

Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila

Uzorak se unosi odjednom i što bliže kromatografskoj koloni. Da bi razdvajanje bilo uspješno količina unjetog uzorka ne smije zauzimati više od 1 % duljine kolone. **Uređaj za unošenje uzorka** (injektor) predstavlja ulazni dio kolone. U injektor se uzorci obično unose pomoću injekcijske štrcaljke. Temperatura injektora mora biti dovoljno visoka da uzorak potpuno i brzo ispari.

Kolona je najvažniji dio kromatografa. Kolona može biti staklena, metalna ili plastična, savijena tako da stane u termostatorani dio kromatografa. Efikasnost kolone ovisi o tome koliko se puta uspostavlja ravnoteža između nepokretne i pokretne faze. Duljina kolone važan je faktor za postizanje dobrog odvajanja komponenti. Uporabom duljih kolona povećava se razmak među odijeljenim sastojcima smjese tako da se mogu odjeliti i sastojci koji inače izlaze zajedno. Međutim, duljina kolone ograničena je jakim padom tlaka, a time i protoka duž kolone. Bolja djelotvornost kolone postiže se smanjenjem njezina promjera. Poznavajući sastav smjese koju kromatografiramo na osnovu podataka iz literature može se predvidjeti koju tekuću nepokretnu fazu treba upotrijebiti. Temperatura kolone mora biti niža od vrelišta nepokretne faze, te niža od komponenti smjese, ali ipak dovoljno visoka da komponente smjese mogu isparavati nakon otapanja u tekućoj fazi. Previsoka temperatura uzrokuje isparavanje svih komponenti smjese pa ne dolazi do uspostavljanja ravnoteže i uspješnog odvajanja.

Smješten na izlazu kolone, **detektor** bilježi prolazak odvojene komponente dajući odgovarajući električni signal. Kao detektor može poslužiti svaki uređaj (npr. detektor toplinske vodljivosti, plameno-ionozacijski detektor, detektor adsorpcije elektrona, plameno-fotometrijski detektor, spektrometar masa...) koji na osnovu nekog fizičkog ili kemijskog svojstva komponente registrira njenu prisutnost u plinu nosiocu.

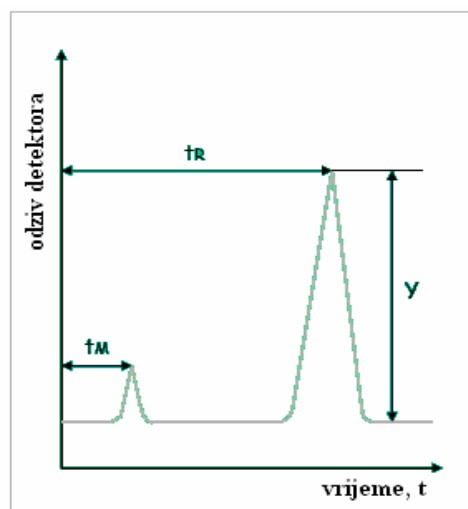
Najjednostavniji **sustav za obradu podataka** je analogni pisar koji struju dobivenu s detektora pretvara u pomak pera na papiru.

o kvalitativna analiza

Kromatogram se sastoji od niza krivulja elucije određenog redoslijeda, međusobnog razmaka i veličine. Podaci o zadržavanju sastojaka smjese u kromatografskoj koloni osnovni su podaci za kvalitativnu interpretaciju kromatograma. Ukupno vrijeme zadržavanja, t_R , dobije se mjerenjem vremena od ubacivanja uzorka do maksimuma krivulje sastojka. Ako se znaju mogući sastojci ispitivane smjese, jednostavnom usporedbom t_R vrijednosti pojedinih komponenti sonima čistih spojeva može se utvrditi koja krivulja pripada kojem sastojku. Uspoređivati se smiju samo retencijska vremena dobivena analizom pod jednakim uvjetima.

o kvantitativna analiza

Visina krivulje eluiranja i površina ispod nje razmjerni su količini sastojka smjese. Visina krivulje y udaljenost je od osnovne linije do vrha krivulje, a širina w je udaljenost između sjecišta osnovne linije i tangenata povučениh u točkama refleksije. Određivanje sastava ispitivanog uzorka iz podataka o veličini njihovih krivulja elucije može se provesti na više načina.



Pik = kromatografska krivulja - dio diferencijalnog kromatograma koji bilježi detektor pri ispiranju (eluiranju) jednog sastojka iz kolone

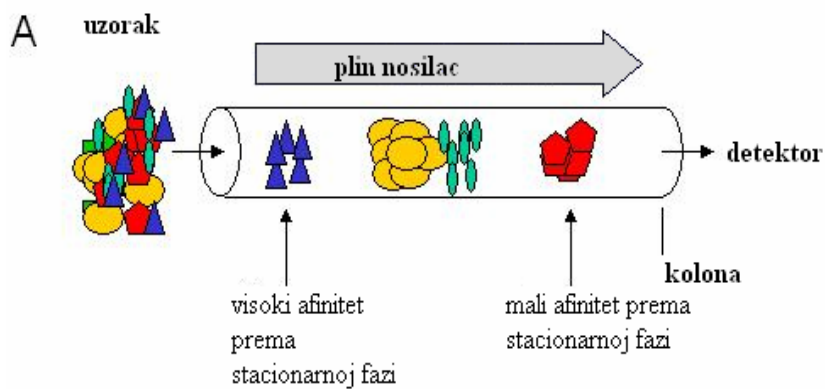
t_M - vrijeme zadržavanja sastojka koji prolazi kroz kolonu bez zadržavanja

t_R - ukupno vrijeme zadržavanja - od trenutka ubacivanja uzorka do maksimuma pika

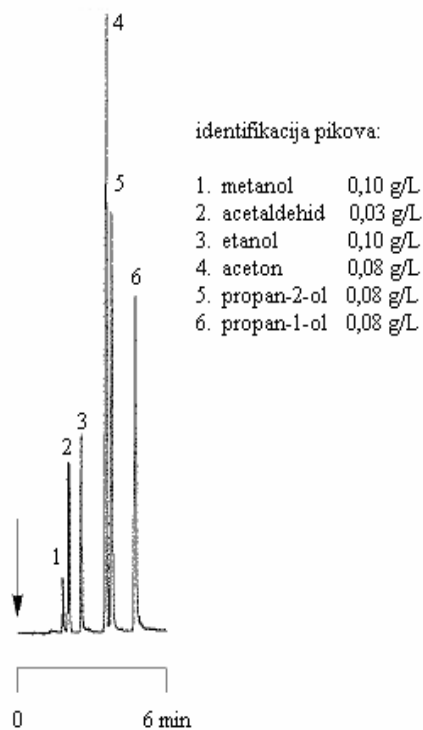
y - visina kromatografskog pika - udaljenost između osnovne linije i vrha pika

Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila

Shematski prikaz :



B



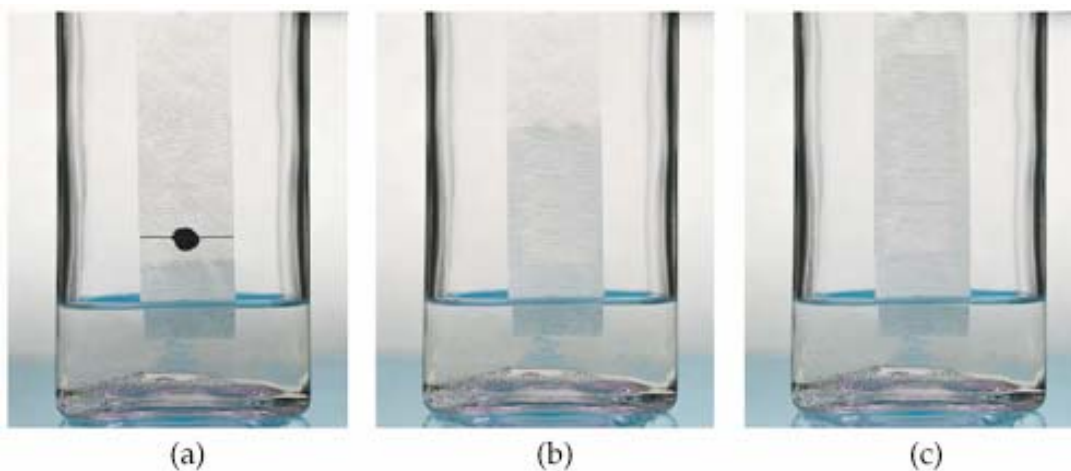
Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila

Pokus 2:

KROMATOGRAFIJA NA KROMATOGRAFSKOM PAPIRU

Na kromatografski papir ravnalom i običnom olovkom povucite svijetlu tanku liniju otprilike 1-2 cm od donjeg ruba papira. Zatim na tu liniju nanosite jednu mrlju flomastera promjera oko 1-2 mm (sl.a). Papir uronite u laboratorijsku čašu u kojoj se nalazi 10 ml otapala - obične vode (sl.b), te etanola (sl.c). Pripazite pritom da papir jedva dotiče otapalo, odnosno da startna linija s uzorkom bude iznad otapala. Pričekajte dok otapalo ne dopre gotovo do kraja papira. Tada izvadite papir i ostavite ga da se osuši.

Skicirajte mrlje koje ste dobili na kromatografskom papiru!



R_f vrijednost označava omjer udaljenosti koju je prešla neka komponenta smjese i udaljenosti koju je istovremeno prešlo otapalo.

Izračunava se prema formuli:

$$R_f = \frac{d}{d_0}, \quad \text{pri čemu je}$$

d - udaljenost određene komponente od startne linije

d_0 - udaljenost fronte otapala od startne linije

R_f vrijednost ovisi o prirodi otapala i za određenu komponentu i određeno otapalo je konstantan broj i uvijek manji od 1.

Vježba 1. Analiza industrijskih otapala i bojila

Izračunajte R_f vrijednost za žutu i plavu komponentu uzorka!

komponenta uzorka		otapalo	
		voda	etanol
R _f vrijednost	žuta		
	plava		

<http://www.wooster.edu/chemistry/analytical/gc/default.html>

odrada vježbe _____

potpis _____

kolokvij _____