

Sinekološka STEM EDUKAcija u Klinči



Naziv aktivnosti:

Metode odvajanja (separacija)

Datum:

XX.XX.XXXX.

Metode se najjednostavnije mogu podijeliti prema principu razdvajanja; prema veličini čestica, masi, stvaranju kompleksa, promjeni fizikalnih i kemijskih svojstava, te razdjeljivanju između faza.

Tablica 1. Podjela separacijskih metoda prema principu razdvajanja

PRINCIP RAZDVAJANJA	METODA
Veličina čestica	Dijaliza, filtracija
Masa i gustoća	Centrifugiranje
Stvaranje kompleksa	Maskiranje
Promjene fizikalnih svojstava	Sublimacija, destilacija, rekristalizacija
Promjene kemijskih svojstava	Ionska izmjena, elektrodepozicija, precipitacija
Razdjeljivanje između faza	Ekstrakcija, kromatografija

KROMATOGRAFIJA

Kromatografija je separacijski postupak koji se zasniva na razdiobi komponenti nekog uzorka između dvije faze. Jedna od faza je pokretna (mobilna), a druga nepokretna (stacionarna). Svim kromatografskim metodama zajedničko je postojanje dvije navedene faze, a podijeljene su s obzirom na njihovo fizikalno stanje [1]. Prvu takvu tehniku osmislio je ruski znanstvenik Mihail Semjonovič Cvet početkom 20. st. proučavajući biljne pigmente*. Kroz kolonu od kalcijeva karbonata i aluminijeva oksida propustio je ekstrakt lišća. Na koloni je uočio odjeljivanje biljnih pigmenata klorofila i ksantofila koji su se vidjeli kao obojene trake, po čemu je ta metoda i dobila ime kromatografija (*grč. khrôma = boja , graphein = pisati*). Danas su u uporabi mnogobrojne kromatografske metode. To je jedna od najraširenijih analitičkih metoda, a primjenjuje se u medicini, biokemiji, organskoj kemiji, prehrambenoj industriji, kao i u svakom istraživačkom laboratoriju.

* Paper chromatography was originally developed by M. S. Tswett in Russia in 1903. However, his method had a poor resolution, making it somewhat impractical for broader applications.

In the early 1940s, Archer Martin and Richard Synge were working together at the Wool Industries Research Association in Leeds, England. It was during their collaboration that they developed partition chromatography and published a paper describing their method titled "A New Form of Chromatogram Employing Two Liquid Phases."

They won the Noble Prize in 1952 for their remarkable revolutionization of Tswett's original chromatographic technique.

Podjela kromatografskih metoda

Postoje različite podjele kromatografskih metoda. Prema obliku kromatografske podloge razlikujemo :

- Plošnu kromatografiju - Stacionarna faza stavljena je na ravnu podlogu, a mobilna faza uz pomoć gravitacije ili kapilarnih sila nosi komponente uzorka uzduž stacionarne.
- Kromatografiju u koloni - Mobilna faza s komponentama uzorka prolazi uskom cijevi ispunjenom stacionarnom fazom pod učinkom tlaka ili gravitacije.

Prema agregatnom stanju stacionarne i mobilne faze:

- plinsko-tekućinsku,
- plinsko-čvrstu,
- tekućinsko-čvrstu,
- tekućinsko-tekućinsku.

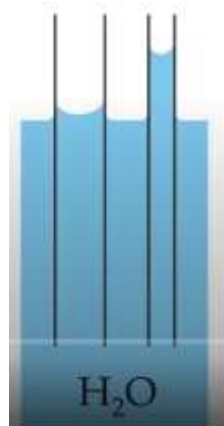
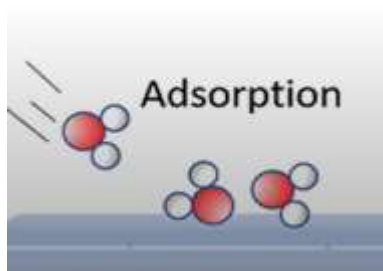
Prema agregatnom stanju mobilne faze:

- plinsku kromatografiju,
- tekućinsku kromatografiju,
- fluidnu kromatografiju pri superkritičnim uvjetima.

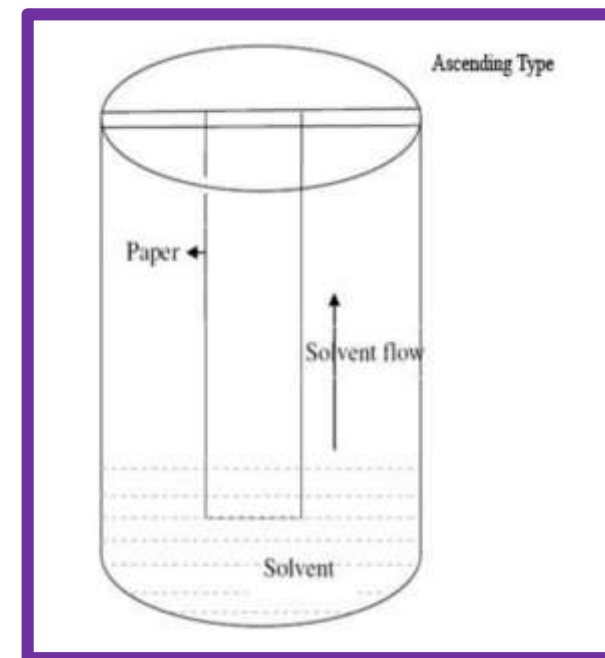
PAPIRNA KROMATOGRAFIJA

Tehnika separacije (razdvajanja) kojom se komponente (biljni pigmenti i sl.) smjese pomiču na različita mjesta fine kvalitete celuloznog papira što ovisi o topljivosti pojedine komponente u primjenjenom sistemu otapala.

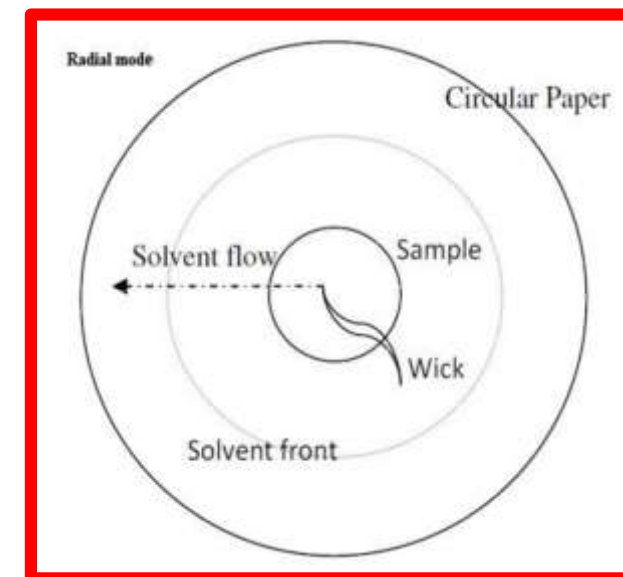
Kretanje po kromatografskom papiru nastaje uslijed ADSORPCIJE i KAPILARNIH SILA:



Uzlazna kromatografija



Plošna kromatografija



Princip papirne kromatografije

Uključeno načelo je razdjelna kromatografija u kojoj se tvari raspoređuju ili dijele između tekućih faza. Jedna faza je voda zadržana u porama filter papira koji se koristi, a druga je pokretna faza, koja se kreće preko papira. Spojevi u smjesi se odvajaju zbog razlika u njihovom afinitetu prema vodi (u stacionarnoj fazi) i otapalima mobilne faze tijekom kretanja mobilne faze. Ova mobilna faza kreće se pod kapilarnim djelovanjem pora u papiru. Princip može biti i adsorpcijska kromatografija između krute i tekuće faze, pri čemu je stacionarna faza čvrsta površina papira, a tekuća faza mobilna faza. Ali većina primjena papirne kromatografije radi na principu razdjelne kromatografije (tj. podijeljene između dvije tekuće faze).

Upotreba i primjena papirne kromatografije

1. Papirna kromatografija se posebno koristi za odvajanje smjesa koje sadrže polarne i nepolarne spojeve.
2. Za odvajanje aminokiselina.
3. Koristi se za određivanje organskih spojeva, biokemikalija u urinu itd.
4. U farmaceutskom sektoru koristi se za određivanje hormona, lijekova itd.
5. Ponekad se također koristi za procjenu anorganskih spojeva poput soli i kompleksa.
6. Često se koristi za pregled kozmetike i otkrivanje kontaminanata u hrani i piću.

Zadatak 1.

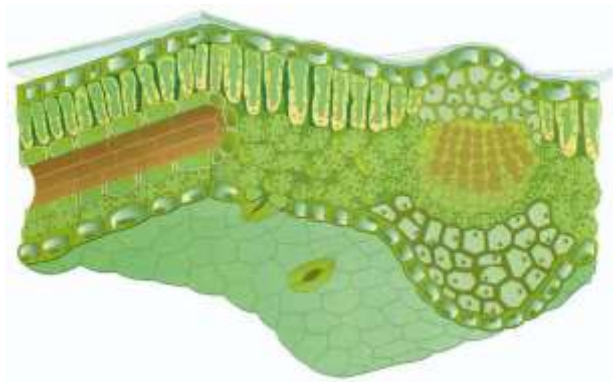
Kromatografija biljnih boja u listu

- kromatografija - razdvajanje tvari iz smjese
- različita brzina putovanja molekula
- pojedini pigmenti djelomično upijaju i odbijaju svjetlost određenih valnih duljina
- boja koju vidimo valna je duljina koju je sastojak odbio
- valne duljine koje sastojak upije, ne možemo vidjeti



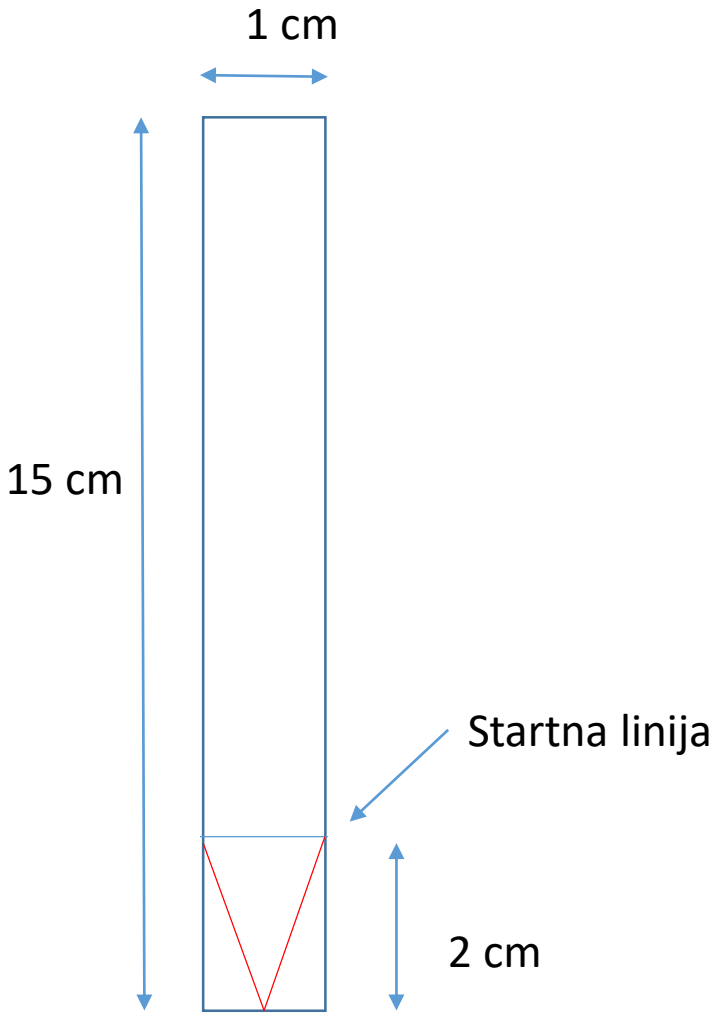
Narežite lišće i stavite ga u tarionik, dodajte malo pijeska te potom dodajte 3 ml acetona i smjesu čvrsto miješajući usitnite,

Smjesu ostavite na mirovanju 5 minuta



Izrežite 2 trakice papira širine 1 cm i duljine 15 cm

Obilježite startnu liniju 2 cm od ruba trakice i odrezite visak papira po crvenim crtama



Važno: Koristite samo običnu grafitnu olovku za pisanje po filter papiru

Na **startnu liniju** kapnite otopinu **smjese biljnih pigmenata** (ili **umočite kovanicu u otopinu pa s njom prijeđite preko papira**) ili utisnite s novčićem list.

Pričekajte da se nanoseno osuši i ponovite nanos na isto mjesto 3 puta.

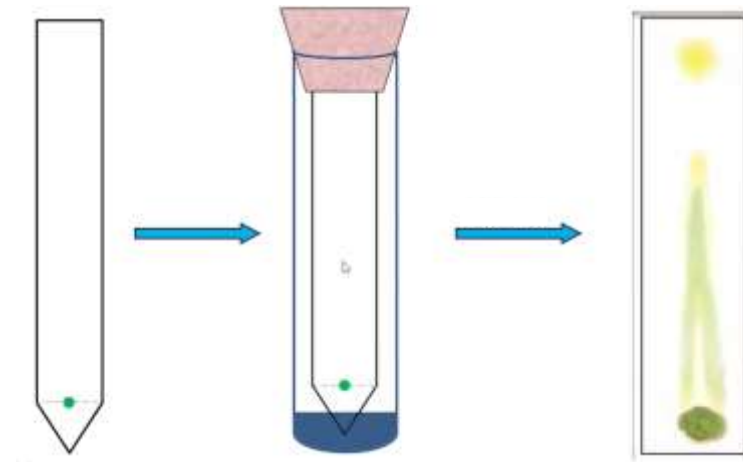


U epruvetu ulijte oko 1 cm otapala (petroleter:aceton 9:1 ili 70% etanol))

Uronite traku papira u epruvetu

Uzorak treba biti 1 cm iznad otapala

Pratite promjene na papiru



- Ravnalom izmjerite koliko iznosi udaljenost koju je doseglo otapalo, a koliko svaki pigment
- Izračunajte faktor zaostajanja za svoje pigmente,
- Rezultate prikažite tablično



Leaf Chromatography

Leaf chromatography separates leaf pigments according to their size.

- Red - Anthocyanins
- Orange - Carotenoids
- Yellow - Xanthophyll
- Green - Chlorophyll

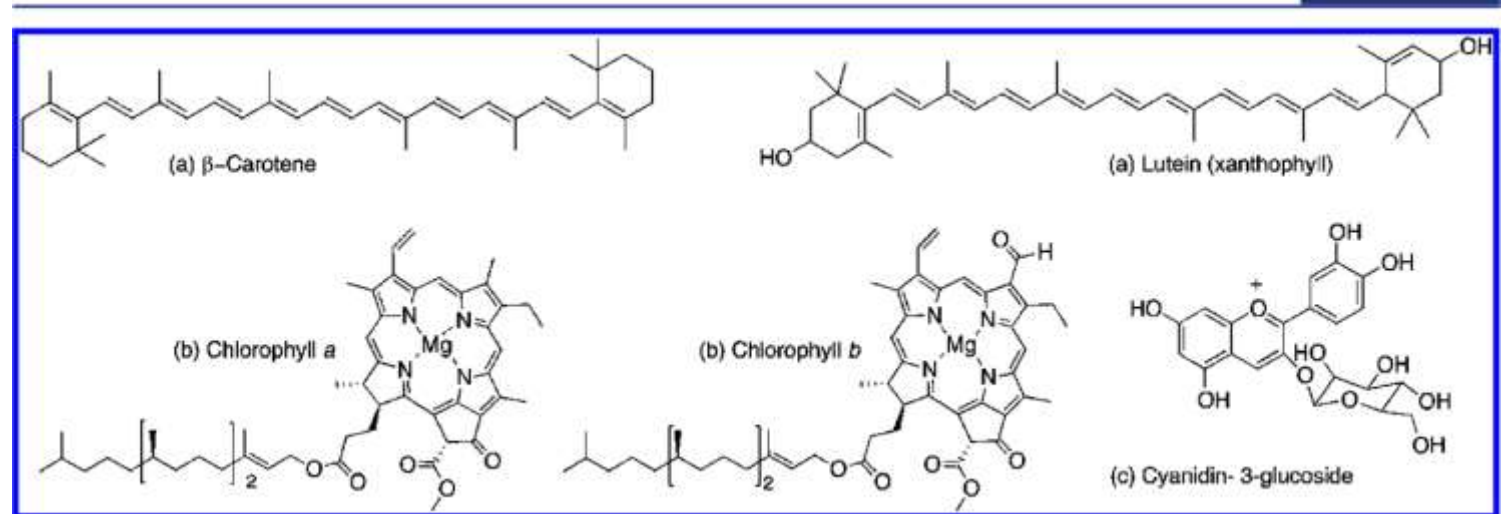
Small molecules travel further than large ones.

sciencenotes.org

R_f faktor zaostajanja

$$R_f = \frac{b \text{ (udaljenosti koju dosegne sastojak)}}{a \text{ (udaljenosti koju postigne otapalo)}}$$

Pigment	Udaljenost koju su postigli pigmenti	Udaljenost koju je postiglo otapalo	R_f faktor
Karoten	6.65cm	7 cm	0.95
Ksantofil	5.25cm	7 cm	0.71
Klorofil a	4.55cm	7 cm	0.65
Klorofil b	3.15cm	7 cm	0.45



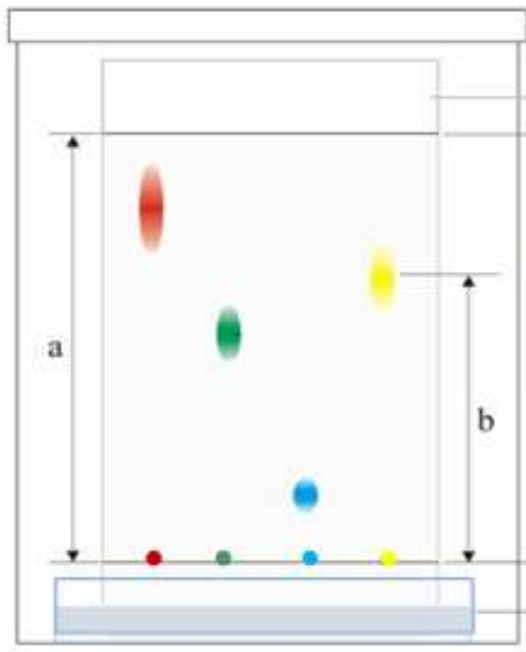
Zadatak 2

Kromatografija prehrambenih boja

Ponovite postupak ali sada vam je uzorak crvena, plava, žuta i zelena prehrambena boja

Otapalo je voda

Izrežite trakicu filter papira prema slici i obilježite startnu liniju 2 cm od ruba trakice. Potom nanesite uzorak svake boje.

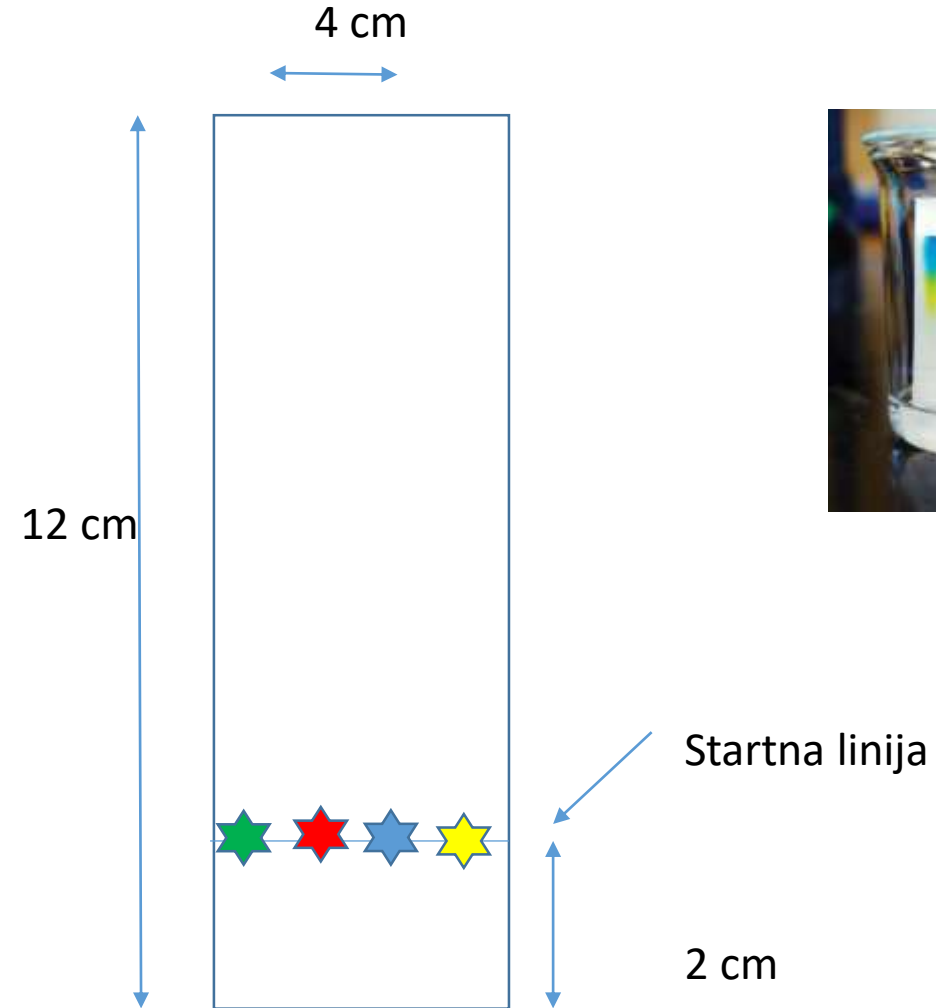


Nepokretna faza
Fronta otapala

Faktor zaostajanja:
 $R_F = \frac{b}{a}$

Startna linija
Pokretna faza

$$R_F = \frac{b \text{ (udaljenost koju je dosegao pigment)}}{a \text{ (udaljenost koju je postiglo otapalo)}}$$

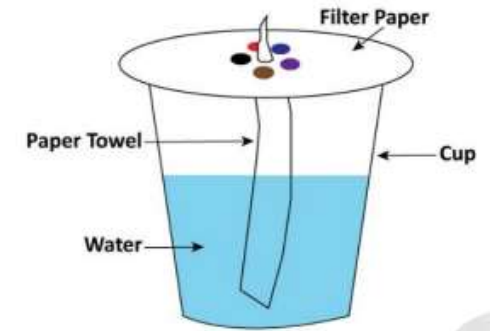


Zadatak 3

Kromatografija pigmenata flomastera

You will need:

- Chromatography Filter Paper discs
- Water-soluble markers (i.e., Vis-à-vis, Crayola)
- A small cup
- Paper towel
- Nail or sharpened pencil
- Water



Sada su vam uzorci
pigmenti iz flomastera
npr. crvena, plava, žuta,
ljubičasta ili zelena
Otapalo je voda

Izrežite krug filter
papira promjera nešto
većeg od čaše te
priloženim uputama na
engleskom jeziku
provedite pokus ako
ima pitanja pitajte.

What to do:

1. Fill the cup at least halfway with water.
2. Use the nail or pencil to poke a hole in the center of a filter disc.
3. With your water-soluble markers, draw a ring or several dots around the hole.
4. Cut the paper towel about 1.5 cm by 8 cm and twist one end of the strip into a point.
5. Poke the pointed end of the paper towel through the hole in the filter disc so it sticks through about 1 cm and the rest hangs below, with the marker design on the top.
6. Lower the paper towel into the cup with the filter paper resting on the rim.
7. Watch the colors spread out across the filter paper.

Note: You will get the best results if you take the filter paper out of the water **before** the colors reach the edge of the disk.