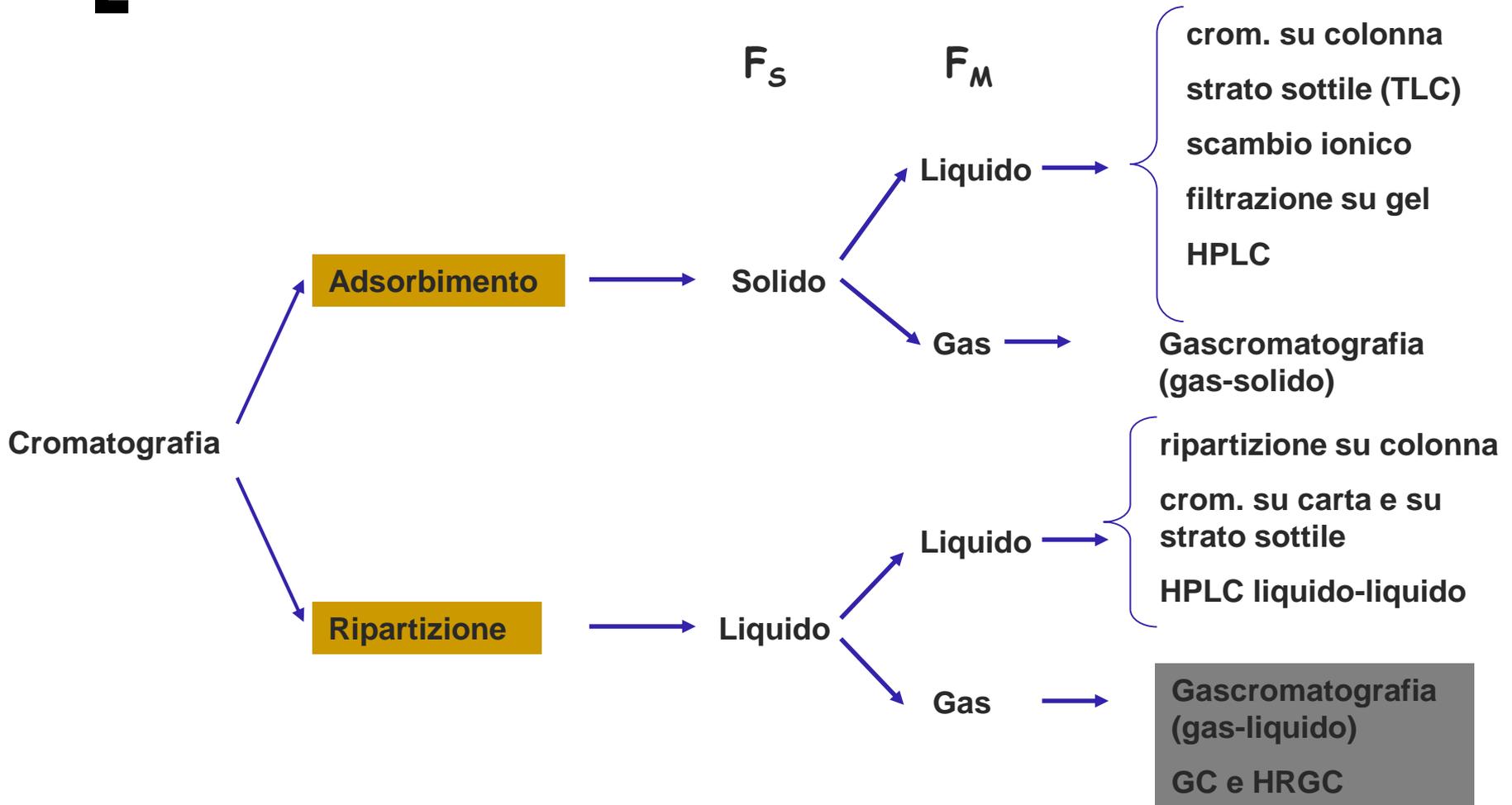




La cromatografia di adsorbimento

Cromatografia: serie di tecniche di separazione per scopi analitici e preparativi

Tutte le tecniche cromatografiche operano sul principio che i componenti di una miscela sono distribuiti in modo non uniforme tra due fasi non miscibili.



[Principi generali]

- La cromatografia di adsorbimento è detta anche cromatografia liquido-solido in quanto al processo separativo prendono parte una fase stazionaria costituita da un solido finemente suddiviso e una fase mobile costituita da un liquido.
- Viene generalmente effettuata in due modalità distinte: su colonna e su strato sottile.
- Il fenomeno dell'adsorbimento dipende dalla particolare affinità di un soluto disciolto in una fase liquida nei confronti di una fase solida (adsorbente) a contatto con quest'ultima.
- Poichè il processo di adsorbimento avviene sulla superficie dell'adsorbente la sua efficacia è direttamente proporzionale all'estensione superficiale dell'adsorbente a parità di volume.



- Le interazioni in gioco tra adsorbente e componenti della miscela da separare nella fase mobile sono molteplici e determinate da legami di tipo van der Waals, dipolo-dipolo, ad idrogeno, ionici, nonché da equilibri di complessazione.
- La forza con cui una sostanza è adsorbita sulla superficie della fase solida dipende principalmente dalla natura dei suoi gruppi funzionali.
- Idrocarburi saturi < alchini, alcheni, idrocarburi aromatici < eteri < esteri, chetoni, aldeidi < ammine, tioli, alcoli < fenoli, acidi carbossilici
- La forza dell'adsorbimento oltre che dalla polarità dipende dalle caratteristiche stereochimiche e dalla geometria della molecola che interagisce con l'adsorbente.

Le fasi stazionarie

- Non devono reagire con il soluto nè catalizzare reazioni di decomposizione, polimerizzazione o idrolisi
- Non devono adsorbire irreversibilmente il soluto
- Non devono solubilizzarsi nell'eluente nè interagire con questo
- Devono riuscire ad adsorbire un gran numero di sostanze in maniera selettiva e riproducibile senza dar luogo a fenomeni di saturazione
- Devono permettere un facile percolamento dell'eluente

Classificazione delle fasi stazionarie

Allumina Carbone attivo Florisil Gel di silice	Forte
Idrossido di calcio Idrossido di magnesio Fosfato di calcio Carbonato di calcio	Medio
Cellulosa Talco Amido Saccarosio	Debole

Gli adsorbenti che si avvicinano di più alle caratteristiche ideali sono la gel di silice e l'allumina

Poichè l'adsorbimento è un fenomeno superficiale è importante che la fase stazionaria abbia:

- Una elevata estensione superficiale che favorisca il rapido instaurarsi dell'equilibrio tra la fase stazionaria e quella mobile
- Particelle con granulometria uniforme al fine di rendere più efficaci i fenomeni di adsorbimento

La granulometria è espressa oltre che dalle dimensioni delle particelle (0,2-0,3mm) anche in termini di intervalli di mesh, unità di derivazione anglosassone che rappresenta il numero di fori per pollice lineare (2,54cm) di un setaccio: ad es. un setaccio da 70mesh contiene per ogni pollice lineare 70 fori.

Più stretto è l'intervallo di mesh più efficace è il processo separativo.

Fasi mobili

- In genere il potere eluente di un solvente varia in funzione della polarità, del tipo di adsorbente adoperato, della natura delle sostanze da separare e della temperatura.
- La serie eluotropa di Trappe definisce un ordine generale in funzione del potere eluente.

Etere di petrolio < cicloesano < tetracloruro di carbonio < toluene < cloruro di metilene < cloroformio < etere etilico < acetato di etile < acetone < propanolo < etanolo < metanolo < acqua < acido acetico

E' possibile utilizzare miscele di tali solventi così da realizzare fasi mobili con potere eluente variabile.

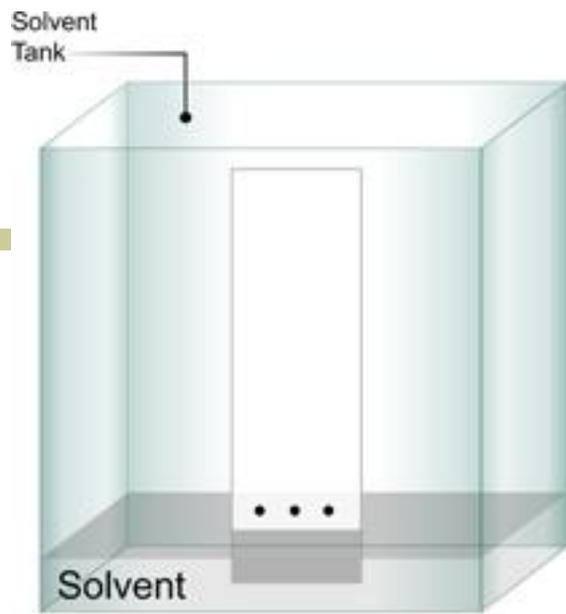
Le caratteristiche principali di un eluente sono:

- Non deve reagire nè con l'adsorbente nè con i prodotti da separare
- Non deve solubilizzare l'adsorbente
- Deve far migrare i componenti della miscela da separare
- Deve avere un basso punto di ebollizione così da permettere un facile recupero dei soluti per evaporazione
- Non deve essere tossico nè molto costoso

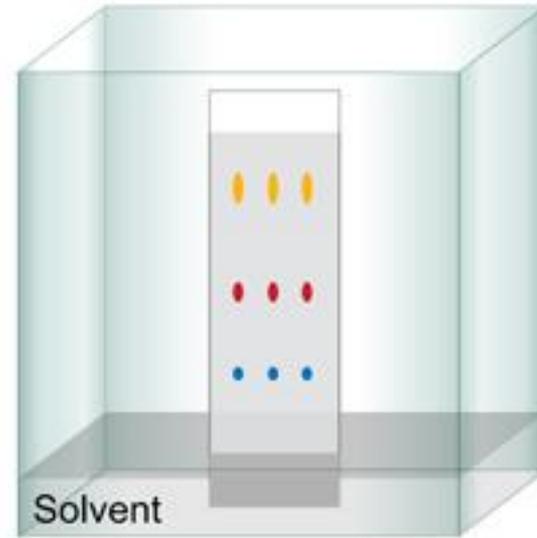
In genere non si utilizza, ad esempio, acetone se la fase stazionaria è allumina, in quanto questa ne catalizza la reazione di condensazione, nè è consigliabile eluire con metanolo una colonna di gel di silice, con cui l'alcol reagisce per dare silicati solubili.

Cromatografia su strato sottile (TLC)

- In questo tipo di cromatografia la fase stazionaria è costituita da un sottile strato di adsorbente che viene mescolato con un opportuno legante quale ad es. gesso, che ha lo scopo di conferire al materiale adsorbente particolare compattezza.
- La fase stazionaria viene fatta aderire su di una lastra di vetro, di alluminio o di poliestere.
- La lastra viene immersa nell'eluente (dopo caricamento del campione) che salirà per capillarità.



Time Zero

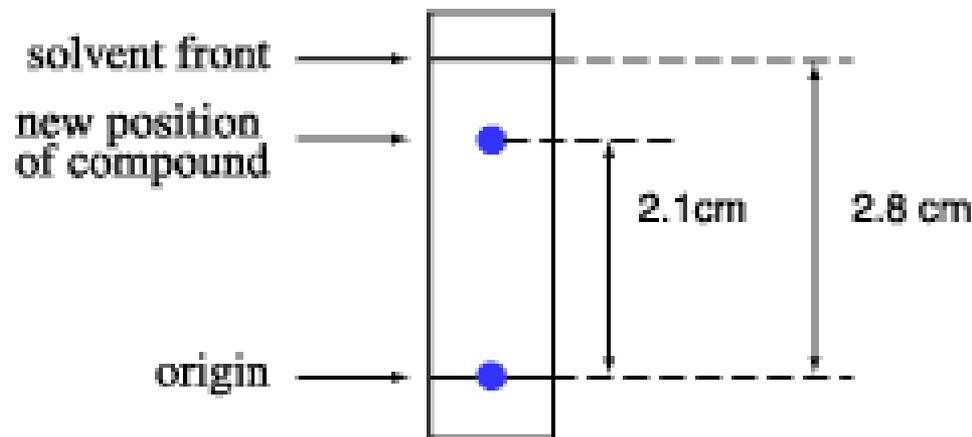


After Ten Minutes



Il fattore di ritenzione R_f

Il fattore di ritenzione è dato dal rapporto tra la distanza percorsa dalla sostanza A e quella percorsa dal solvente.



$$R_f = \frac{2.1}{2.8} = 0.75$$

Il valore di R_f è compreso tra 0 e 1 ed è costante per ogni sistema cromatografico ed è una caratteristica della sostanza esaminata.

Rivelatori

Nel caso in cui i componenti non sono direttamente visibili si ricorre ai seguenti metodi:

Si espone la lastra asciutta ad una lampada UV (254nm o 365nm) per evidenziare le sostanze fluorescenti e i composti che contengono gruppi funzionali in grado di assorbire all'UV.

Si possono utilizzare lastre impregnate di un indicatore di fluorescenza per cui per esposizione alle radiazioni UV la lastra mostrerà intensa fluorescenza tranne che nelle zone dove sono presenti sostanze che assorbono nell'UV: in tali zone la radiazione non riesce a raggiungere l'indicatore e non si osserverà fluorescenza ma una banda o macchia scura.



Un altro metodo è l'utilizzo di vapori di iodio che forma complessi scuri con molti composti organici. Per esposizione all'aria il complesso si decompone e lentamente le macchie o bande scompaiono.

Esistono poi un elevato numero di reattivi che danno luogo a prodotti colorati per reazione selettiva con determinati gruppi funzionali. Questi reattivi vanno scelti in funzione della natura chimica dei composti da rivelare.

Cromatografia su colonna

Si utilizzano in genere colonne di vetro e le dimensioni variano in funzione della quantità di sostanza da separare e quindi di fase stazionaria da utilizzare.

Campione (g)	Adsorbente (g)	Dimensioni (d x l, cm) gel di silice
0,1	5	1,2 x 15
0,5	25	2,1 x 25
1	50	3,0 x 38
5	250	5 x 60

L'impaccamento della colonna deve essere fatto in modo tale da non creare delle zone di disomogeneità nella fase stazionaria (es. crepe) che possono costituire vie preferenziali per la fase mobile.

L'impaccamento della colonna può essere fatto a umido o a secco.

La cromatografia flash (flash-chromatography) è una tecnica cromatografica preparativa su colonna in cui si utilizza un adsorbente in granuli di dimensione molto inferiore a quella dei granuli normalmente usati nella cromatografia a pressione atmosferica. In tale maniera è spesso possibile migliorare l'efficienza della separazione cromatografica in quanto, a parità di peso, aumenta l'estensione della superficie attiva dell'adsorbente.

Per permettere al solvente di fluire attraverso la fase stazionaria si applica, in testa alla colonna, una leggera pressione ad opera di aria compressa.

