

Analytická chemie organických látek I

(Klasická organická analýza)

1. Úvod. Charakteristiky analýzy organických látek. Metodika analýzy, trendy a vývoj. Stanovení fyzikálních konstant: bod tání a varu, refraktivita, optická aktivita, rozdělovací konstanty extrakce, molekulová hmotnost, spektrální konstanty.
2. Elementární analýza. Rozklad vzorku, detekce a stanovení C, H, O, N, Cl, Br, I, S, P, F. Automatické metody elementární analýzy.
3. - 4. Detekce funkčních skupin: třídy rozpustnosti, klasifikační reakce na uhlovodíky, alkoholy, fenoly, aldehydy, ketony, karboxylové kyseliny, *anhydridy kyselin, estery, amidy a imidy, ethery, epoxidy, peroxidy*, aminy, *nitrily a isonitrily*, nitro-, nitroso-, *azo-, azoxy-, hydrazo-* a diazo sloučeniny, *thioly*, sulfonové a *sulfinové kyseliny*, halogenosloučeniny.
5. - 6. *Stanovení organických sloučenin na bázi reakcí jejich funkčních skupin. Stanovení aktivního vodíku, stanovení hydroxy-, karbonyl-, karboxyl-, amino-, nitro-, nitroso-, thio- a halogenosloučenin.*
7. Extrakce kapalina-kapalina, chromatografie tenkovrstvá (TLC). Instrumentální metody organické analýzy – principy (plynová chromatografie (GC), kapalinová chromatografie (LC), spektroskopie, optická rotační disperze (ORD), cirkulární dichroismus (CD), nukleární magnetická rezonance (NMR) a hmotnostní spektroskopie (MS)).

Literatura:

- Z. Stránský a kol., Analýza organických sloučenin, UP Olomouc 1981.
V. Kalous, Jak moderní chemie zkoumá strukturu molekul, SNTL 1983.
V. Stučka, Instrumentální metody chemické analýzy, UP Olomouc, různá vydání.
Z. Holzbecher a kol., Analytická chemie, SNTL, různá vydání.

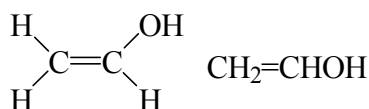
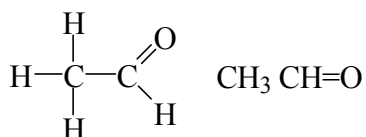
Úvod. Charakteristiky analýzy organických látek. Metodika analýzy, trendy a vývoj.

- omezený počet prvků: C, H, N, O, S, X
- termicky labilní, rozklad do 400 °C
- cca $5 \cdot 10^6$ sloučenin - izomery:
sloučeniny, které mají stejný chemický vzorec

např.

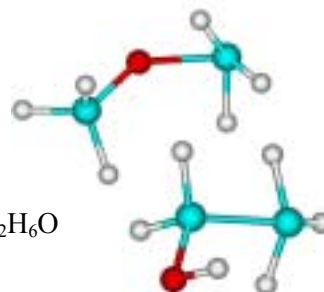
polohové : 1-propanol, 2-propanol

tautomery : *acetaldehyd*



konstituční : C₂H₆O

vinylalkohol



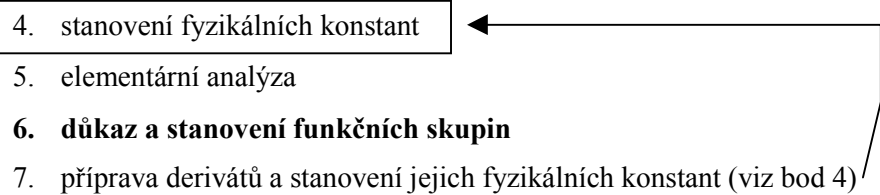
- polymery: polystyren -(C₆H₅-C₂H₄)_n-
- bez náboje, nabité

Základní pojmy. Typické úkoly organické analýzy

- důkaz prvku, sloučeniny nebo složek směsi (jen bližší klasifikace)
- identifikace látky: zjištění identity s konkrétní (čistou) látkou (derivátem), kontrola čistoty
- charakterizace sloučeniny: systémový popis fyzikálních a chemických vlastností (bod tání, varu, hustota, index lomu, spektra...)
- určení konstituce: racionální strukturní vzorec

- stanovení: prvku, funkčních skupin, celé sloučeniny
⇒ **VOLBA ANALYTICKÉ METODY**

KLASICKÝ POSTUP IDENTIFIKACE

1. zjištění vnějších vlastností vzorku
 2. předběžné zkoušky
 3. příprava chemického individua
 4. stanovení fyzikálních konstant
 5. elementární analýza
 - 6. důkaz a stanovení funkčních skupin**
 7. příprava derivátů a stanovení jejich fyzikálních konstant (viz bod 4) + konečná identifikace
 8. konfrontace s literaturou
 9. (určení konstituce)
- 

POŽADAVKY: mg až desítky mg vzorku

POSTUP IDENTIFIKACE INSTRUMENTÁLNÍMI METODAMI

- chromatografie (relativní metoda)
- kombinace spektrálních metod UV, IČ, NMR, MS
- interpretace výsledků, identifikace v knihovnách, předpověď struktury

POŽADAVKY: μg - mg vzorku

1/ ZJIŠTĚNÍ VNĚJŠÍCH VLASTNOSTÍ

- skupenství (l) - relativně malá M, polarita ?, viskózní = polymerní, polyfunkční sloučenina
(s) - soli, silně polární látky (krystaly), amorfní = polymerní sloučenina

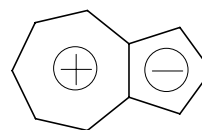
- barva nažloutlá = -NO₂, -NO (s), -N(O)N- (azoxy-), -NH-NH- (hydrazo-), konjugované systémy

žlutá = α-diketony (s) (v roztoku bezb. hydráty!), chinony, nitrofenoly, nitroaniliny, osazoni, azo-sloučeniny

oranžovočervené = nitroaminofenoly, azosloučeniny, nitrofenoly = hydraziny (NH₂.NH-), hydrazony (NH₂.N=), o-chinony, azo-sloučeniny

fialové = azo-sloučeniny, aminoantrachinony

modrá = terpeny, aminoantrachinony, azuleny



zelená = chinhydrony, nitrososloučeniny v roztoku, trifenylmethanová barviva

"hnědá / černá" = organická barviva, oxidovatelné látky

- zápach (zápach příměsí?)

- (chuť !)
sladká = polyoly, α-aminokyseliny
hořká = alkaloidy, kyselina pikrová
kyselá = kyseliny

2/ PŘEDBĚŽNÉ ZKOUŠKY

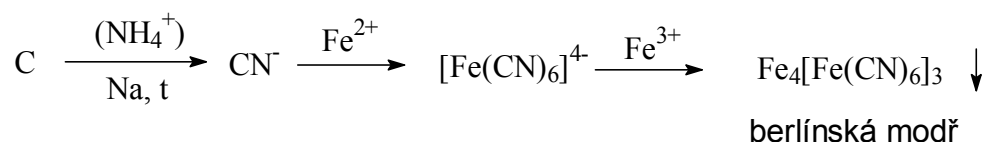
zkouška zahříváním a spalováním

hoření → např. nespalitelný zbytek = soli
čadivost = aromáty
bílé dýmy SiO₂ = silikony

tání a rozklad, exploze, barva plamene, zápach, zhášivost
např. karamelizace sacharidů

důkaz C: pyrolýza bez O₂, → C (černý kok)
pyrolýza s CuO → CO₂ do roztoku Ba(OH)₂

Lassaigneoova zkouška = alkalické reduk. tavení s Na (i pro další prvky, viz dále)



Zkouška na jednotnost vzorku

(l) - odparek, destilační křivka, GC, TLC

(s) - srovnání fyzikálních veličin před a po přečištění (rekrytalizace, chromatografie)

Zkoušky čistoty : 1/ fyzikální konstanty
2/ chromatografická čistota

3/ PŘÍPRAVA INDIVIDUA

zakoncentrování, izolace, čištění

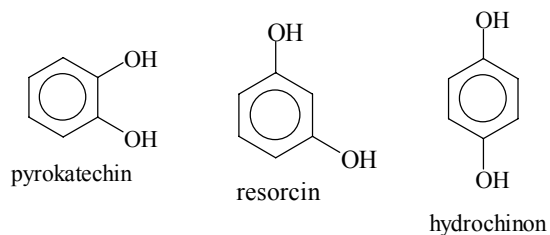
krystalizace, destilace, sublimace, extrakce, vymrazování, pásmové (zónové) tavení,
preparativní chromatografie

4/ STANOVENÍ FYZIKÁLNÍCH KONSTANT

teplota tání

nespecifická, ale důležitá u izomerů:

104 °C, 118 °C, 169 °C



bodotávek, s mikroskopem, Koflerova lavice

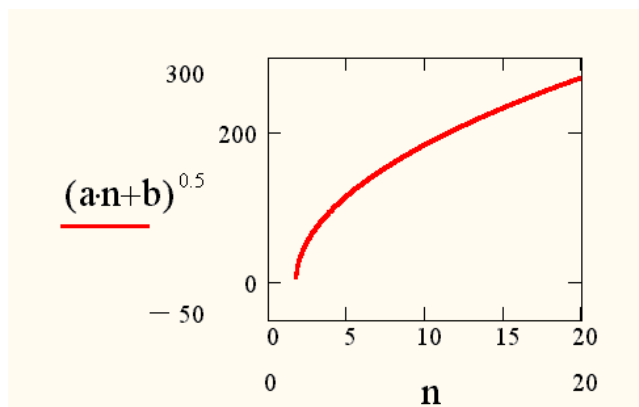
"směsný bod tání" = směs zkoumané a standardní látky má stejnou t.t. → totožné látky

teplota varu

= teplota, kdy se tlak par látky vyrovná okolnímu tlaku

aditivní vlastnost skupin a vazeb,

v homologických řadách - empirické formule (inkrementy skupin $\sigma \approx a, b$)



provedení:

z kapilárky v kapalině umístěné v mikrozkuhavce v lázni (H_2SO_4) vychází nepřetržitě bublinky

index lomu

taveniny (metoda skelného prášku)

kapaliny : inkrementy refrakce atomů/skupin $R_m = \frac{(n^2 - 1)M}{(n^2 + 2) \cdot \rho}$

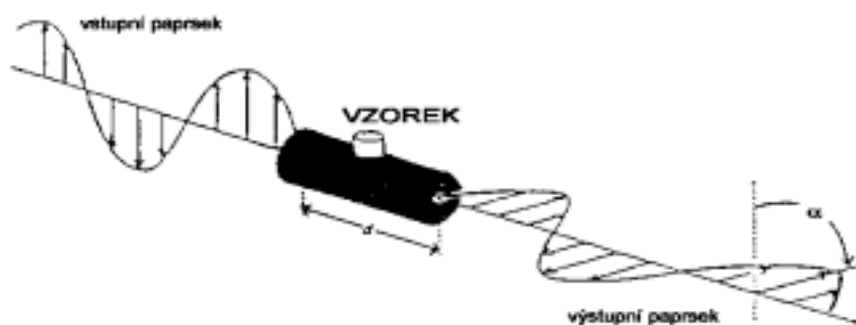
hustota

0,75 - 1,05 g/ml : pyknometricky / Anderssonův mikropyknometr

spektra + spektrální analýza: polohy maxim, pásů, čar a jejich relativní intenzita (viz další přednáška)

optická otáčivost

schopnost krystalu nebo roztoku stáčet rovinu polarizovaného světla



$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{\alpha}{\ell \cdot d} \cdot (100) \dots \dots \dots \text{specifická otáčivost}$$

$$[\alpha_M]_{\lambda}^t = [\alpha]_{\lambda}^t \cdot \frac{M}{100} \dots \dots \dots \text{molární otáčivost}$$

	$[\alpha]_D^{20}$	$[\alpha_M]_D^{20}$
sacharóza	+66,53°	227,12°
D-vinná kyselina	+11,98°	17,98°
D-2-pentanol	+13,70°	12,08°

rozpustnost

pravidla:

- *similis similibus solventur*
- závisí na intermolekulárních silách
- v homologických řadách klesá (makromolekulární látky jsou málo rozpustné)
- závisí na solvataci (dipolární, vodíkové vazby)

rozpuštědla =

- polární (voda)
- "nepolární" (Et₂O)
- reaktivní (5% HCl, 5% NaOH, 5% NaHCO₃, konc.H₂SO₄)

s rozpustností souvisí

rozdělovací konstanta (mezi organickou a vodnou fází)

$$K_D = \frac{[c]_o}{[c]_w}$$

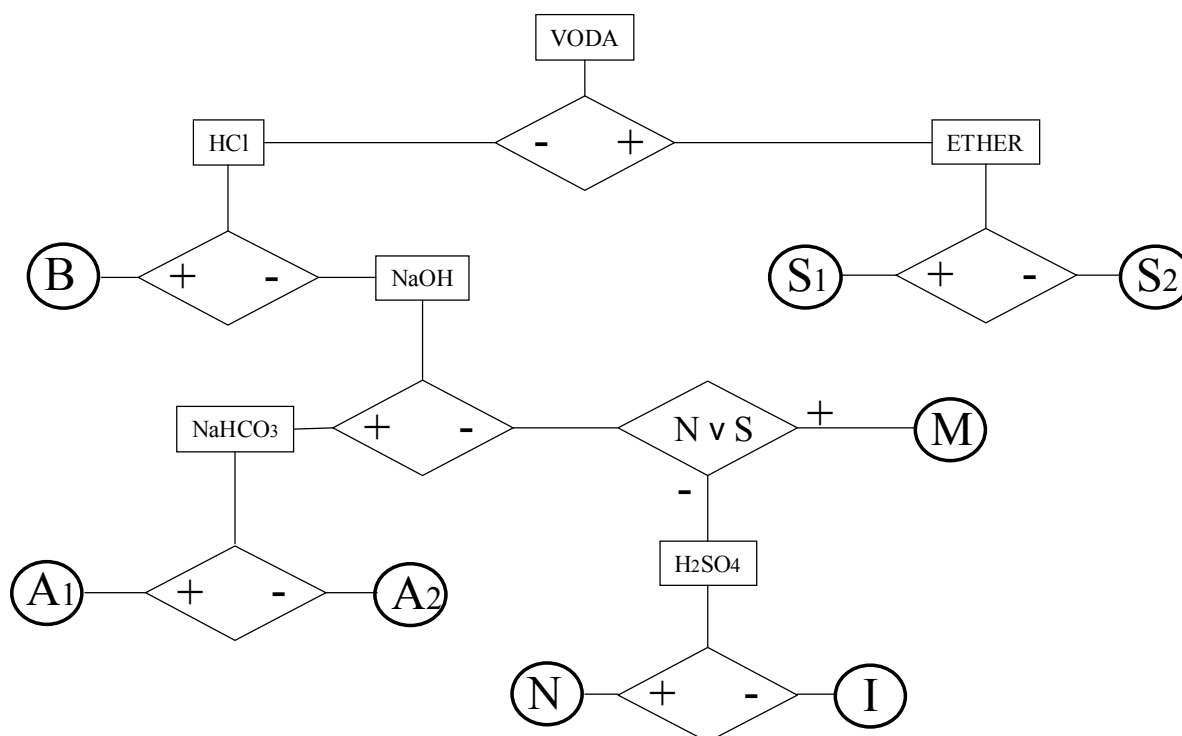
skupiny rozpustnosti:

- | | |
|-----------|--|
| S1 | 1. <u>Látky rozpustné ve vodě i v etheru</u> (monofunkční sloučeniny, obvykle do C5) |
| S2 | 2. <u>Látky rozpustné ve vodě a nerozpustné v etheru</u> (difunkční a polyfunkční sloučeniny) |
| B | 3. <u>Zásadité látky</u> - nerozpustné ve vodě, ale rozpustné v HCl |
| A2 | 4. <u>Slabě kyselé látky</u> - nerozpustné ve vodě i v hydrogenuhličitanu, ale rozpustné v NaOH. |
| A1 | 5. <u>Silně kyselé látky</u> - nerozpustné ve vodě, ale rozpustné v hydrogenuhličitanu |
| N | 6. <u>Neutrální látky obsahující C, H, případně také O a halogeny</u> , které nepatří do předcházejících skupin a jsou rozpustné v konc. kyselině sírové (aromatické a nenasycené uhlovodíky). |
| M | 7. <u>Neutrální látky obsahující také N, případně S a jiné prvky</u> , které nepatří do předcházejících skupin. |
| I | 8. <u>Inertní látky</u> - obsahující jen C, H, případně O a halogeny, které nepatří do předcházejících skupin a jsou nerozpustné v konc. kyselině sírové (např. nasycené uhlovodíky). |

provedení: (s) 3% (w/w)

(l) 5% (v/v)

URČENÍ TŘÍDY ROZPUSTNOSTI



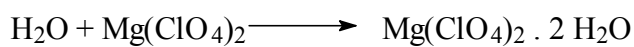
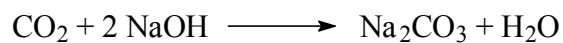
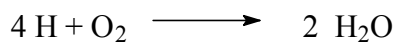
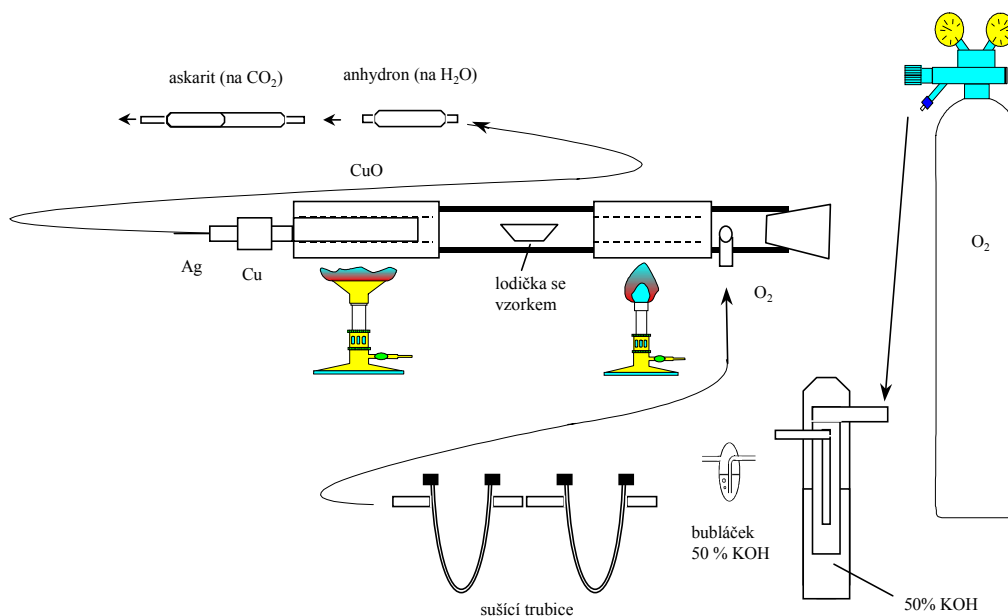
5/ ELEMENTÁRNÍ ANALÝZA

mineralizace : oxidační (kyslík, vzduch, směsi, kyslíkové plazma) → oxidy, halogeny

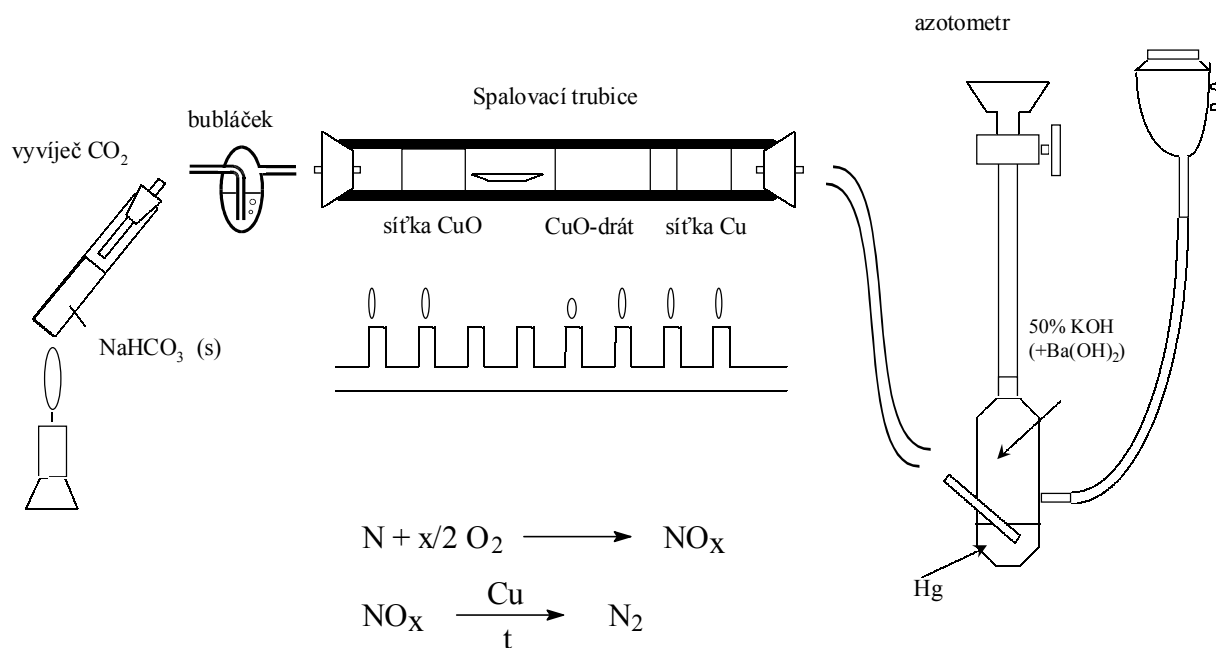
redukční : kovy (Na = Lasseignova zkouška) → C, CN⁻, CO₃²⁻, OH⁻, oxidy, halogenidy, sulfidy

příp. hydrogenace s katalyzátorem (Ni, Pt) v proudu vodíku → amoniak, halogenovodíky

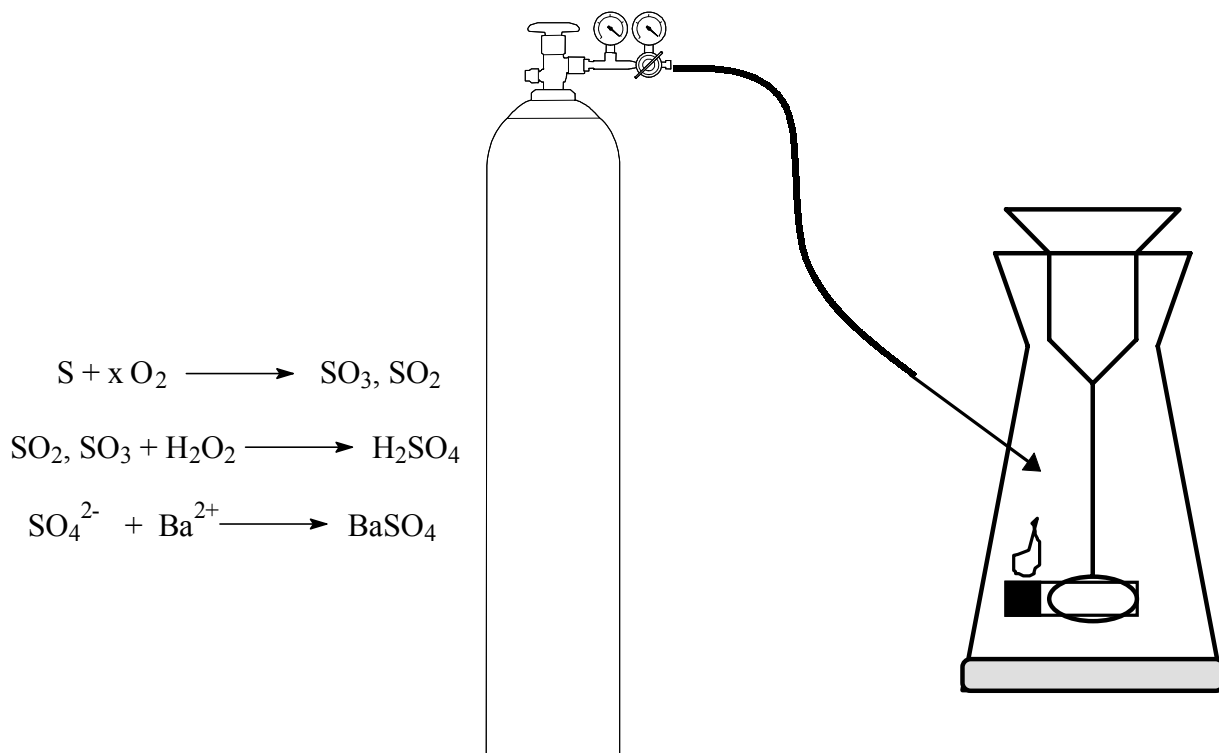
Aparatura na stanovení uhlíku a vodíku



Aparatura na stanovení dusíku dle Dumase a Dubského

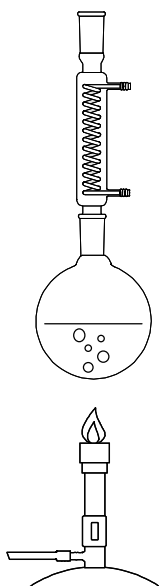


Spalování v kyslíku dle Schönigera (stanovení S)

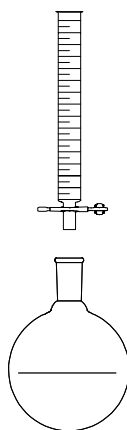


Stanovení N dle Kjeldahla

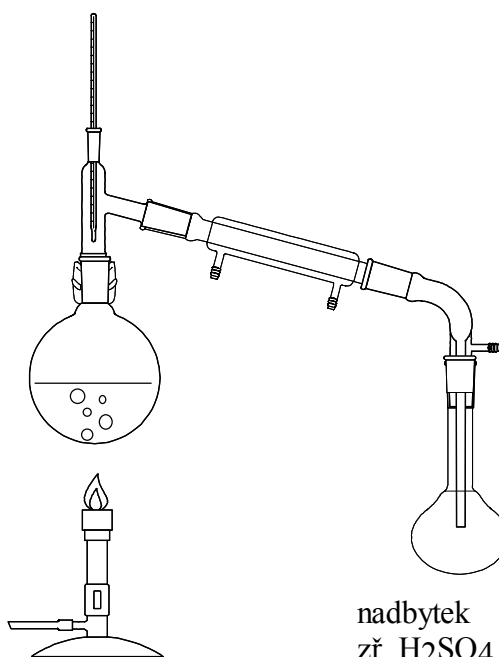
mineralizace
konc. H_2SO_4



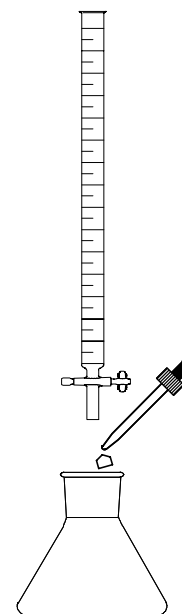
NaOH



destilace



alkalimetrická
titrace NaOH



modifikace stanovení dle Kjeldahla:

heterocyklický N se nemineralizuje ! \Rightarrow katalyzátory Cu^{2+} , Hg^{2+} , Se

pro zvýšení t.v.: K_2SO_4

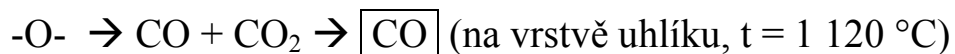
redukovadla: glukóza

Kozák + Jureček: směs kyseliny sírové a chromové (chromsírová směs):

$\text{C-N} \rightarrow \text{NH}_3$, $\text{N-N} \rightarrow \text{N}_2$, $\text{N-O} \rightarrow \text{HNO}_3$

DŮKAZ A STANOVENÍ KYSLÍKU

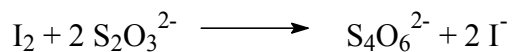
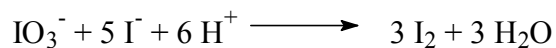
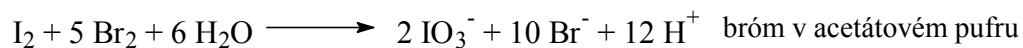
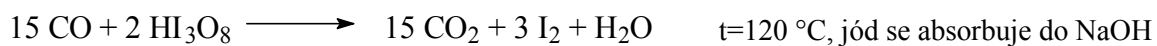
pyrolýza v proudu inertního N₂



důkaz:

- rhodanidem železitým (feroxtest): činidlo Fe[Fe(SCN)₆] zčervená = jednoznačný důkaz přítomnosti O, opačně pouze pravděpodobná nepřítomnost
- $8\ CO + Cu_2Cl_2 \rightarrow 2\ Cu(CO)_4Cl$
- $PdCl_2 + CO + OH^- \rightarrow Pd + CO_2 + H_2O + 2\ Cl^-$ (paladiová čerň)

stanovení: kyselinou hydrogentrijodičnou/oxidem jodičným



DŮKAZ A STANOVENÍ HALOGENŮ

důkaz: Beilsteinova zkouška (v nesvítivém plameni)

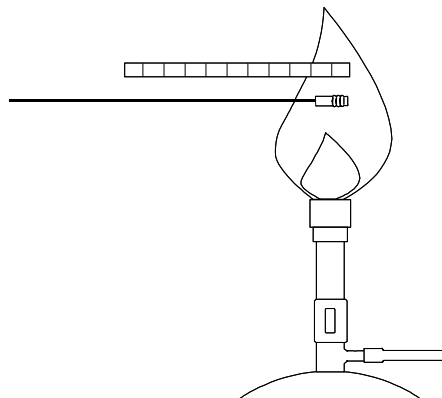
a/ na měděné kopisti

(pozitivně reagují i -CN, -SCN, chelatující....),

proto modifikace:

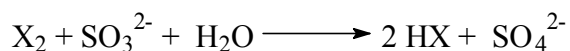
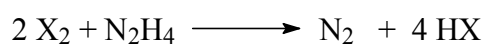
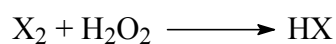
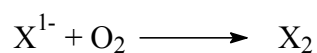
b/ Pt-očko, měděná síťka

--- modrozelené zbarvení halogenidů

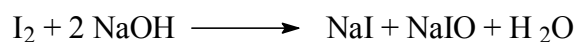
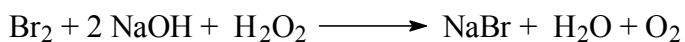


stanovení Cl, Br, I:

spalování v kyslíku dle Schönigera



univerzální absorpce



vlastní stanovení = argentometrie

s indikací bodu ekvivalence barevným indikátorem (chroman), potenciometricky, elektrogravimetricky.....

FLUOR:

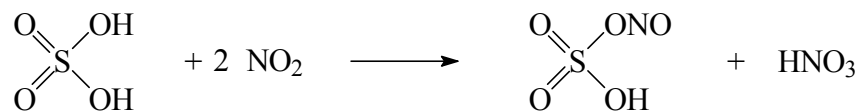
po mineralizaci = F^-

alizarinsulfonová kyselina + $Zr(IV+)$ = červenofialový lak

přítomnost F^- odbarvuje = tvorba $[ZrF_6]^{2-}$

interferenty - zachycení:

NO_x : na granulovaném $\text{MnO}_2 \rightarrow \text{Mn}(\text{NO}_3)_2$ nebo 100% kyseliny sírové



Hg se zachycuje jako amalgám na houbovitém stříbře

CO_2 v hydroxidu draselném (ne sodném)

vysoká automatizace : ANALYZÁTOROVÝ SYSTÉM

stejný princip jako výše: navážení+spalování+(separace)+detekce (GC nebo IČ)

kryoskopie, MS \rightarrow SUMÁRNÍ VZOREC

AUTOMATIZACE V ELEMENTÁRNÍ ANALÝZE

chemicky stejné principy, koncovka GC, IČ



6/ DŮKAZ A STANOVENÍ FUNKČNÍCH SKUPIN

- a) heteroatomy, sumární vzorec
- b) funkční skupiny: -OH, -COOH, -NO₂

- zařazení do třídy rozpustnosti
- klasifikační reakce
- spektra

Důkaz (přítomnost skupiny)

identifikace (srovnání se standardem)

Nasycené uhlovodíky (často směsi)

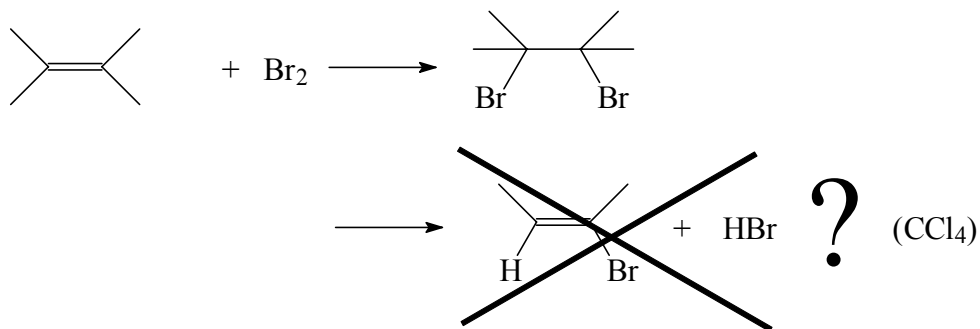
GLC (GSC na adsorbentech či molekulových sítích) → retenční data (např. Kovátsovy indexy), fyzikální konstanty, IČ, NMR.

Nenasycené uhlovodíky

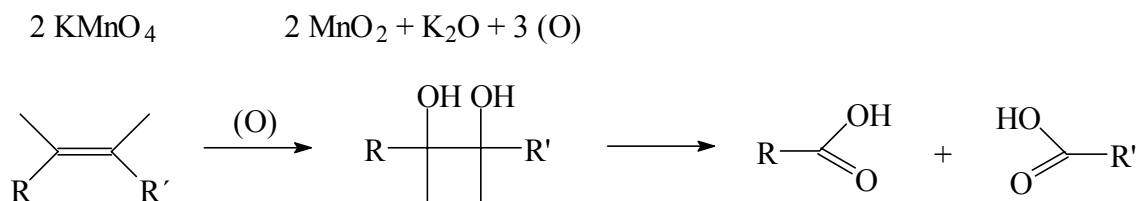
adice nebo oxidace

DVOJNÁ VAZBA (ALKENY=OLEFINY)

důkaz: reakce s Br = odbarvení hnědavého roztoku bromové vody ADICÍ. Kvůli vyloučení substituční reakce lze provádět v CCl₄, kde je bromovodík nerozpustný.



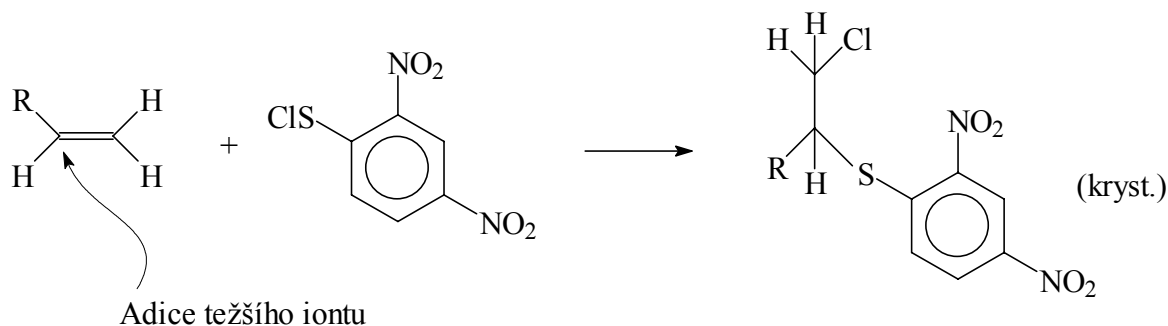
reakce s KMnO_4 v org. nebo vodném roztoku, i suspenzi.



pozn.: reagují i ostatní snadno oxidovatelné látky (aldehydy, alkoholy)!

identifikace: chromatografie, spektra

nebo teplota tání adičních produktů (β -chlorsulfidy), dle Markovnikovova pravidla (při iontové adici se těžší částice aduje na C s menším počtem H) (v případech, kdy R je negativně substituovaný, např. styren)



TROJNÁ VAZBA (ALKINY)

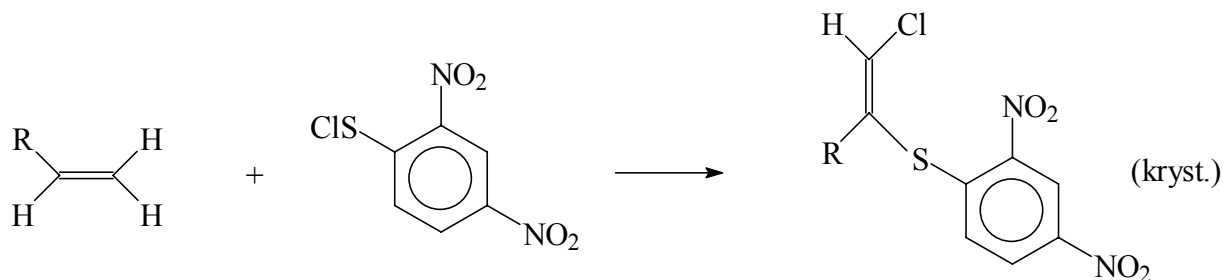
důkaz: jako dvojná (s bromem, s manganistanem)

koncová trojná vazba: amoniakální roztok Cu^+ soli \rightarrow červenohnědá sraženina ACETYLENIDU

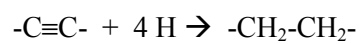
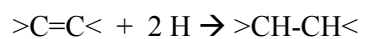
- " - Ag^+ (silně explozivní !!! ☠ NEIZOLOVAT!!!)

monosubst. alkiny: Nesslerovo činidlo (alk. roztok $\text{K}_2[\text{HgI}_4]$) \rightarrow $\text{R}-\text{C}\equiv\text{C}-\text{Hg}$, neexplozivní

identifikace: jako alkeny, β -chlorsulfidy



Katalytická hydrogenace (stanovení nenasycených vazeb)




stanovení: látka je rozpuštěna v kapalině s katalyzátorem (Ni, Pt) a uzavřena s plynným H₂.
Spotřebované množství se stanoví z poklesu objemu nebo tlaku.


AROMÁTY

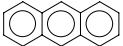
důkaz:

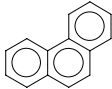
reakce s konc. H_2SO_4 a formaldehydem

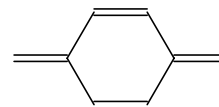
rozpuštěný vzorek (voda, ethanol, ether...) + HCOH (0,001%), $Fe(3+)$, konc. $H_2SO_4 \rightarrow$

barevné produkty:  benzen - oranžový

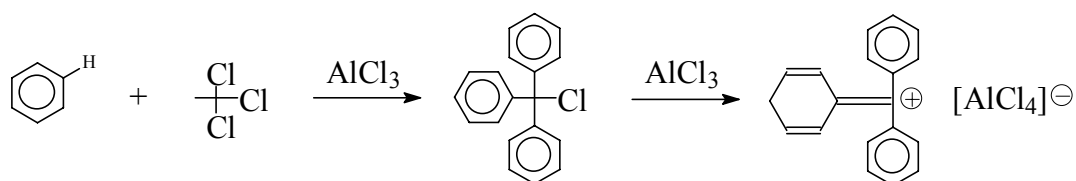
 naftalen - modré

 anthracen - šedě fialové

 fenanthren - zelenomodré



Friedel-Craftsova alkylace



benzen - oranžová

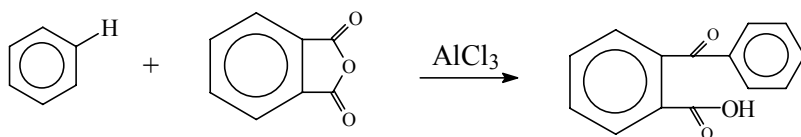
naftalen - modrá

anthracen - zelená

fenanthren - purpurová

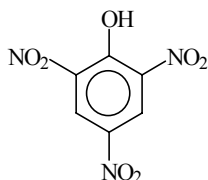
identifikace:

- UV spektrum : zakázaný pás 260-280 nm, fluorescence !
- chromatografie: HPLC, GC
- nitrace + t.t. krystalických produktů
- sulfonace (krystalické sulfonamidy)
- **Friedel-Craftsova acylace** (vzniká kyselina aroylbenzoová)

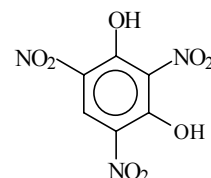


- π -komplexy s polynitrosoučeninami

kys. pikrová



kys. styfnová



oxidace alk. roztokem $KMnO_4$ nebo CrO_3 v konc. kyselině octové

monoaryl \rightarrow vždy 

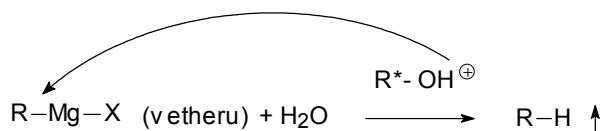
polyaryly \rightarrow chinony

HYDROXYSLOUČENINY

důkaz:

kyselý vodík

- reakce s Na → H₂ (g)
- s Grignarovým činidlem R-Mg-X (vetheru)



ALKOHOLY

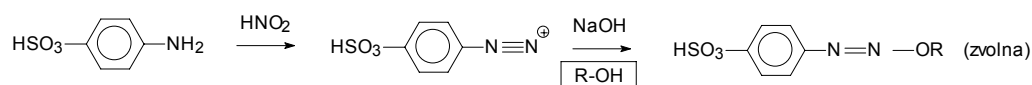
důkaz :

- s hexanitrátoceřičitanem amonným (ve vodě nebo dioxanu)



→ červeně zbarvené komplexy (fenoly zelenohnědé), srov. s reakcí fenolů s chloridem železitým

- s kyselinou sulfanilovou v alkalickém prostředí



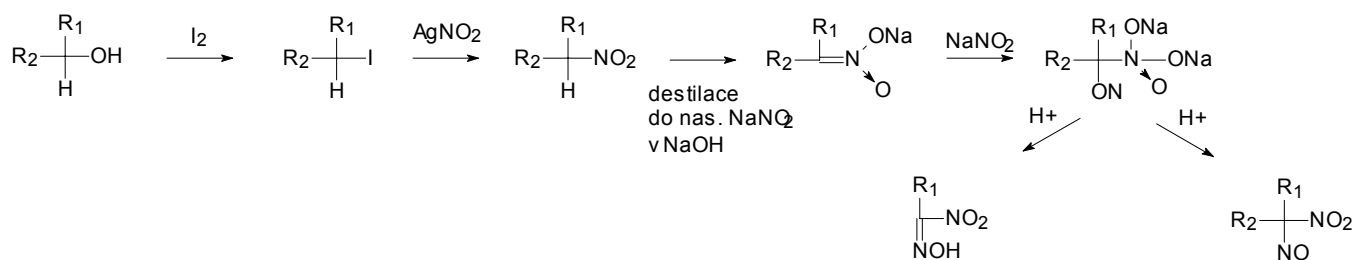
(srov. rychlou kopulaci s fenoly)

- se sirouhlíkem a hydroxidem draselným → alkylxanthogenany



xanthogenany lze dokázat CuSO₄ → hnědá/žlutá sůl Cu(S₂OR)₂

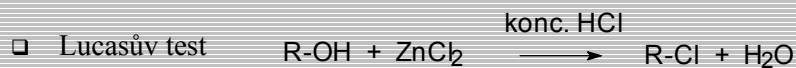
odlišení primárních, sekundárních a terciálních alkoholů: Nitrolový test



primární: červený erytronitrolan sodný se další kyselinou odbarví na kyselinu nitrolovou (reverzibilně)

sekundární: pseudonitrol = modrozelený/modrý (alkalizací se barva nemění)

terciální: nereagují



různá rychlost tvorby alkylchloridů (vzniká **zákal** alkylchloridu resp. org. fáze):

terciální - ihned

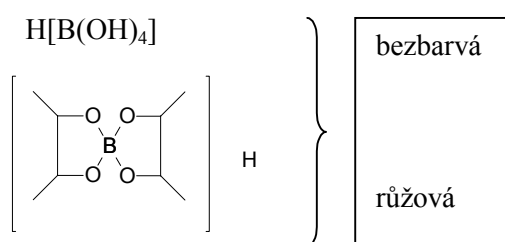
sekundární - po chvíli

primární - až po zahřátí

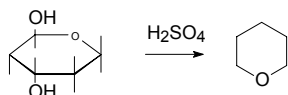
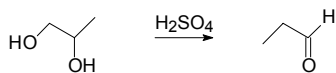
VÍCEMOCNÉ ALKOHOLY

Důkaz:

- 1,2-polyoly: kyselější cheláty s kyselinou boritou, pak titrace → Na-sůl + fenolftalein:

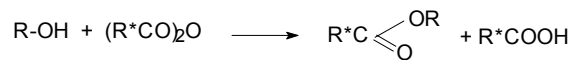


- dehydratace (H_2SO_4 , $KHSO_4$): vznikají aldehydy, deriváty furalu



identifikace:

- esterifikace, acetanhydridem (lepší než kyselina, protože nevzniká voda) v pyridinu



(pak titrace vzniklé kyseliny)

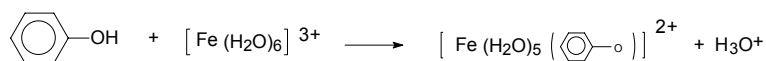
- IČ, NMR, chromatografie

FENOLY

kyslejší vodík -OH skupiny, proto rozpustnější v NaOH (fenolát): možnost separace od alkoholů

důkaz:

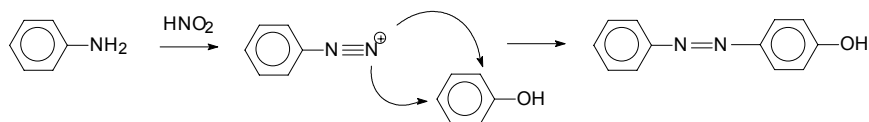
- reakce s chloridem železitým: fialové/modré/červené/zelené zbarvení (alkoholy - nevýrazná žlut')



případně chelátů u 1,2-(poly)hydroxyfenolů

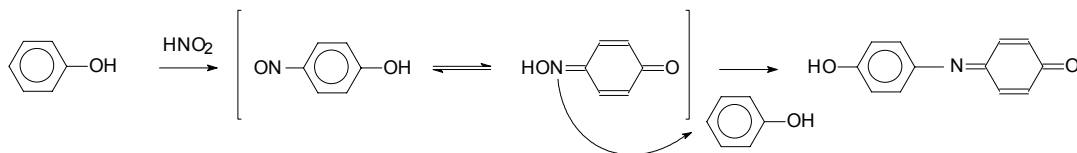
pozn.: pozitivní těž arom. aminy

- kopulace (obvykle s kyselinou sulfanilovou)



zalkalizováním NaOH červené/fialové roztoky

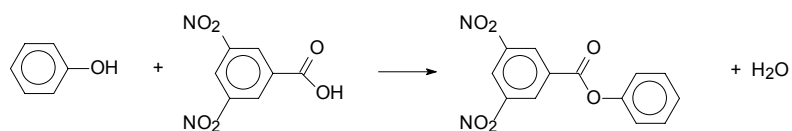
- Liebermannova reakce I (prostředí H₂SO₄)



→INDOFENOL: zbarvení intenzivně modré/zelené, po zředění vodou červené.

Identifikace:

estery kyseliny 3,5-dinitrobenzoové (je-li t.t. > 200 °C, pak p-nitrobenzoové nebo benzoové)



nebo substituce na aromatickém jádře (nitrace, bromace)

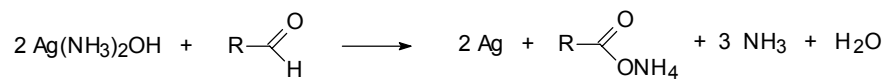
IC, NMR, GC

KARBONYLY

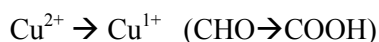
I. ALDEHYDY

důkaz: redukční vlastnosti

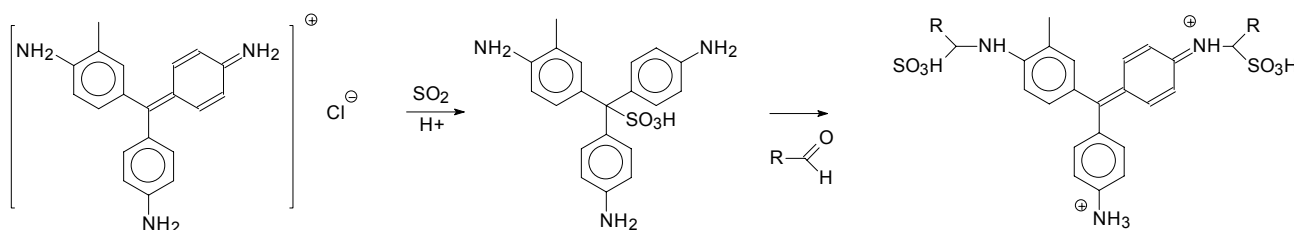
- Tollensovo činidlo (amoniakální roztok soli Ag⁺)



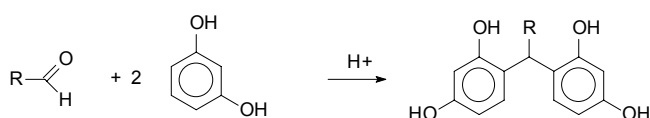
- pro alifatické aldehydy - Fehlingovo činidlo (Fehling I = CuSO₄, Fehling II = vínan sodnodraselný v NaOH), aromatické aldehydy nereagují !



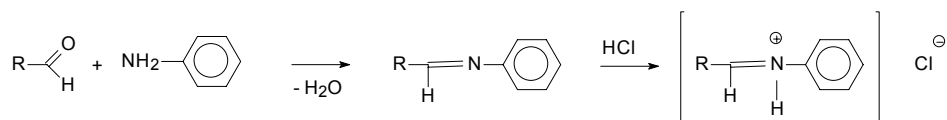
- Schiffovo činidlo (vodný roztok fuchsinu odbarvený SO₂) → fialově / modře



- reakce s polyfenoly (1,4-dihydroxynaftalen, resorcinol, fluoroglucin, β-naftol) v minerální kyselině → červené zbarvení

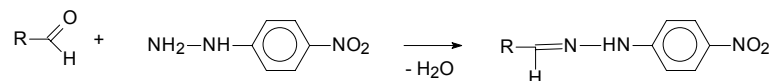


- kondenzace s primárními aromatickými aminy (benzidin) za vzniku Schiffových bází:

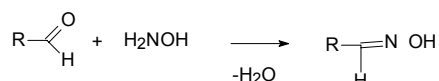


Identifikace:

- kondenzace s arylhydraziny (p-nitrofenylhydrazin) v kyselém prostředí, vznikají arylhydrazony (reagují i ketony), pak stanovení t.t. nebo TLC



- reakcí s hydroxylaminem: vznikají oximy (v alkalickém ethanolu), reagují i ketony

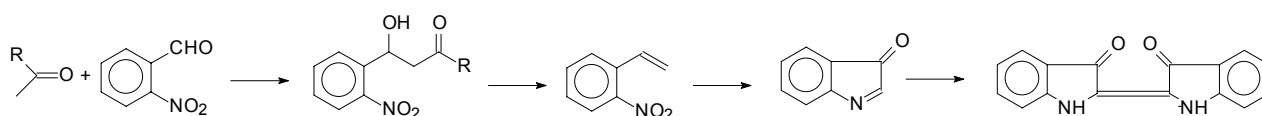


II. KETONY

Důkaz:

(některé viz aldehydy)

- methylketony: s o-nitrobenzaldehydem, vzniká INDIGO



pozn.: z aldehydů reaguje pouze acetaldehyd

Identifikace:

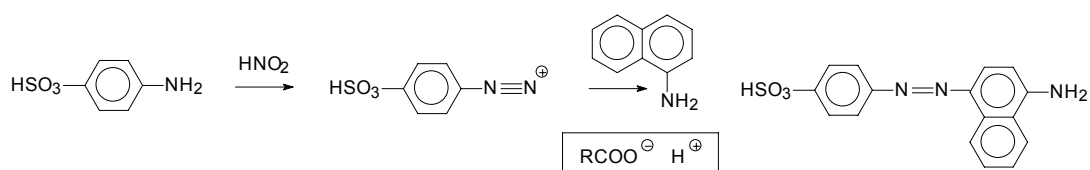
viz aldehydy

KARBOXYLOVÉ KYSELINY

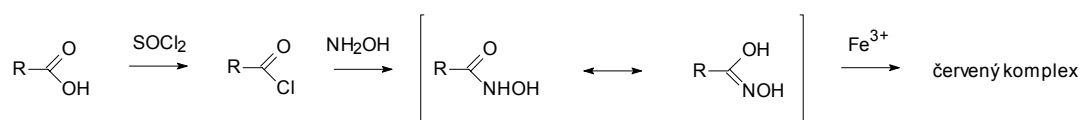
Důkaz:

reaktivita (kyselost) -COOH skupiny

- pH vodného (ethanolického roztoku), ruší jiné *kyselé* skupiny: sulfo-, nitro-
- kopulace s kyselinou sulfanilovou a α -naftylaminem, pouze v **kys. prostředí** vzniká intenzivní červené / oranžové zbarvení.

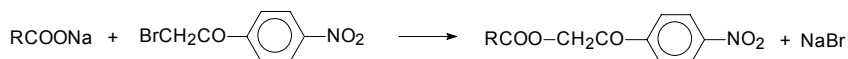
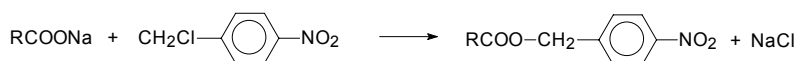


- HYDROXÁMOVÝ test, vznikající kyselina hydroxámová poskytuje s Fe(3+) červený komplex

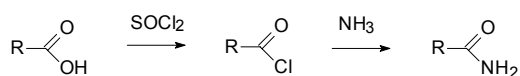


Identifikace:

- soli Ag⁺: $\text{RCOOH} + \text{Ag}^+ \rightarrow \text{RCOOAg} + \text{H}^+$ (např. titračně)
možno stanovit M gravimetricky po vyžhání: stanoví se %Ag, pak $(M-1+107,9) : 107,9 = 100 : \% \text{Ag}$
- estery: benzylestery nebo fenacylestery (varem komponent v alkoholu, vhodné pro TLC, GC)



- amidy:



- ITP / IČ

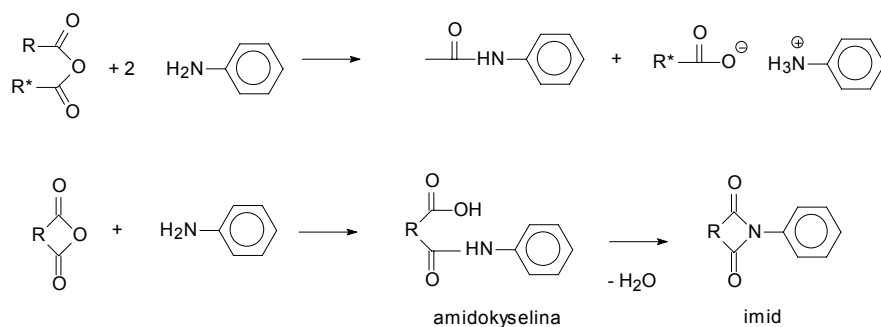
ANHYDRIDY KARBOXYLOVÝCH KYSELIN

Důkaz:

- hydroxámový test (viz karboxylové kyseliny) přímo s hydroxylaminem, bez sulfochloridu, červený komplex s Fe(3+)

Identifikace:

- po hydrolyze → karboxylové kyseliny (viz výše), tuhý preparát má charakteristickou t.t.
- kapalně anhydridy: reakce s aromatickými aminy - rozlišení acyklické / cyklické

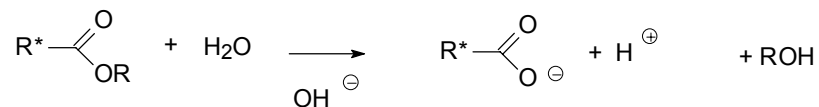


- estery - s alkoholy nebo fenoly (viz výše)

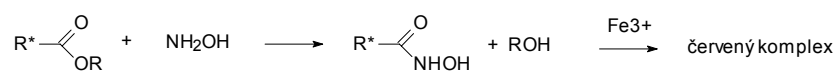
ESTERY KARBOXYLOVÝCH KYSELIN

důkaz:

- odbarvení fenolftaleinu při alkalické hydrolyze



- hydroxámový test

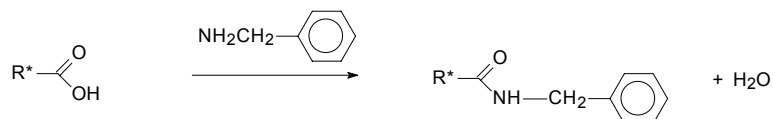


identifikace:

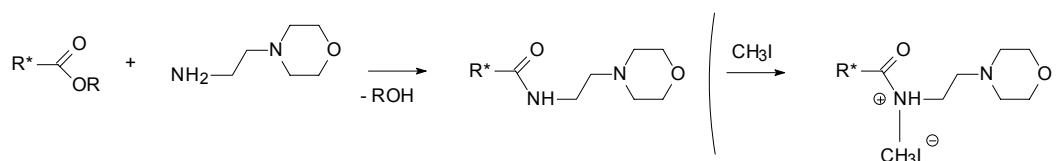
přímo: instrumentální metody

nepřímo: identifikace produktů hydrolyzy (kyselé a alkoholové složky)

s benzylaminem



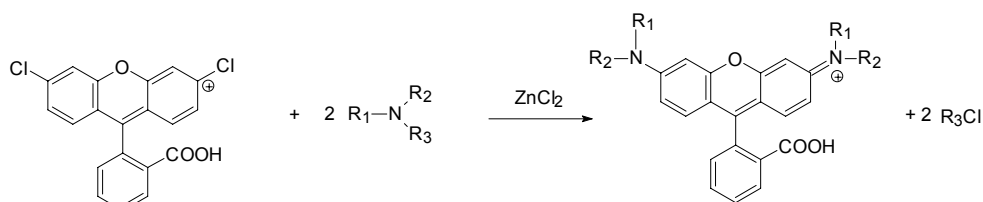
s N-β-aminoethylmorfolinem → morfolid (pokud je kapalný, reakcí s methyljodidem vznikne kvartérní sůl)



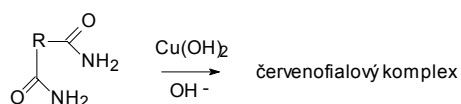
AMIDY A IMIDY

Důkaz:

- (stejně jako primární aminy) tavení s fluoresceinchloridem → **růžové** rhodaminové barvivo se žlutozelenou fluorescencí

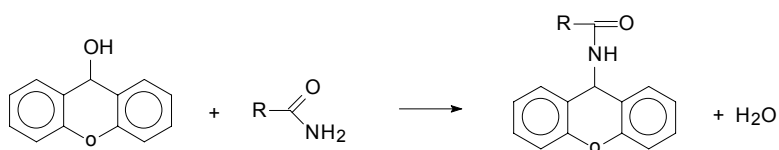


- hydroxámový test (ale s hydroxylaminem za vyšší teploty, např. v propylen glykolu)
- biuretová reakce (nutné dvě amidové skupiny, reagují i vyšší proteiny)

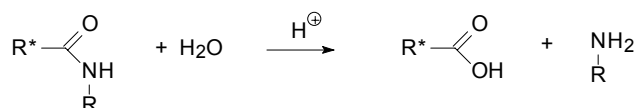


Identifikace:

- reakce s xant-hydrolem, vznikají N-xanthyl-amidy



- kyselá hydrolyza, pak identifikace kyselé a zásadité složky zvlášť (nebo s chromatografickou separací)

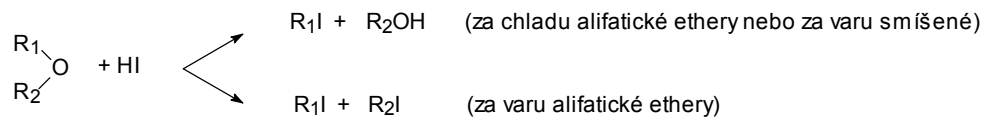


- redukce amidu na amin (viz dále)

ETHERY

Důkaz:

v silně kyselém prostředí vznikají oxoniové soli, nízká reaktivita

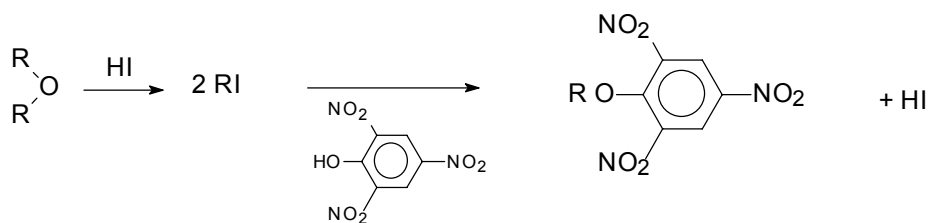


alkyljodid se dále sráží s alkoholickým roztokem AgNO_3 ($\downarrow \text{AgI} \cdot \text{AgNO}_3$)

- instrumentálně: MS / IČ, C-O vibrace $1060\text{-}1150 \text{ cm}^{-1}$ nebo $1250\text{-}1275 \text{ cm}^{-1}$

Identifikace:

- derivatizace vzniklých alkyljodidů (viz důkaz) chromatograficky
- příprava pikranů (směs, pokud $\text{R}_1 \neq \text{R}_2$)



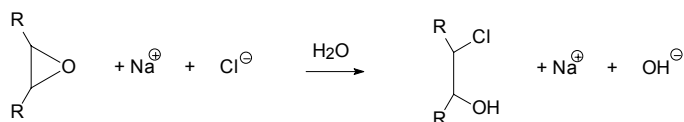
- pyrolýza alifatických etherů, vznikají karbonyly, možno i reakční GC

EPOXIDY

důkaz:

velmi reaktivní sloučeniny

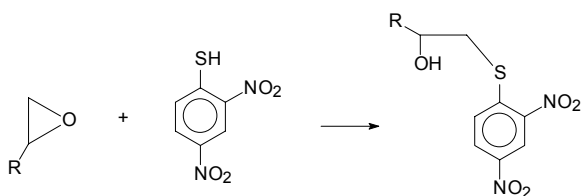
- vodný roztok NaCl se alkalizuje (indikace např. fenolftaleinem)



pozn.: podobně v roztoku FeCl_3 vzniká hydrolyzou sraženina $\text{Fe}(\text{OH})_3$

identifikace:

- reakce s 2,4-dinitrothiofenolem, vzniká krystalický sulfid (thioether)



PEROXIDY

důkaz:

velmi reaktivní, zahřátím nebo stykem s konc. H_2SO_4 EXPLODUJÍ !!!

- vyloučení jódu z jodidu (oxidační vlastnosti peroxidů)
- silnějším oxidačním činidlem = $\text{Ti}^{4+}(\text{SO}_4)_2$ v kys. sírové \rightarrow žluté zbarvení $\text{Ti}(3+)$ komplex

Identifikace:

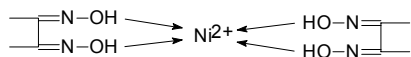
rozklad + analýza produktů, IČ

AMINY

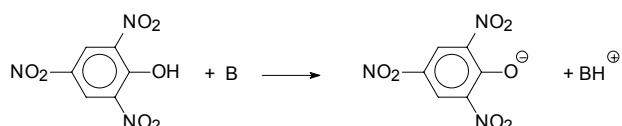
důkaz:

bazicitu amino-skupiny

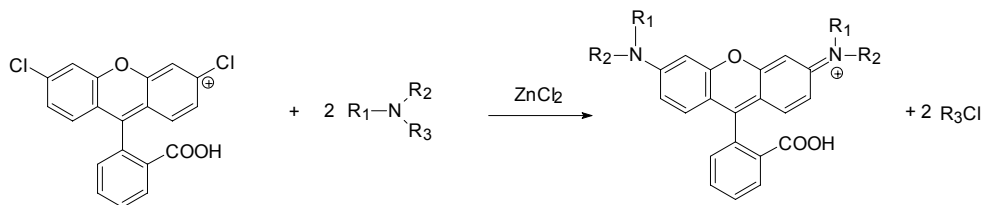
- komplex nikelnatý s dimethylglyoximem : zružování komplexu pouze v bazickém prostředí (disociace oximu)



- vznik žlutého pikrátu z kyseliny pikrové



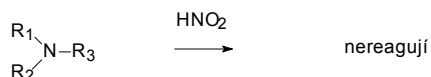
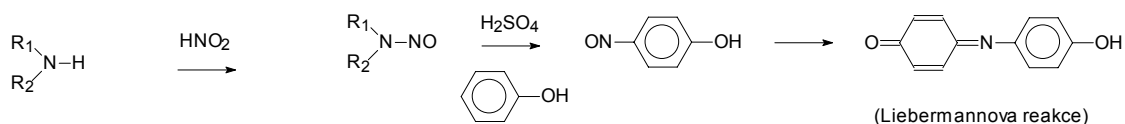
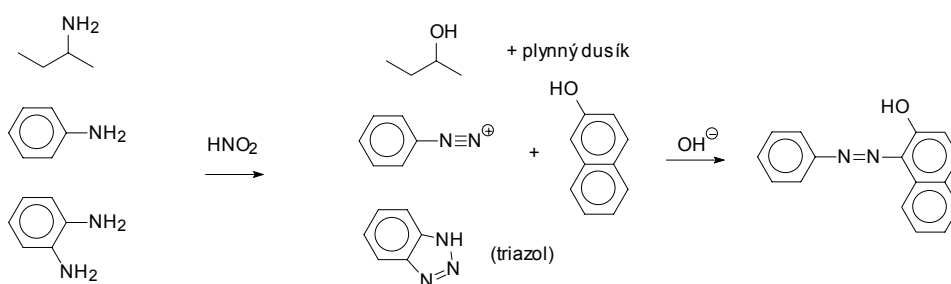
- reakce s fluoresceinchloridem (viz amidy) = tavení hydrochloridu aminu s přebytkem $ZnCl_2$



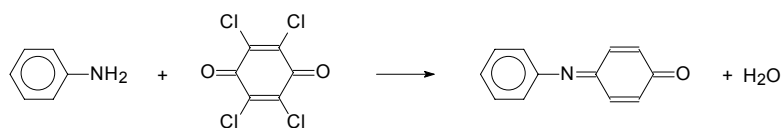
→ růžové zbarvení, žlutozelená fluorescence

- reakce s kyselinou dusitou

PRIMÁRNÍ aminy, SEKUNDÁRNÍ aminy, TERCÍÁLNÍ AMINY nereagují



- rozlišení aromatických aminů: reakce s chloranilem



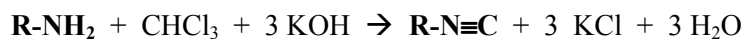
primární : červené

sekundární : fialové

terciální : zelené

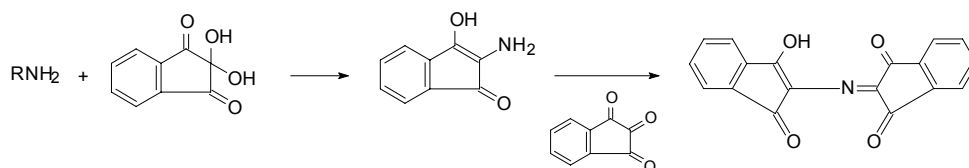
důkaz primárních (alif. i arom.) aminů:

- isonitrilová reakce



zahřátím vzorku s hydroxidem a chloroformem v alkoholu vnikají páchnoucí isonitrily

- ninhydrinová reakce (i k důkazu aminokyselin) - modrofialové zbarvení



důkaz sekundárních aminů:

nitroprusid sodný v Na₂CO₃ a acetaldehydem → modrofialové zbarvení

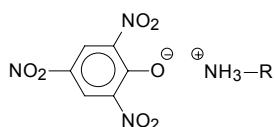
ruší primární aminy v acetonu

důkaz terciálních aminů:

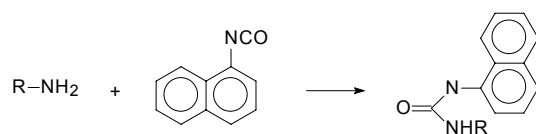
[BiI₄]⁻ (Dragendorffovo činidlo) → oranžovočervená sraženina

Identifikace:

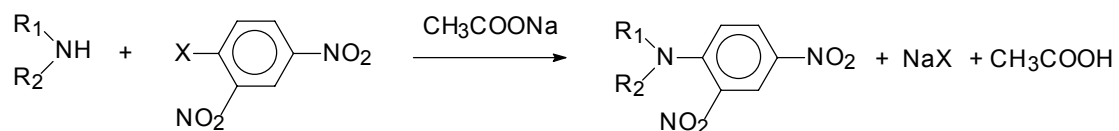
- jako bazický kation (kvartérní N) v soli kyselin (dle bazicity) = krystalické sloučeniny



- s α -naftylisokyanatanem (případně -thio-) \rightarrow deriváty močoviny (thiomočoviny)



- pro prim. a sekund. aminy: substitucí aromatického halogenu, vznikají N-substituované arylaminy



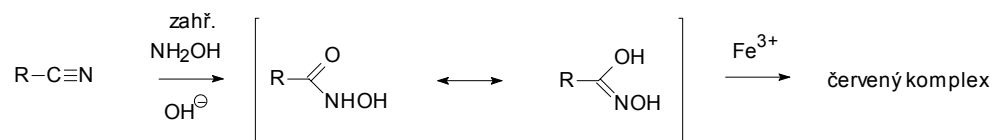
- primární aminy : možnost diazotace a kopulace s 2-naftolem

NITRILY A ISONITRILY

Důkaz:

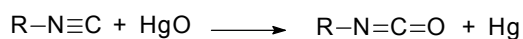
nitrily:

- hydroxámový test za zvýšené teploty a v alkalickém prostředí



isonitrily: zápach, velmi reaktivní

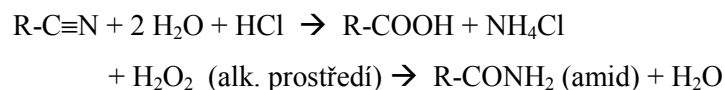
- odbarvení bromové vody
- oxidace na isokyanáty



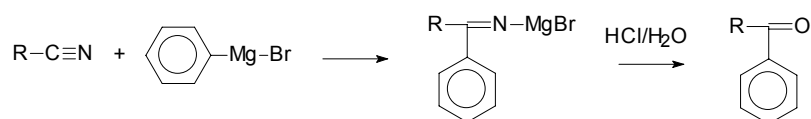
Identifikace:

nitrily:

- nitrilová syntéza karboxylových kyselin (var s kyselinou pod zpětným chladičem)



- reakce s Grignarovým činidlem + kyselá hydrolyza, vzniká keton

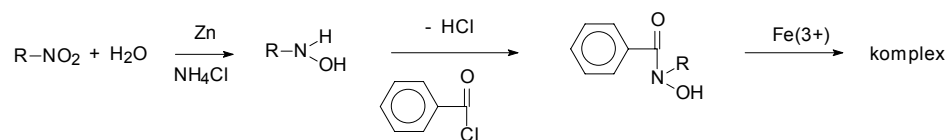


isonitrily: viz reakce s HgO

NITROSLOUČENINY

Důkaz:

- ❑ redukcí zinkem vznikne hydroxylamin, pak acylací vznikne N-subst. benzhydroxamová kyselina, která reaguje podobně jako v hydroxamovém testu: s Fe(3+) tvoří barevný komplex



- ❑ terciární nitrosloučeny $\text{R}_1\text{R}_2\text{R}_3\text{C-NO}_2$ lze redukovat (Zn/Sn/elektrolytickou) na nitroso- (viz dále)

Identifikace:

- ❑ redukce (Zn, Sn, SnCl_2) na amin
- ❑ titrace TiCl_3 (určení ekvivalentů NO_2)

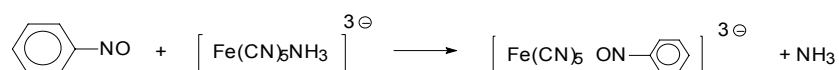
NITROSOSLOUČENINY

Důkaz:

C-NO látky: v org. rozpouštědlech = modré/zelené

N-NO látky: v org. rozpouštědlech = žluté

- ❑ reakce s aminopentakyanoželeznatanem sodným = modrozelený komplex



Identifikace:

- ❑ redukce (Zn, Sn, SnCl_2) na amin

AZO-, AZOXY-, HYDRAZO- SLOUČENINY

Důkaz: (včetně DIAZO)

□ vznik elementárního dusíku při oxidaci chromsírové kyseliny

□ redukce na aminy + jejich identifikace:
$$\text{R}_1\text{-N=N-R}_2 \xrightarrow{\text{Zn/H}^+} \text{R}_1\text{-NH}_2 + \text{NH}_2\text{-R}_2$$

REDUKCE

činitla: Sn+HCl, Zn+HCl, SnCl₂ + HCl, TiCl₃, Fe+alkoh. NaOH

možnosti redukce nitro-, nitroso-, azo- a hydrazo- skupin na aminy

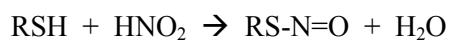
látka	reakce	pozn.
nitro- (alif. i arom.)	$\text{R-NO}_2 + 6 \text{H} \rightarrow \text{R-NH}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$	
nitroso-	$\text{R-NO} + 4 \text{H} \rightarrow \text{R-NH}_2 + \text{H}_2\text{O}$	
azo-	$\text{ArN=NAr}^* + 4 \text{H} \rightarrow \text{Ar-NH}_2 + \text{Ar}^*\text{-NH}_2$	
azoxy- (alif. i arom.)	$\text{R-ON=NR}^* + 2 \text{H} \rightarrow \text{R-N-NR}^* + \text{H}_2\text{O}$ $\text{Ar-ON=NAr}^* + 6 \text{H} \rightarrow \text{Ar-NH}_2 + \text{Ar}^*\text{-NH}_2 + \text{H}_2\text{O}$	mírnou redukcí Zn v NaOH energickou red. Sn v HCl
hydrazo- (arom.)	$\text{ArNH. NHAr}^* + 2 \text{H} \rightarrow \text{Ar-NH}_2 + \text{Ar}^*\text{-NH}_2$	

SIRNÉ SLOUČENINY

THIOLY

Důkaz: nepříjemný zápach

- reakce s HNO_2 , barevné produkty

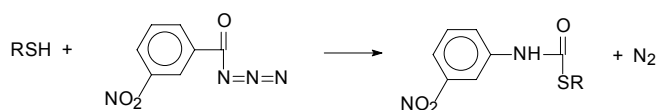


- oxidací: mírnou (jód) =disulfidy, silnou (KMnO_4 , HNO_3) =sulfonové kyseliny

Identifikace:

- thioalkoholy: thiolkoholáty těžkých kovů (Ag, Cu, Pb, Hg) = kryst. sraženiny

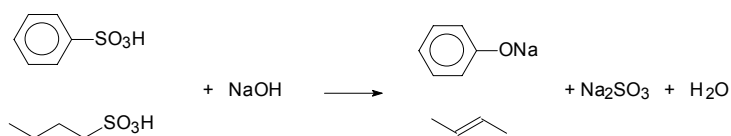
- příprava esteru kyseliny m-nitrofenyl thiokarbaminové



SULFONOVÉ A SULFINOVÉ KYSELINY

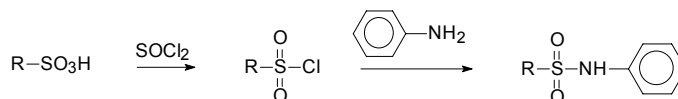
Důkaz: zkouška kyselosti

- sulfinové kyseliny jsou velice reaktivní, nerozpustné ve vodě
- v tavenině s NaOH (rozlišení aromatických a alifatických)



Identifikace:

- sulfinové kyseliny s $\text{FeCl}_3 \rightarrow$ červenooranžové sraženiny
- reakce s thionylchloridem a anilinem = sulfonamidy



- TLC, GC, IČ

HALOGENSLOUČENINY

Důkaz:

elementární analýza

reaktivita C-I > C-Br > C-Cl

(obecně reaktivní benzylX nebo allylX,

substituce S_N1 reaktivita terc.>sek.>prim.

S_N2 reaktivita prim.>sek.>terc.)

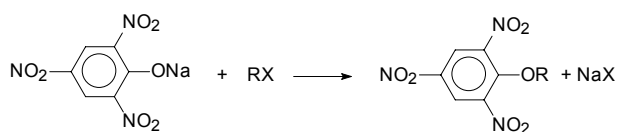
ALKYLHALOGENIDY

□ polyhalogenidy: s pyridinem v NaOH: červené zbarvení

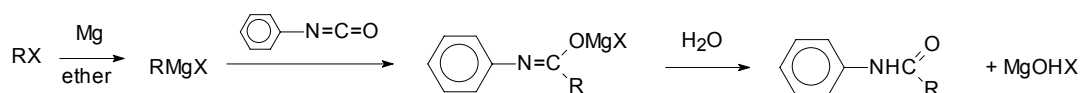
□ alkylační účinky + příprava Grignarova činidla

identifikace:

□ substituce, např.

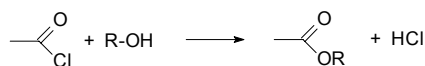


□ příprava Grignarova činidla + reakce s isokyanatany



vzniká anilidalkyl ketonu

□ acetylace alkoholů, reaktivní acetylchlorid, stanovení HCl / HAc




ARYLHALOGENIDY


důkaz i identifikace jako u arom. uhlovodíků

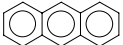
důkaz:

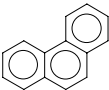
reakce s konc. H_2SO_4 a formaldehydem

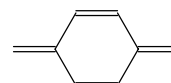
rozpuštěný vzorek (voda, ethanol, ether...) + HCOH (0,001%), $Fe(3+)$, konc. $H_2SO_4 \rightarrow$

barevné produkty:  benzen - oranžový

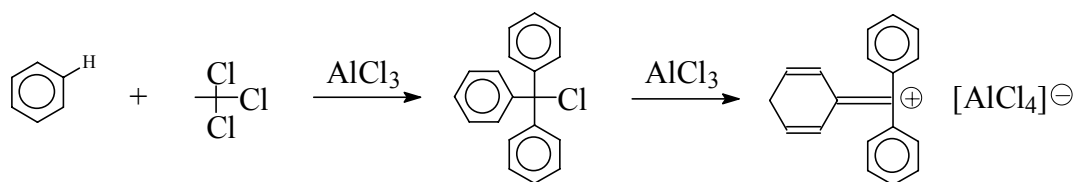
 naftalen - modré

 anthracen - šedě fialové

 fenanthren - zelenomodré



Friedel-Craftsova alkylace



benzen - oranžová

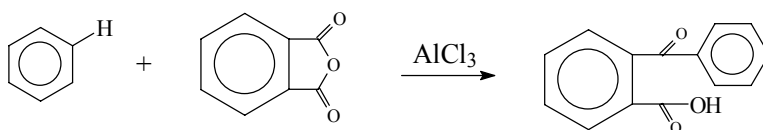
naftalen - modrá

anthracen - zelená

fenanthren - purpurová

identifikace:

- UV spektrum : zakázaný pás 260-280 nm, fluorescence !
- chromatografie: HPLC, GC
- nitrace + t.t. krystalických produktů
- sulfonace (krystalické sulfonamidy)
- Friedel-Craftsova acylace (vzniká kyselina aroylbenzoová)



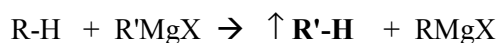
STANOVENÍ ORGANICKÝCH SLOUČENIN NA BÁZI REAKCÍ JEJICH FUNKČNÍCH SKUPIN

STANOVENÍ AKTIVNÍHO VODÍKU

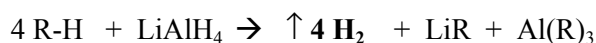
Aktivním vodíkem nazýváme H vázaný na O, N, S (nebo C), který je aktivován sousedními částmi molekuly (snížení hustoty elektronů) = kyselý vodík.

Použití: sumární vzorec (lze použít i selektivní reakce), řešení konstituce: *příklad: nalezený C₈H₁₈O by mohl být ether nebo alkohol, nepřítomnost akt. H ukazuje na ether, 1 akt. H na alkohol.*

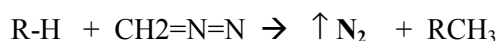
□ s Grignarovým činidlem



□ s hydridy



□ s diazomethanem



uvolněný plyn se změní volumetricky (p,T=konst.) nebo manometricky (V,T=konst.)

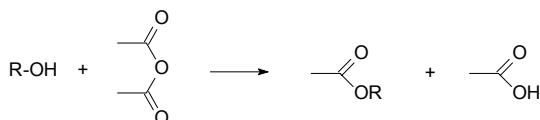
STANOVENÍ HYDROXYSLOUČENIN (C-OH)

reaktivita prim. / sekundárních / terc. alkoholů / fenolů je velmi odlišná: neexistuje univerzální metoda

I. TVORBOU ESTERŮ

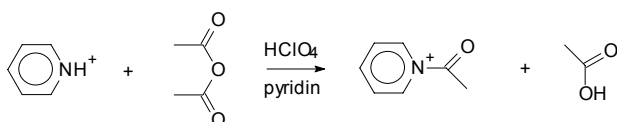
ACETANHDRID

- s acetanhydridem v prostředí pyridinu

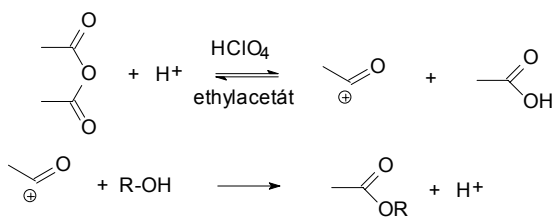


nutno zvýšení teploty, fenoly nereagují kvantitativně, proto se modifikací tvoří účinnější kationty:

- s acetanhydridem v prostředí pyridinu, katalýza HClO_4 (N-acetylpyridiniový kationt je lepší acetylační činidlo)



- s acetanhydridem v prostředí ethylacetátu, katalýza HClO_4 (acetylový kationt je lepší acetylační činidlo)



vyhodnocení:

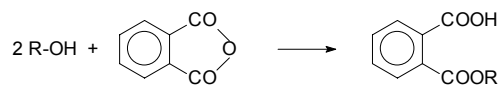
A/ vždy se přidá voda, vzniká kyselina octová navíc i z nezreagovaného anhydridu.

provede se slepý pokus, rozdíl určuje množství acetylačního činidla \approx množství -OH.

B/ směs se zneutralizuje na $\text{pH}=7$, pak se přidá nadbytek hydroxidu a určí jeho množství potřebné ke zmýdelnění esteru (zmýdelnění je hydrolyza esteru za vzniku kyseliny a alkoholu)

nevýhody: těkavost činidla, ruší karbonyly

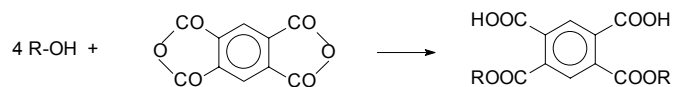
FTALANHYDRID



výhody: stálé činidlo, neruší karbonyly

nevýhody: zvýšená teplota, reakční doba až 2 hodiny, kvantitativně nereagují stericky bráněné

DIANHYDRID KYSELINY PYROMELITHOVÉ

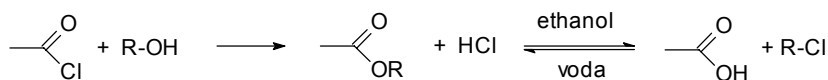


výhody: reagují jen alkoholy vedle fenolů.

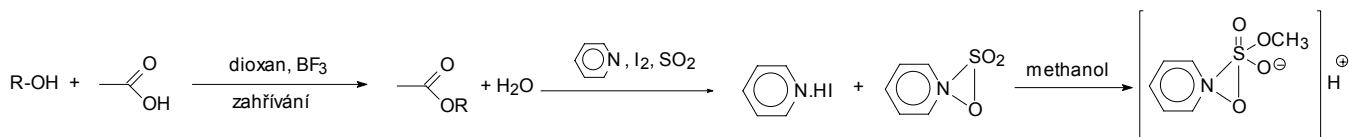
ACETYLCHLORID

velmi reaktivní acetyl, vzorek se ale musí rozpustit v toluenu, činidlo v pyridinu.

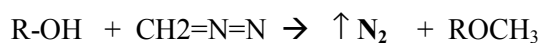
Pak se přidá voda a ethanol, titrují se uvolněné kyseliny (KOH v ethanolu). Rozdíl od slepého pokusu odpovídá množství HAc ve formě esteru.



KYSELINA OCTOVÁ (esterifikace s titrací vody dle K. Fischera, biamprometrická indikace b.e.)



DIAZOMETHAN



II.

ACIDOBAZICKÁ TITRACE

nitroalkoholy, fenoly ($pK_{ArOH} = 9$)

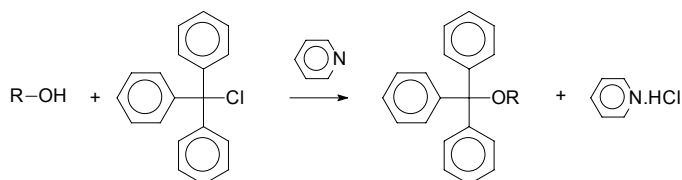
alkalimetry ve vodném (NaOH) nebo TBA.OH v MetOH, případně v bazických rozpouštědlech (pyridin, DMFA)

III.

SPEKTROFOMETRICKÉ STANOVENÍ

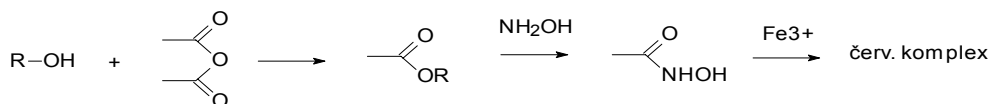
alkoholy:

- reakce s trifenyl chlormetanem, detekce UV (ester), nebo po okselení VIS (kyselina)



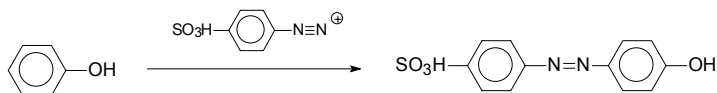
- prim. + sek. alkoholy, oxidace dichromanem (kyseliny, ketony), měří se absorbance Cr(3+)

- acetylace na ester, pak jako hydroxámový test: červený komplex s Fe(3+)

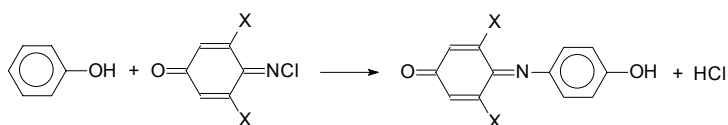


fenoly:

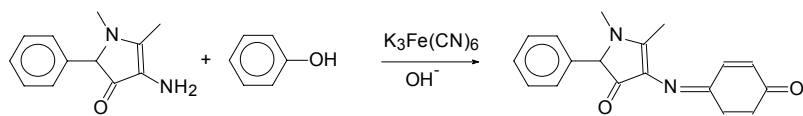
- kopulace: s diazotovanými sloučeninami (kys. sulfanilová), červené/oranžové sloučeniny



- reakcí s 2,6-dibrom-N-chlórchinoniminem, vznik indofenolového barviva, měří se přímo nebo po extrakci do butanolu

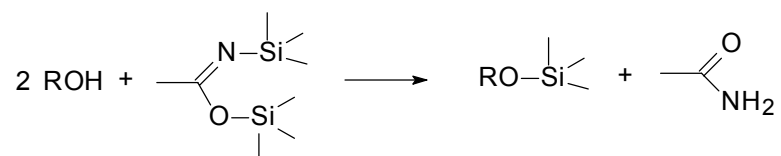


- vznik antipyrinových barviv, extrakce do chloroformu



IV. GC

- přímý nástřik těkavých látek: alkoholy do C8-10 a jednosytné fenoly
- nepřímá: zvýšení těkavosti silylací (N,O-bis(trimethylsilyl)acetamid, dimethylchlorsilan H(CH₃)₂SiCl...)



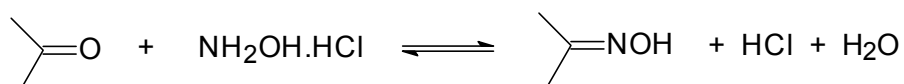
- nepřímá: zvýšení těkavosti acetylací (acetanhydridem)

STANOVENÍ KARBONYLŮ

převážně nukleofilní adice, kondenzace nebo redoxní reakce.

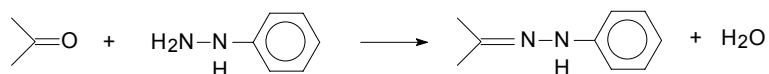
I. ODMĚRNÉ METODY

- reakce s hydroxylaminem, vznik oximu



při titraci hydrochloridem není snadné indikovat b.e. vizuálně (pufř), proto lépe potenciometricky, případně stanovit nadbytek hydroxylaminu oxidimetricky (CuAc₂, jod)

- reakce s arylhydrazinem, vznikají arylhydrazony



většinou se stanovuje nezreagovaný nadbytek činidla acidimetricky nebo oxidimetricky

- obdobně s primárními (alifatickými) aminy tvoří Schiffovy báze $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{NR} + \text{H}_2\text{O}$, lépe v nevodném prostředí 2-propanolu, určuje se přebytek aminu acidimetricky (kys. salicylová)
- aldehydy - oxidačně: stříbrnou solí, $\text{RCHO} + \text{Ag}_2\text{O} \rightarrow \text{RCOOH} + 2 \text{Ag}^0$, stanovuje se nadbytek Ag⁺ nebo nadbytek hydroxidu, který neutralizuje vzniklou kyselinu.

STANOVENÍ KARBOXYLOVÝCH KYSELIN

acidobazické titrace:

pK cca 4-6. Vhodné bazické rozpuštědlo - ethylendiamin (pyridin), titrace NaOH v ethylendiaminu, indikace b.e. na indikátor oranž4 nebo potenciometricky na antimonovou elektrodu, kterou neruší Na⁺.

solí -COONa

jsou slabé báze, lze stanovit acidimetricky v led. kys. octové kyselinou chloristou

esterifikace:

(jen alifatické) methanolem, kat BF₃, voda se stanoví dle Fischera.

tvorba solí:

gravimetricky nebo titračně chelatometricky

fotometricky:

převedení na acylchlorid sulfochloridem, pak hydroxámné reakce s Fe³⁺

GC:

po esterifikaci

STANOVENÍ AMINŮ

acidobazicky:

jsou dostatečně bazické (ve vhodné rozpustněle - rozpustnost, vhodná kyselost), titrace acetanhydridem

acetylace (prim. a sek. aminy):

reakce s acetanhydridem, uvolněná kyselina octová se titruje NaOH v methanolu.

reakce s HNO_2

na jodoškrobový papírek

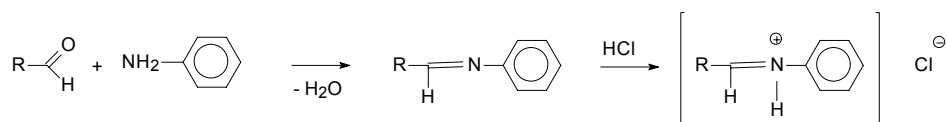
prim. alif. reagují za vzniku N_2 (možno volumetricky, manometricky i v GC)

arom: diazonové soli

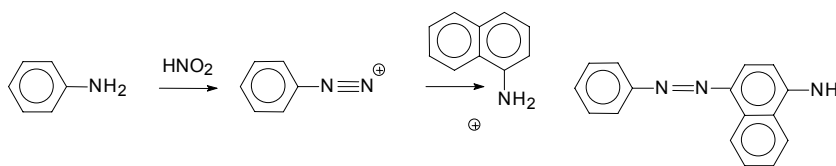
Kjeldahlizace (viz výše, str.12)

spektrofotometricky:

tvorba Schiffových bází reakcí se salicylaldehydem



diazotace a kopulace



STANOVENÍ NITRO-, NITROSO- SKUPIN

I. redukcí nitro-, nitroso- skupin na aminy

REDUKČNÍ ČINIDLA (viz. výše)

činidla: (silná) Sn+HCl, Zn+HCl, SnCl₂ + HCl, TiCl₃

(slabá) Fe+alkoh. NaOH

<i>látká</i>	<i>reakce</i>
nitro- (alif. i arom.)	$R-NO_2 + 6 H \rightarrow R-NH_2 + 2 H_2O$
nitroso-	$R-NO + 4 H \rightarrow R-NH_2 + H_2O$

provedení:

- ❑ působení nadbytku činidla, pak retitrace Fe(3+) na thiokyanatan (viz výše feroxtest Fe[Fe(SCN)₆] zčervená)

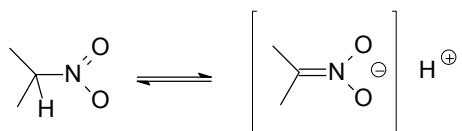
alternativy:

- ❑ redukcí u aromatických nitrosloúčenin: vzniká kvantitativně H₂O : titrace dle Karl Fischera
- ❑ hydrogenací s katalyzátorem Pd se měří nezreagovaný vodík
- ❑ redukcí s NaBH₄, nadbytek činidla uvolní přídavkem HCl vodík
- ❑ chromatograficky - GC

II.

alkalimetricky

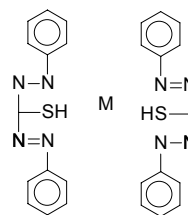
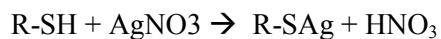
vodík u primárních a sek. nitrolátek je kyselý (titrace v bazických rozpuštědlech butylamin, formamid)



STANOVENÍ THIOSLOUČENIN

I.

Argentometricky



- v amoniakálním ethanolu na dithizonát (červený komplex) nebo potenciometricky
- nadbytek činidla, retitrovat $\text{NH}_4(\text{SCN})$ na $\text{Fe}(3+)$

II. Acidobazicky

v nevodné bazickém prostředí lze titrovat thiol jako slabou kyselinu

III. měďnatými ionty



přímo (indikace přebytku Cu^{2+}) nebo nepřímo (alkalimetrická titrace H^+)

STANOVENÍ HALOGENOSLOUČENIN

mineralizací (spalování v kyslíku, tavení s peroxidem sodným) na halogen/halogenid:
absorpce halogenu do siřičitanu či peroxidu, pak např. argentometricky

GC

7/ PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ

min. 2 různé deriváty (nespecificita t.t.)

cíl = volba derivátu, způsob charakterizace + povaha a množství vzorku
příprava (jednoduchost, jednoznačnost, výtěžek), čištění

vlastnosti : ostrý bod tání v rozmezí 80-250 °C (odlišný od původní látky)
 stanovení vnesené skupiny
 chromatografická identifikace

8/ KONFRONTACE S LITERATUROU

Večeřa M., Gasparič J., Churáček J., Borecký J., *Chemické tabulky organických sloučenin*, SNTL Praha 1975

Grassel J. G. (Editor): *Atlas of Spectral Data and Physical Constants for Organic Compounds*, J. Wiley, London 1964

Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie

9/ URČENÍ KONSTITUCE

pokud se jedná o neznámý strukturální vzorec:

spektra (IČ, H-NMR, C-NMR, krystal: rentgenograficky)

degradační metody

→ skelet, umístění funkčních skupin

EXTRAKCE KAPALINA-KAPALINA

KAPALINOVÁ EXTRAKCE (v praxi patří k technikám přípravy vzorku). Při promíchání (protřepání) dvou spolu se nemisících kapalin látka původně rozpuštěná v jedné z fází přejde částečně i do druhé (v optimálním případě přejde pouze tato látka, matrice zůstane v původní fázi). V rovnovážném stavu platí

$$K_d = [X]_o/[X]_w$$

K_d je rozdělovací (=distribuční) konstanta, $[X]$ jsou aktivity (často koncentrace) určité látky a indexy označují fázi méně (o) a více polární (w), tou polárnější je obvykle voda.

Jaké extrakční činidlo použít?

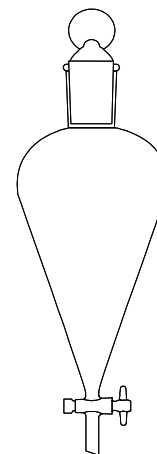
Již alchymisté věděli, že "podobné se rozpouští v podobném". Nepochární (málo polární) sloučeniny rozpustíme v málo polárních organických rozpouštědlech. Polární a iontové sloučeniny se rozpouštějí ve vodě a také v polárních organických rozpouštědlech (např. glycerol, dimethylformamid ...). Molekuly karboxylových kyselin vytřepeme z organického rozpouštědla do alkalické vodné fáze, pro extrakci molekul organických aminů z organického rozpouštědla použijeme naopak kyselý vodný roztok; v obou těchto případech vzniknou ionty, kterým lépe vyhovuje rozpouštědlo voda.

Polárnost rozpouštědla jako prostředí pro extrakce charakterizuje snadno změřitelná (elektrická) veličina permitivita ϵ . Příklad rozpouštědel nemísitelných s vodou (permitivita 78): nitrobenzen (35), amylalkohol, ethylacetát (6), methyl-isobutylketon (13), chloroform (5), benzen (2,2) a hexan (1,9). Příklad rozpouštědel mísitelných s vodou: methanol (32), 1-propanol (20), aceton (21), pyridin (12) a také nepatrně polární dioxan (2,2). Polární rozpouštědla podporují ionizaci molekul, dipóly rozpouštědla vstupují mezi opačně nabitě ionty, zamezují jejich přiblížení a tím snižují vzájemnou přitažlivost.

poznámky k praktickému provedení:

1/ Přejod z jedné fáze do druhé probíhá na fázovém rozhraní. Pro rychlé ustavení extrakční rovnováhy je třeba, aby toto fázové rozhraní mělo co největší plochu a aby z každého místa v roztoku bylo k tomuto rozhraní blízko. Tyto podmínky nejsnadněji splníme při protřepání směsi obou fází v uzavřené nádobce.

2/ Protřepáváme sice 2 rozpouštědla vzájemně nemísitelná, ale vždy jsou jedno v druhém poněkud rozpustná. To znamená, že fáze po protřepání mohou mít jiné objemy než před protřepáním. Objemových rozdílu před a po extrakci se vysíláme, pokud používáme rozpouštědla předem nasycená protřepáním s druhou fází.



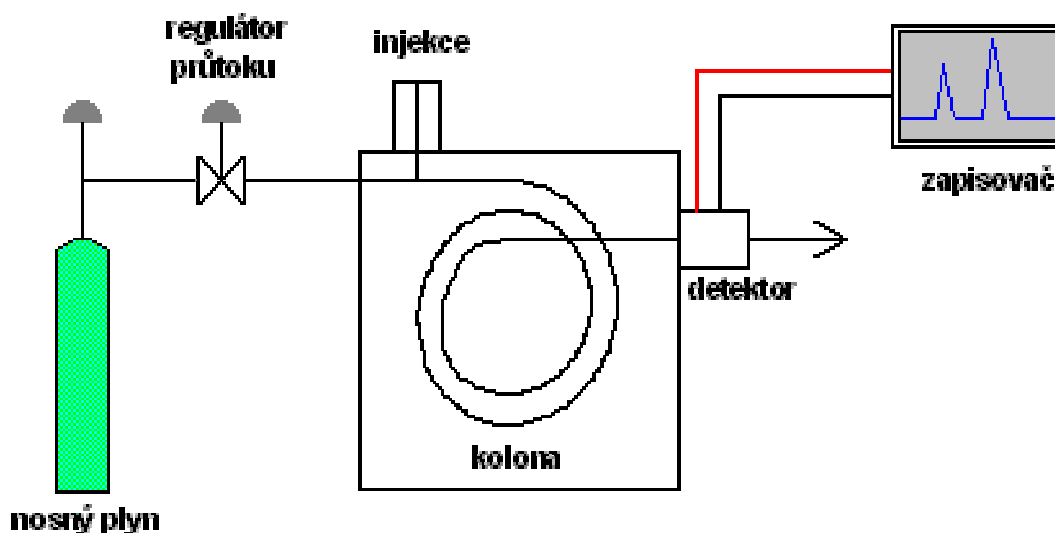
třepačka pro extrakci kapalina-kapalina

CHROMATOGRAFIE

V chromatografii je vzorek (nebo extrakt vzorku) převeden (rozpuštěn) do mobilní fáze, což je plyn (u kapalinové chromatografie=LC kapalina). MOBILNÍ FÁZE (MF) je pak tlačena (obvykle přetlakem) skrze nepohyblivou a nemísitelnou STACIONÁRNÍ FÁZI (SF). Obě fáze jsou vybrány tak, že složky vzorku (=analyty) mají **různou afinitu k SF**. Složka, která má k SF větší afinitu, stráví v SF delší dobu a potřebuje tak více času k průchodu kolonou než složka, která není v SF příliš zadržována a zdržuje se převážně v MF. Důsledkem této rozdílné rychlosti průchodu kolonou je SEPARACE (= oddělení) těchto složek po průchodu kolonou.

Techniky jako GC (a HPLC) používají "kolony": úzké trubice plněné stacionární fází, přes kterou je tlačena mobilní fáze. Vzorek je kolonou nuceně transportován postupným přitékáním MF. Tento proces se nazývá ELUCE. Průměrná rychlost, kterou se vzorek pohybuje kolonou, je určena dobou, kterou vzorek stráví v SF a MF. Nutno podotknout, že chromatografie nepatří mezi analytické separační metody absolutní, tzn. základní charakteristika kvality analytu = retenční čas (objem) není jednoznačnou identifikací; vždy jej musíme srovnávat se standardem hledané látky.

schéma plynové chromatografie (GC)



KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (LC)

Rozlišujeme kapalinovou chromatografii rozdělovací (LLC), kde stacionární fází je vrstvička kapaliny zachycena na tuhém nosiči, čili separační proces je vlastně mnohonásobná kapalinová extrakce a reextrakce řízená rozdělovací konstantou $K(D)$. V adsorpční kapalinové chromatografii je analyt adsorbován na stacionární fázi, čili proces je řízen adsorpční izotermou.

schéma kapalinové adsorpční chromatografie

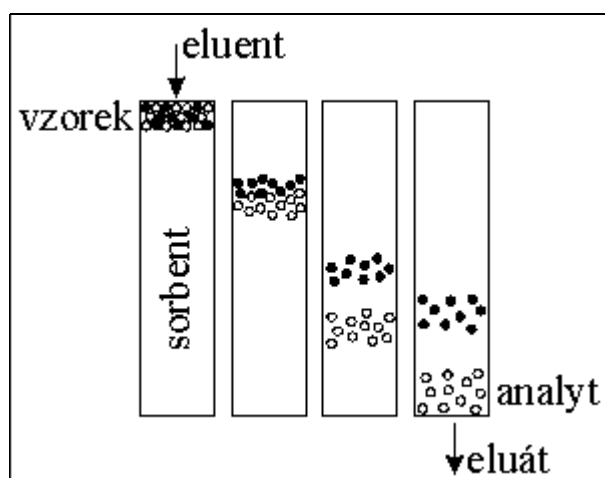
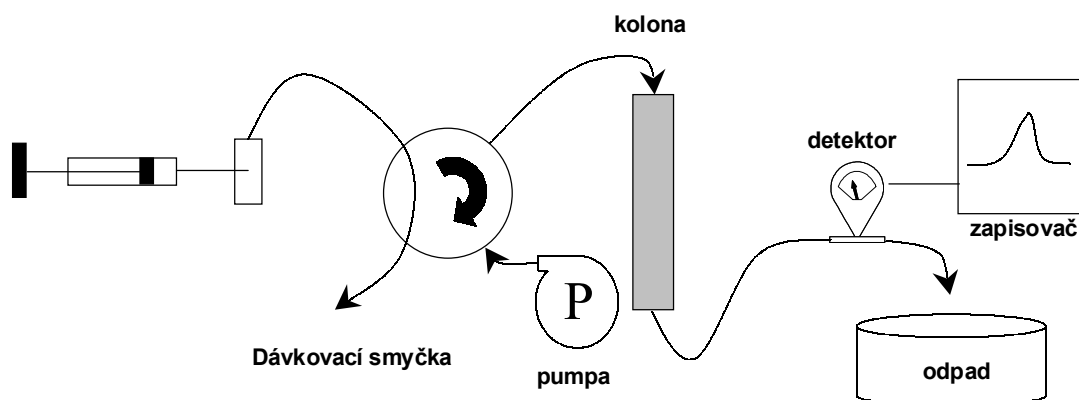


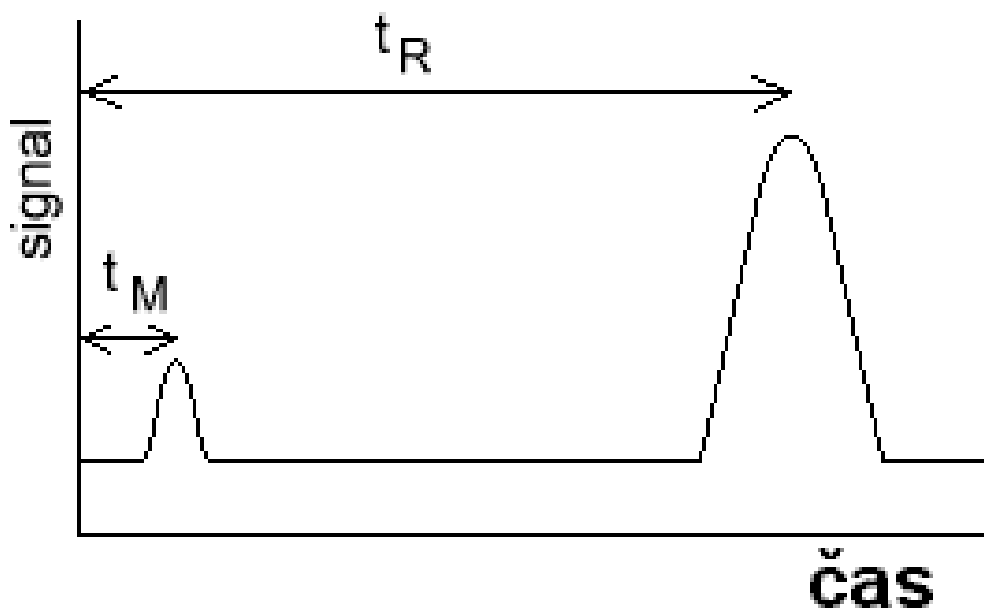
schéma HPLC.

Dnes se prakticky výlučně používá kolonové chromatografie za vysokého tlaku (HPLC)

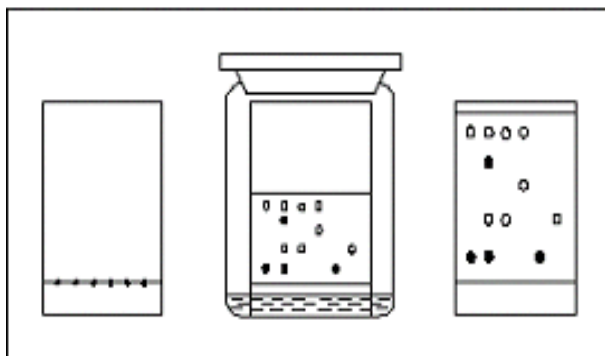


VYHODNOCENÍ CHROMATOGRAMU

Pro kvalitativní (separační) účely nás zajímá, zda se složky vzorku oddělily. Pokud chceme toto oddělení popsat kvantitativně, musíme zavést některé veličiny popisu chromatogramu: doba mezi nástřikem analytu a okamžikem, kdy analyt dosáhne detektor (umístěný za kolonou), se nazývá retenční (eluční) čas t_R . Pokud dojde k rozdělení analytů (o to se většinou snažíme), každý analyt ve vzorku (směsi) bude mít různý retenční čas. Čas, kdy od okamžiku nástřiku dojde k detektoru MF (tedy nezadržovaná složka), se nazývá mrtvý čas t_M . Protože složky procházejí kolonou a přicházejí do detektoru jako zóny s největší koncentrací uprostřed, záznamem detektoru je nejčastěji chromatografický PÍK. Maximum píku (signálu) souvisí s maximem koncentrace zóny a v maximum píku obvykle odečítáme retenční čas. t_R a t_M se tedy získají z grafického záznamu signálu detektoru na čase = z chromatogramu (viz obrázek).



(TLC) TENKOVrstVÁ CHROMATOGRafIE

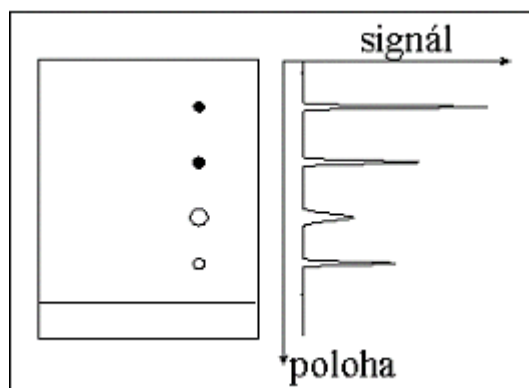
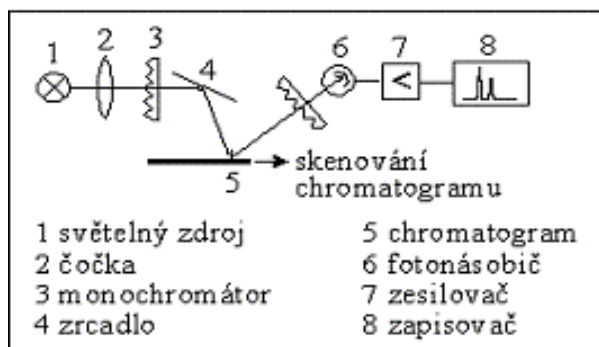
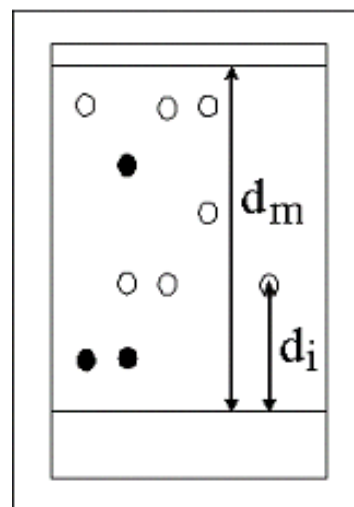


TLC je jednoduchá, rychlá a často používaná chromatografická metoda, často sloužící k rychlé kontrole čistoty separovaného analytu, patří mezi techniky kapalinové chromatografie (LC). Tenkovrstvou chromatografií lze realizovat podobně jako chromatografii v otevřené koloně, ikdyž na tenké vrstvě je podstatně méně stacionární fáze, a tudíž analýza na tenké vrstvě může být **velmi rychlá** v porovnání s kolonou.

Vyvíjení probíhá obvykle v uzavřené komoře (atmosféra nasycená parami mobilní fáze), kde chromatografická deska stojí smočena ve vrstvě mobilní fáze, která vzlíná vzhůru. Tak pozorujeme čelo MF – vyvíjení ukončíme dříve, než čelo dosáhne konce desky. Charakteristikou skvrny je poměr d_i/d_m . Vzorky rozpuštěné v těkavém rozpouštědle se nanáší na start. Nanášíme 0,1% až 5% roztoky v množství 200 nl až 20 μ l do skvrn o průměru 2 až 6 mm.

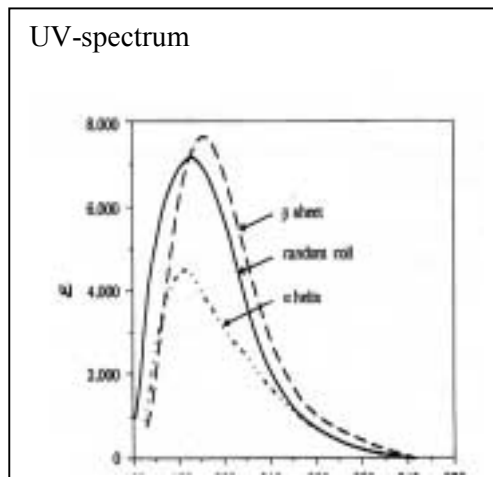
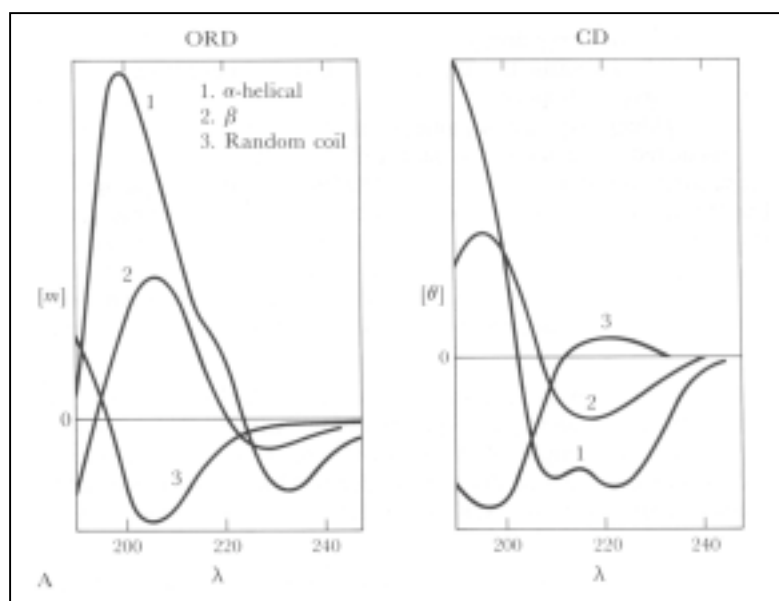
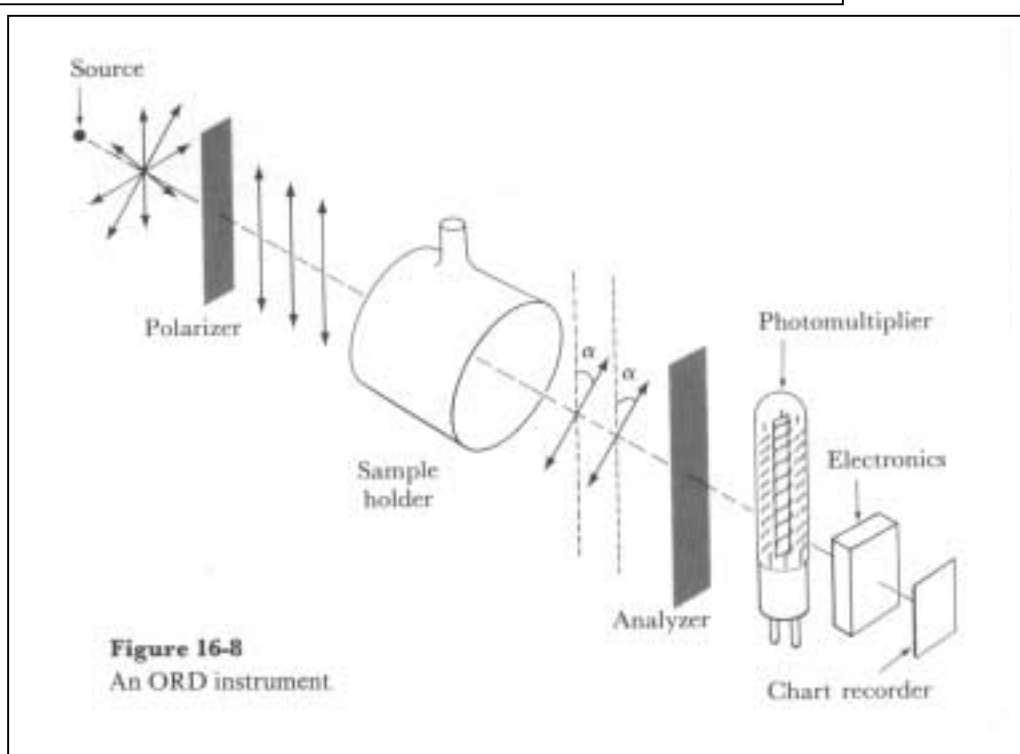
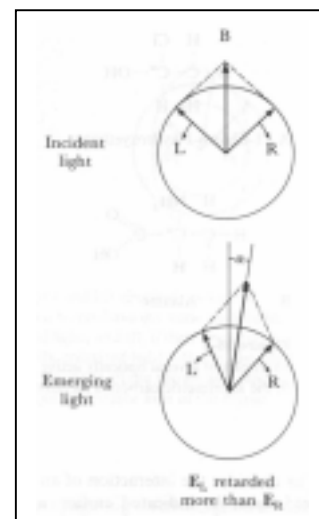
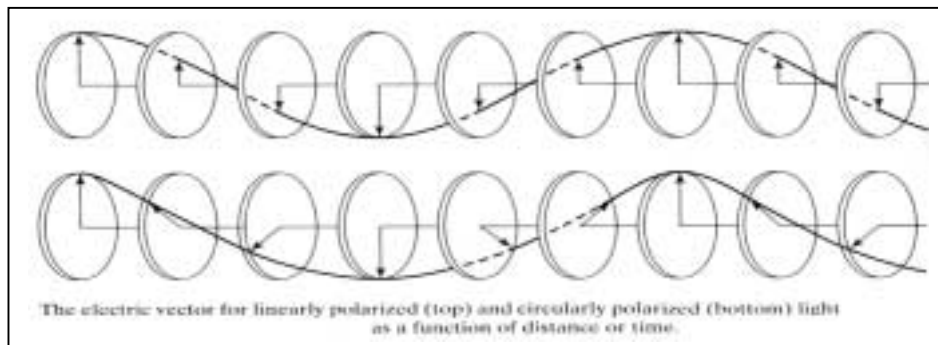
Všechny nanesené látky se musí objevit mezi startem a čelem rozpouštědla. Stacionární fáze jsou nanášeny na skleněných deskách nebo jednodušeji na hliníkových fóliích (ty se dají stříhat). Tenké vrstvy mohou obsahovat fluorescenční indikátor UV254 k usnadnění detekce analyzovaných látek (nepřímá detekce). Používají se prakticky všechny **stacionární fáze** jako pro kolonovou chromatografii se zrnitostí 5 až 40 μ m: oxid hlinitý, silikagel, celulóza, iontoměnič, polyamid a silikagel s -C18, -NH₂ nebo -CN skupinami.

Mobilní fáze: cyclohexan, toluen, chloroform, dichlormetan, aceton, ethanol, methanol, voda, amoniak, kyselina octová a jejich směsi.



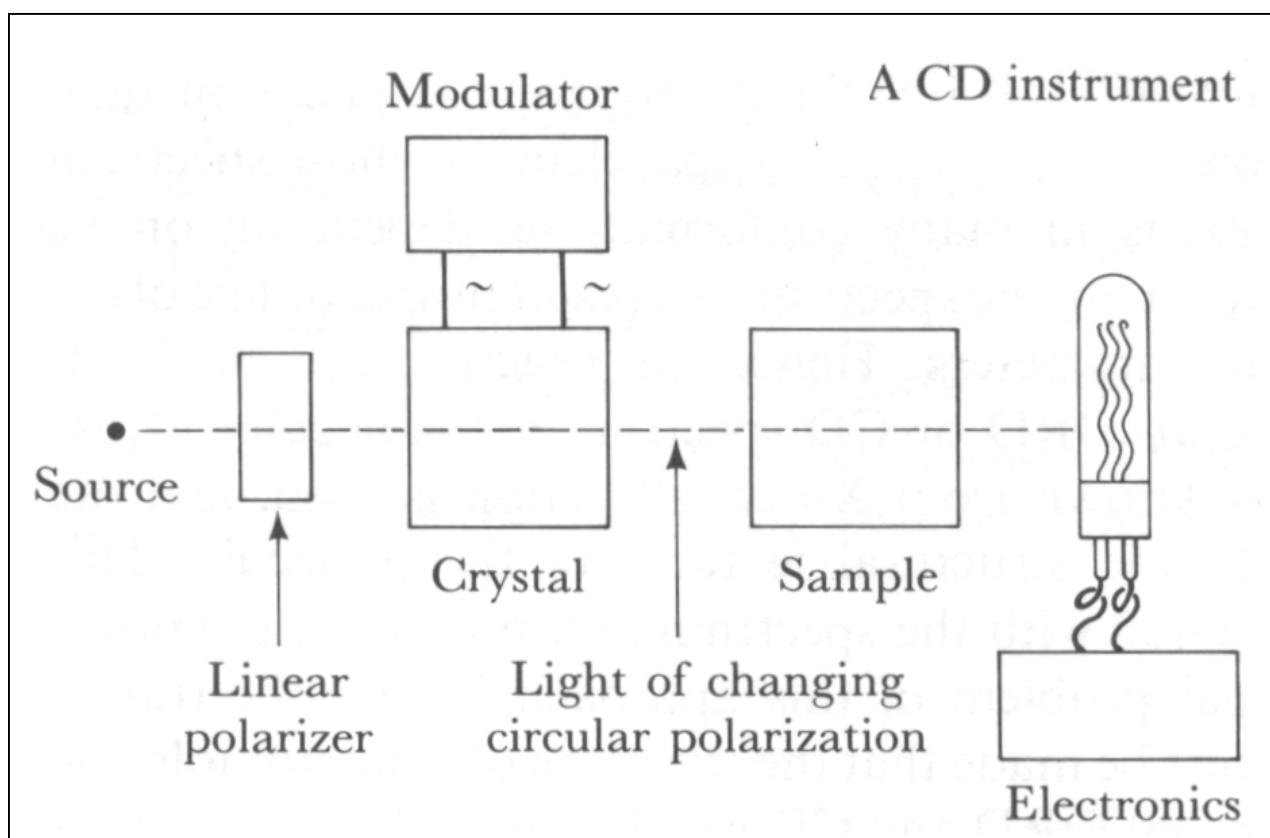
OPTICKÁ ROTAČNÍ DISPERZE (ORD)

měříme závislost úhlu otočení lineárně polarizované světla na vlnové délce



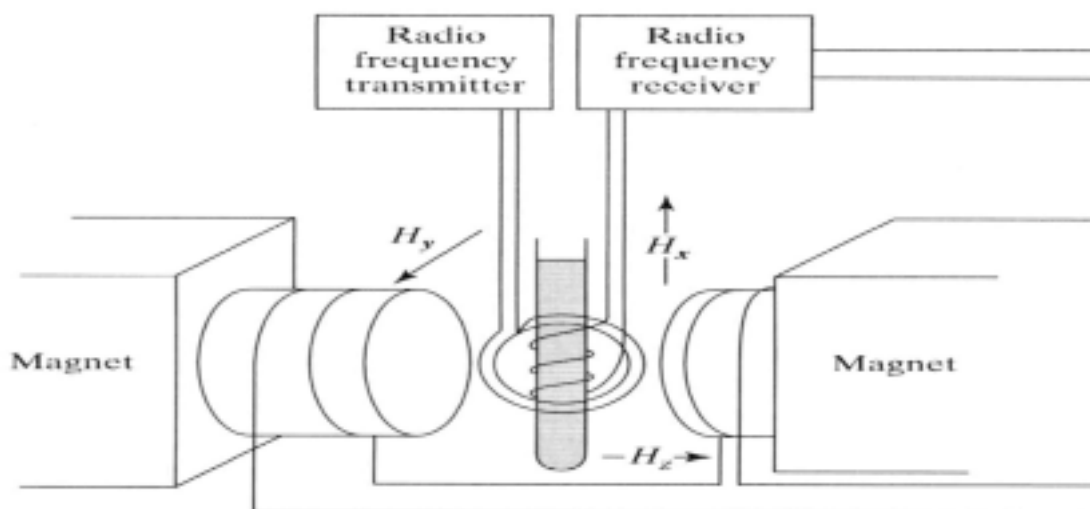
CIRKULÁRNÍ DICHROISMUS (CD)

Cirkulární dichroismus: anisotropie absorpce cirkulárně polarizovaného světla. Levotočivá a pravotočivá složka polarizovaného světla jsou různě absorbovány prostředím (analytem) – na obrázku by měly vektory L a R různou délku.



Oblast použití ORD a CD: určování struktury bílkovin (oligomerů, polymerů)

NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE (NMR) viz další přednáška



A simplified diagram of a continuous wave NMR

HMOTNOSTNÍ SPEKTROSKOPIE (MS) viz další přednáška o interpretaci spekter

