



La fase stazionaria deve essere stabile termicamente, non reattiva e non volatile nell'intervallo di temperatura a cui lavora la colonna.

La fase stazionaria può essere *non polare o polare*.



Le fasi non polari separano i composti sulla base del punto di ebollizione



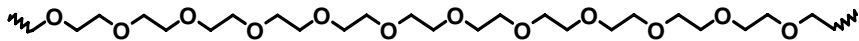
Le fasi polari hanno anche interazioni dipolo-dipolo di vario grado con i composti che passano sopra

Non polari: idrocarburi a catena lunga



non vanno bene con gli alcoli

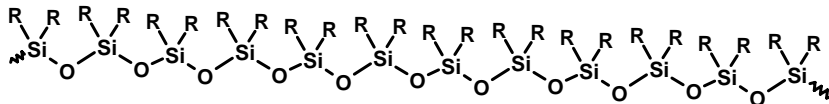
Polare: polietilen glicol



va bene con composti polari (esteri, chetoni, alcoli)



Mediamente polari: oli di silicone



Utili per molte sostanze. Separano sulla base della volatilità

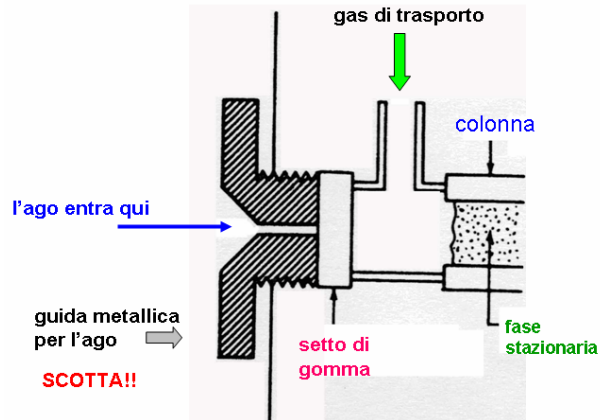
La fase mobile è un **gas inerte**: azoto o elio, migliore, ma più costoso





INTRODUZIONE DEL CAMPIONE NEL GC

Il campione da analizzare (composto puro o miscela) viene diluito in un opportuno solvente e iniettato con una microsiringa, attraverso un setto di gomma teflonata, nell'iniettore

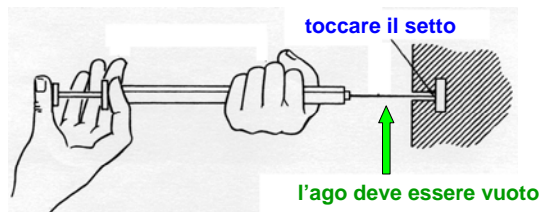


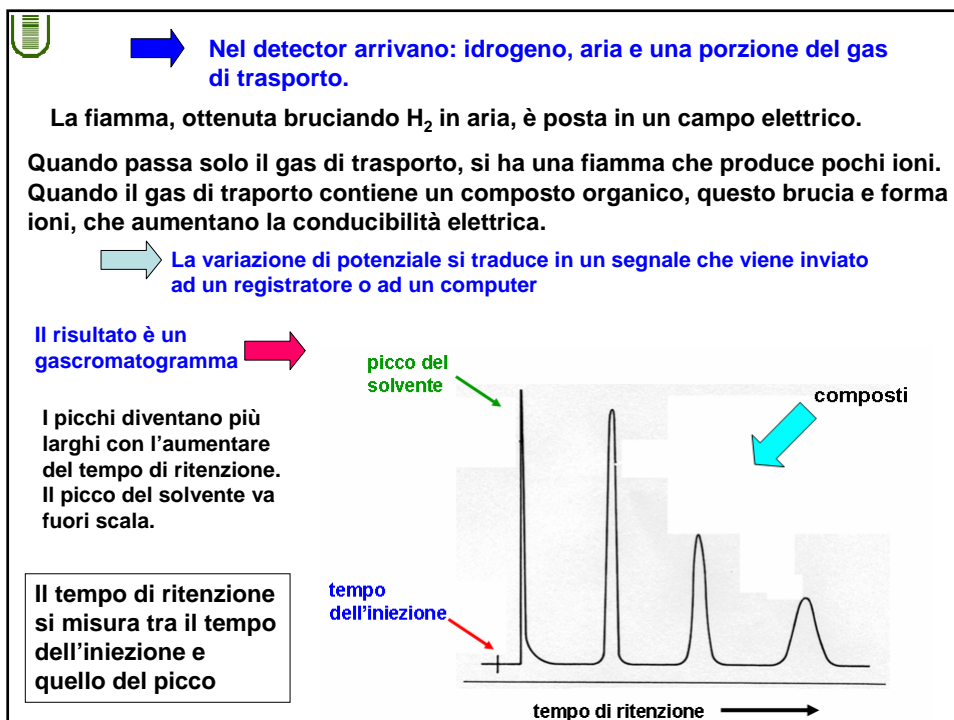
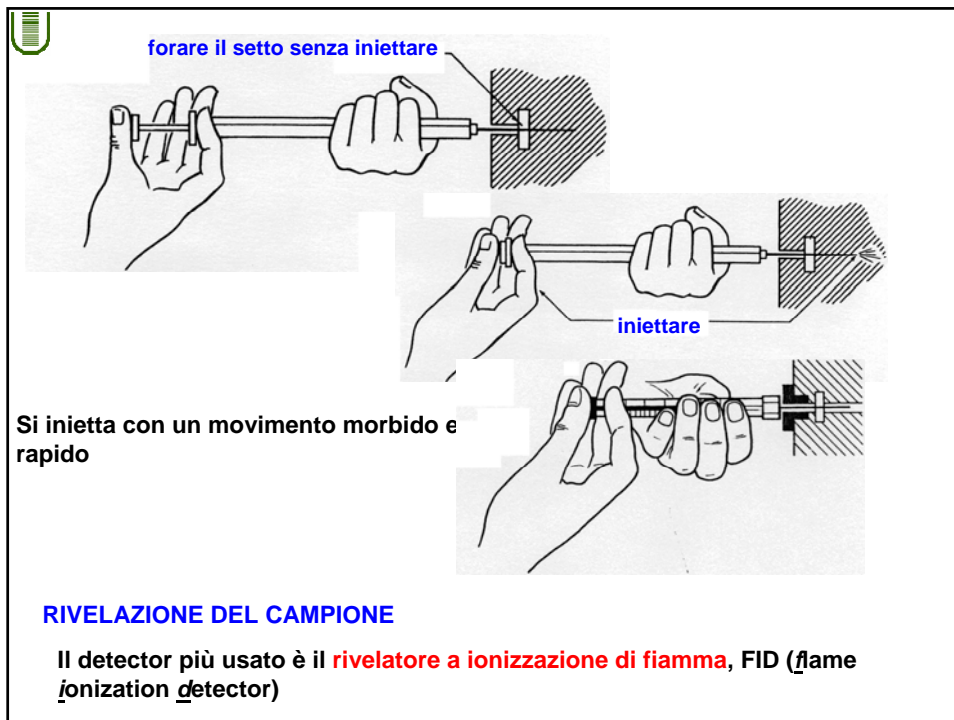
La siringa solitamente è da 10 μl ; si inietta 1 μl della soluzione



Lavare MOLTO bene la siringa, sia prima che dopo l'iniezione!

L'ago è molto sottile e si rompe facilmente: guidarlo con entrambe le mani







Il tempo di ritenzione permette di identificare un composto in confronto con un campione noto di quel composto: i tempi di ritenzione devono essere identici nelle stesse condizioni di analisi

La forma ideale del picco dovrebbe essere una gaussiana.

Picchi irregolari possono essere dovuti a cause diverse.



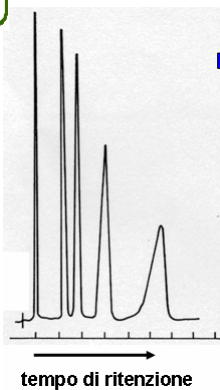
➡ **picco scodato**

La fase stazionaria della colonna non è adatta per quel composto



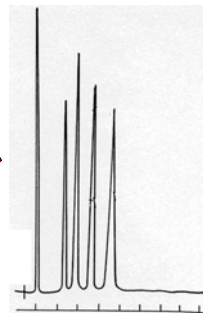
➡ **picco a "pinna di pesce" con crescita irregolare seguita da diminuzione improvvisa**

La colonna è stata sovraccaricata: bisogna iniettare molto meno campione



➡ **picco allargato**

A causa della diffusione laterale (presente in tutti i processi cromatografici) i picchi diventano sempre più larghi e bassi: con tempi di ritenzione molto lunghi si possono confondere con la linea di base



Si può rimediare aumentando la temperatura della colonna in modo programmato

ANALISI QUANTITATIVA

L'area dei picchi è proporzionale alla quantità di sostanza, ma le sostanze NON bruciano tutte alla stessa maniera e perciò non producono la stessa quantità di ioni.

E' perciò necessario fare delle rette di taratura con concentrazioni note e con un composto standard di elevata purezza e di concentrazione nota.



Riportando in grafico il rapporto delle aree misurato in funzione del rapporto delle concentrazioni si ottiene una retta il cui coefficiente angolare è il **fattore di risposta**

$$\frac{\text{Area}_{\text{campione}}}{\text{Area}_{\text{standard}}} = f_R \times \frac{[\text{campione}]}{[\text{standard}]}$$

Quando si ha una concentrazione incognita del composto, basta fare l'analisi con una concentrazione nota di standard

$$[\text{campione}]_{\text{incognita}} = \frac{\text{Area}_{\text{campione}}}{\text{Area}_{\text{standard}}} \times \frac{[\text{standard}]}{f_R}$$

CROMATOGRAFIA LIQUIDA AD ELEVATA PRESTAZIONE (HPLC)

High Performance Liquid Chromatography

Si usa in alternativa alla GC, quando le sostanze non sono volatili, oppure non sono stabili alle temperature dell'iniettore del gas cromatografo.

Fase stazionaria: solido finemente suddiviso (particelle anche di 5 μ)

Fase mobile: liquido pompato sotto pressione attraverso la fase stazionaria


L'equilibrio tra l'adsorbente e la fase mobile si stabilisce molto rapidamente



1. Si purificano (se necessario) reagenti e solventi.
2. Si mescolano i reagenti nelle opportune condizioni di reazione.
3. Si segue l'andamento della reazione.
4. Si lavora la reazione.
5. Si analizza il grezzo della reazione.
6. Si separano i prodotti.
7. Si controlla la purezza dei prodotti.
8. Si purificano (se necessario) i prodotti.



Finita la reazione, il prodotto (o i prodotti) deve essere separato dalla miscela di reazione con tecniche di separazione.

Ogni reazione può presentare problemi diversi di separazione, ma la maggior parte delle reazioni si può "lavorare" ("work-up") secondo alcuni schemi generali.

Dalla miscela di reazione si separa un solido  FILTRAZIONE

Si forma un liquido  DISTILLAZIONE


Se i liquidi sono più di uno, si deve ricorrere alla distillazione frazionata.

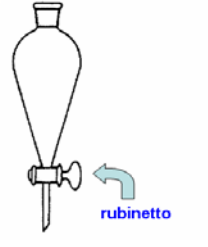
 **“Lavorazione acquosa” standard**  metodo più comune

Al termine della reazione, la miscela si versa **CAUTAMENTE** in acqua (o acqua e ghiaccio se il processo è esotermico): di solito il solvente organico usato per la reazione non è miscibile con l’acqua e *si formano due fasi*, che vanno separate.


1. Lavorazione acquosa ed isolamento di un composto (solido o liquido) neutro


Se il prodotto è neutro, si aggiunge un solvente organico (immiscibile con l’acqua) che lo scioglie.

La miscela si introduce da qui 



rubinetto

Le due fasi si separano con un imbuto separatore 



aprendo il rubinetto si raccoglie la fase inferiore

Etere dietilico: più leggero dell’acqua: sta sopra

CH_2Cl_2 o CHCl_3 : più pesanti dell’acqua: stanno sotto

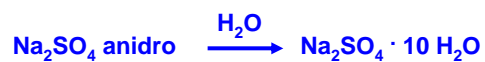


In acqua restano sali ed eventuali altri composti inorganici (acidi e basi compresi).

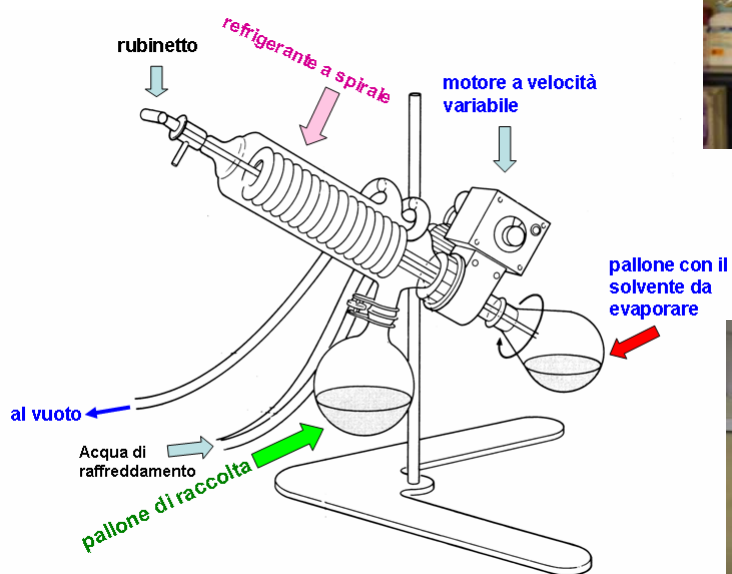
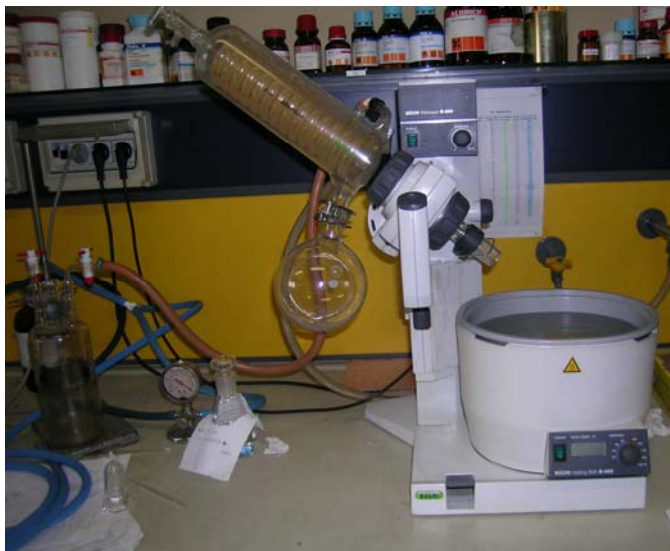
La fase organica, separata, si lava (sempre con l’aiuto dell’imbuto separatore) con porzioni di acqua distillata, per allontanare tutti i composti solubili in H_2O .




Alla fine, per togliere le tracce d'acqua, alla fase organica si aggiunge un essiccante.



Si filtra (per gravità su carta) e si allontana il solvente distillandolo (evaporatore rotante o rotavapor)






1. Si purificano (se necessario) reagenti e solventi.
2. Si mescolano i reagenti nelle opportune condizioni di reazione.
3. Si segue l'andamento della reazione.
4. Si lavora la reazione.
5. Si analizza il grezzo della reazione.
6. Si separano i prodotti.
7. Si controlla la purezza dei prodotti.
8. Si purificano (se necessario) i prodotti.

ANALISI DEL GREZZO DI REAZIONE

Il grezzo di reazione si può analizzare con le tecniche cromatografiche (per es., TLC, GC): si vede quanti composti siano presenti. Oppure con tecniche spettroscopiche.

Particolarmente utile è il GC abbinato con lo spettrometro di massa, perché si ottiene lo spettro di massa di ogni composto separato per GC



SEPARAZIONE DEI PRODOTTI

SEPARAZIONE MEDIANTE ESTRAZIONE CON SOLVENTI

Teoria dell'estrazione

Se un composto *A*, sciolto in un solvente organico (per esempio, dietil etere) si tratta con il liquido *immiscibile* acqua, si ripartirà tra le due fasi, con concentrazioni regolate dalla **costante di ripartizione, K_R**

$$\frac{[A]_{Et_2O}}{[A]_{H_2O}} = K_R$$

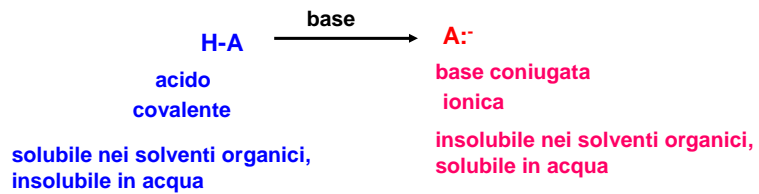
Se una miscela di due composti, *A* e *B*, viene sciolta in un solvente organico (per esempio, dietil etere) e la soluzione viene trattata con il liquido *immiscibile* acqua, i due composti si separano se *A* ha $K_R \gg 1$ e *B* ha $K_R \ll 1$ (o viceversa).

Difficilmente la separazione di sostanze organiche neutre ha successo, perché la maggior parte delle sostanze organiche è più solubile nei solventi organiche che in acqua.

Acidi e basi, trasformati in ioni solubili in acqua, si possono spesso rimuovere completamente dalle soluzioni organiche

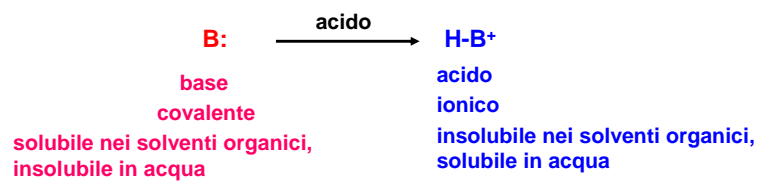


Gli acidi sono estratti da una base



Dopo l'estrazione, se si vuole riottenere l'acido, si acidifica la soluzione acquosa: HA, essendo insolubile in acqua, precipita e si separa.

Le basi sono estratte da un acido



Dopo l'estrazione, se si vuole riottenere la base, si alcalinizza la soluzione acquosa: B, essendo insolubile in acqua, precipita e si separa.