

## **OPĆE UPUTE I MJERE SIGURNOSTI TIJEKOM RADA U ORGANSKOM LABORATORIJU**

Tijekom rada u organskom laboratoriju učenik se susreće s raznim organskim i anorganskim kemikalijama, više ili manje opasnim (zapaljivim, eksplozivnim, otrovnim), a često tijekom rada koristi otvoreni plamen ili neki drugi izvor topline. Korištenje opasnih kemikalija u ovom praktikumu svedeno je na najmanju moguću mjeru, a one koje su neophodne koriste se u minimalnim količinama. Ukoliko prije početka rada postoji bilo kakva dvojba učenika vezana za izvođenje vježbe ili njegovu sigurnost tijekom rada, dužan se konzultirati s nastavnikom.

### **RAD S KEMIKALIJAMA I OTAPALIMA:**

1. Sa svim kemikalijama treba rukovati pažljivo i oprezno.
2. ***Sa zapaljivim i otrovnim tvarima uvijek se mora raditi u digestoru!***
3. Boce s kemikalijama treba uvijek prenositi pažljivo objema rukama. Jednom rukom treba uhvatiti grlo, a drugom držati dno boce.
4. Tekućine iz boce treba izlijevati sa strane suprotne od naljepnice.
5. Kemikalije ne smiju doći u dodir s kožom.
6. Pri miješanju i drugim operacijama posuda s kemikalijama ne smije se držati u visini lica ili iznad njega, već na laboratorijskom stolu.
7. Što više izbjegavajte udisanje para kemikalija - koristite digestor.
8. Koncentrirane kiseline i lužine, kao i druge otpadne tvari (npr. korištena otapala) ne smiju se izlijevati u izljev, već u posebne za to pripremljene posude.
9. Proizvodi sinteza se ne bacaju, već se uvijek predaju voditelju vježbi u odgovarajućim posudama.
10. Pri radu sa zapaljivim i eksplozivnim tvarima (npr. dietil-eter) ne smije biti u blizini izvor otvorenog plamena.

### **RAD SA STAKLENIM DIJELOVIMA I APARATURAMA:**

1. Staklene dijelove aparature treba dobro učvrstiti koristeći gumene poluprstenove bez nepotrebnog stezanja hvataljki, što je vrlo čest uzrok pucanja staklenih dijelova uređaja (osobito Liebigovih hladila).
2. Kupelji ili grijača tijela treba ispod staklene aparature namjestiti tako da se u svakom trenutku mogu lako ukloniti ili zamijeniti.
3. Gumene cijevi i električne žice spojene na aparature moraju biti dovoljno udaljene od plamenika i ostalih grijačih tijela.
4. Krajeve plastičnih ili gumenih cijevi prije priključivanja na aparaturu valja uroniti u vruću vodu radi omekšavanja. Prvo se postavljuju na pojedinačni dio aparature (npr. hladilo) koji se poslije sastavlja u aparaturu (npr. aparatura za jednostavnu destilaciju).
5. Razbijeno stakleno posude se ne baca bez prethodne suglasnosti nastavnika.

## PRAVILA PONAŠANJA U LABORATORIJU:

1. Treba održavati urednost i čistoću radnog stola. Tijekom rada treba izbjegavati proljevanje ili prosipanje i najmanjih količina kemikalija, a ako se to dogodi radnu plohu treba odmah očistiti. Na radnom stolu ne smiju se držati nepotrebni predmeti.
2. U laboratoriju je zabranjeno **pušenje i konzumiranje hrane**. Ne smije se piti voda iz laboratorijskih čaša.
3. Za paljenje plinskih plamenika valja se koristiti upaljačima. Ako se pali šibicom, tada tinjajući šibicu treba prije bacanja u koš ugasiti pod mlazom vode.
4. **Požar:** Ukoliko se tijekom rada pojavi manji požar ne smije se puhati u plamen (raspiruje se plamen), već se otvor iz kojega izbjiga požar prekrije satnim stakalcem (ili nečim drugim) kako bi se spriječilo dovođenje kisika. Osobito opasni požari nastaju reakcijom elementarnog kalija ili natrija s vodom te gorenjem fosfora, vodika i sl. U slučaju većeg požara potrebno je za gašenje upotrijebiti pjesak ili aparat za gašenje.
5. **Zaštita očiju:** Nije preporučljivo nositi kontaktne leće u organskom laboratoriju zbog toga što lako adsorbiraju pare organskih otapala. Za određene procedure obavezno je nošenje zaštitnih naočala. Ukoliko tijekom rada kemikalija dospije u oči, najbolje je što prije otići do slavine i ispirati oči mlazom vode nekoliko minuta.

## DNEVNIK RADA:

Nakon završenog rada podaci iz vježbe se sređuju i prepisuju u dnevnik rada (bilježnica formata A4) u obliku referata. Na stranici dnevnika prije svake vježbe se nacrtava zagлавje:

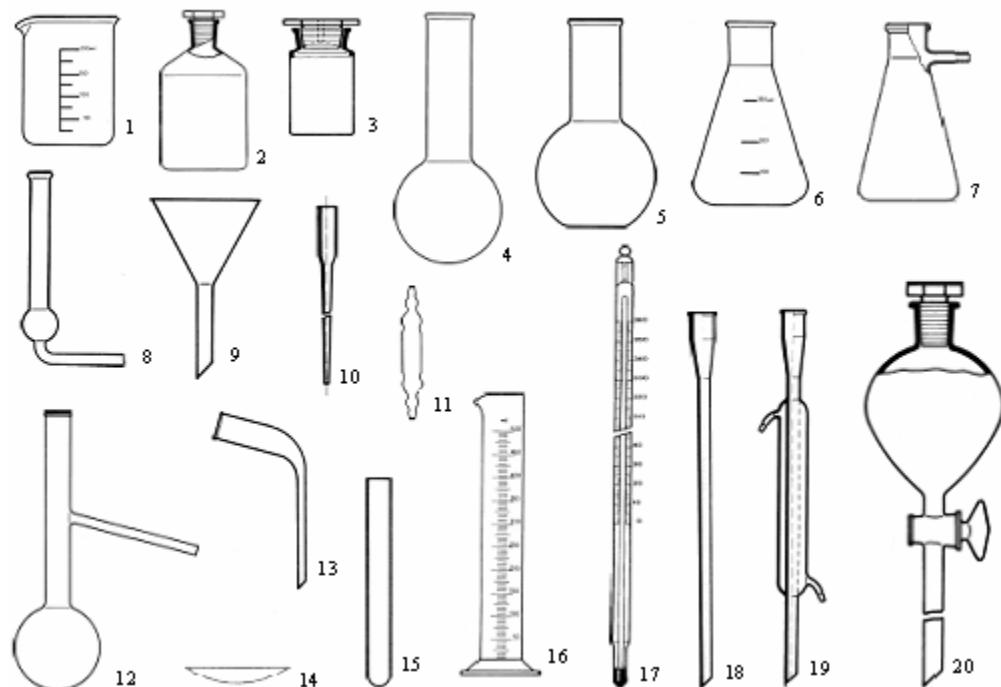
Broj vježbe	Naziv vježbe	Datum

Referat mora sadržavati sljedeće elemente:

1. Podaci o reagensima i produktima (najbolje u obliku tablice)
2. Opis postupka (prema propisu, bilješkama, zapažanjima i rezultatima)
3. Reakcijska jednadžba
4. Račun iskorištenja (ukoliko se radi o sintezi)

## OSNOVNO LABORATORIJSKO POSUĐE I PRIBOR

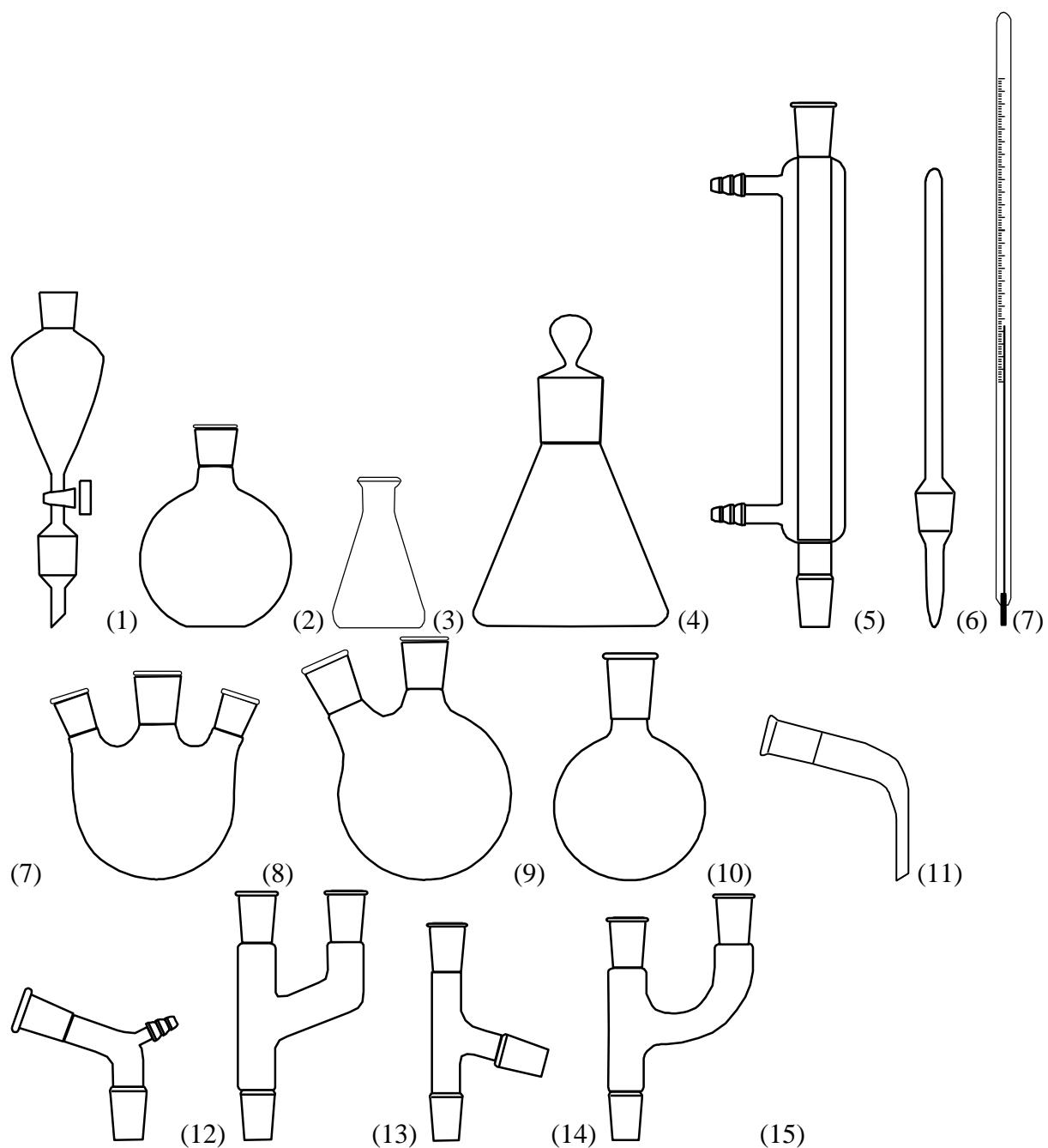
Prije bilo kakvog rada u organskom laboratoriju treba se upoznati s osnovnim laboratorijskim staklenim i porculanskim posuđem i ostalim priborom izrađenim od metala i drugih materijala.



**Slika 1.** Osnovno laboratorijsko staklene posuđe: čaša (1), reagens boca (2), boca za prah (3), tikvica s okruglim dnom (4), tikvica s ravnim dnom (5), Erlenmeyerova tikvica (6), odsisna boca (7), klor-kalcijeva cijev (8), lijevak obični (9), kapaljka (10), spojnica za gumena crijeva - tzv. oliva (11), destilirka (12), predložak za destilaciju - tzv. lula (13), satno stakalce (14), epruveta (15), menzura (16), termometar (17), zračno hladilo (18), Liebigovo hladilo (19), lijevak za odjeljivanje (20)

**Slika 1.** prikazuje osnovno laboratorijsko staklene posuđe. S obzirom na namjenu staklene je posuđe izrađeno od običnog ili vatrostalnog stakla različitih debljina stijenki. Također razlikujemo staklene posuđe s nebrušenim i brušenim dijelovima (normirani ili normalni brus, uobičajena kratica je NB).

Staklo s brušenim dijelovima (slika 2) ima niz prednosti za spajanje pred "klasičnim" staklenim uređajima u kojima su pojedini dijelovi spajaju preko probušenih plutenih ili gumenih čepova (ušteda vremena pri sastavljanju, mogućnost rada s korozivnim tvarima, dobro brtvljenje). Brušeno posuđe je znatno skuplje od običnoga, pa s njime treba postupati posebno oprezno.



**Slika 2.** Osnovno stakleno laboratorijsko posuđe s brusom (NB): lijevak za dokapavanje (1), tirkvica s ravnim dnom (2), Erlenmeyerova tirkvica (3), tirkvica za jodni broj (4), Liebigovo hladilo (5), zračno hladilo (6), termometar (7), tirkvica s okruglim dnom - trogrla (8), tirkvica s okruglim dnom - dvogrla (9) tirkvica s okruglim dnom (10), nastavci za hvatanje destilata - tzv. "lule" (za običnu (11) i vakuum – destilaciju (12), nastavak za destilaciju po Claisenu (13), nastavak za destilaciju tzv. "račva" (14), nastavak za destilaciju (15).

Osim staklenog suđa u organskom se praktikumu još koristi i osnovno metalno i porculansko suđe kao tronog, plamenik po Bunsenu, stalak, metalni prsteni, keramička mrežica, mufa, hvataljke, Büchnerov lijevak, tarionik s tučkom, zdjelica za otparavanje itd.

Dodatni pribor u organskom laboratoriju čine: pluteni i gumeni čepovi, staklene kapilare, miješalice, sisaljke na vodenim mlazima i vakuum-pumpe, vodene, uljne i pješčane kupelji. Pluteni i gumeni čepovi služe za sastavljanje staklenih aparatura koje nemaju brušene dijelove. Pritom se gumeni čepovi ili gumeni prstenovi koriste za sastavljanje aparatura pod vakuumom i vakuum filtraciju preko Büchnerovog lijevka uz pomoć sisaljke na vodenim mlazima. Staklene kapilare koriste se za određivanje tališta i vrelišta te nanošenje uzorka kod tankoslojne kromatografije. Za miješanje u organskom laboratoriju koriste se mehaničke i magnetske miješalice. Miješanje je potrebno u mnogim organskim sintezama zbog homogeniziranja i što jednoličnijeg zagrijavanja reakcijske smjese. Na taj se način skraćuje vrijeme reakcije, bolja je kontrola temperature i veće iskorištenje reakcije.

Za izbjegavanje lokalnog pregrijavanja i održavanje konstantne temperature služimo se vodenim, uljnim i pješčanim kupeljima kao sredstvima za prijelaz topline. Vodena kupelj služi za održavanje temperature do 85 °C. Najjednostavnija vodena kupelj može biti obična čaša ili metalna posuda napunjena vodom koja se izvana zagrijava plamenikom ili električnim grijačem (ako se radi o zapaljivoj tekućini, npr. dietil-eter). Za održavanje temperature od 85 do 200 °C koriste se uljne kupelji, a to su posude napunjene parafinskim, motornim ili silikonskim uljem, koje se također zagrijavaju plamenikom ili električnim grijačem. Za postizanje temperaturu iznad 200 °C zagrijava se izravno plamenikom preko keramičke mrežice, ili se koriste pješčane ili zračne kupelji.

Zagrijavanje organskih otapala i otapala niskog vrelišta provodimo u aparaturi za refluksiranje (tj. okrugla tikvica s povratnim hladilom). Na taj način onemogućuje se isparavanje otapala jer se pare otapala hlađe u povratnom hladilu i vraćaju natrag u tikvicu. To isparavanje otapala te kondenziranje i vraćanje u tikvicu naziva se **refluksom**.



*Slika 3.* Aparatura za refluksiranje

Sisaljke na vodenim mlazima se najčešće upotrebljavaju za postizavanje sniženog tlaka (ili vakuma) koji služi za filtraciju (preko Büchnerovog lijevka). Za destilaciju pri sniženom tlaku koriste se uljne pumpe koje se pokreću elektromotorom, a napunjene su uljem malog tlaka pare.

#### **Pranje laboratorijskog posuđa**

Kod pranja laboratorijskog posuđa najvažnije je znati prirodu onečišćenja da bi se upotrijebilo odgovarajuće sredstvo za pranje. Najjednostavnije pranje je s vodenom otopinom detergenta.

Ako miješanje nije dovoljno treba upotrijebiti četku, a nekad i sredstva za mehaničko čišćenje (pijesak, Vim i sl.). Ukoliko ni to nije dovoljno, a nečistoća je lužnatog podrijetla koriste se razrijeđene otopine kiselina, odnosno razrijeđene otopine lužina ako je nečistoća kiselog karaktera. Mnoge nečistoće mogu se ukloniti otapanjem u pogodnom organskom otapalu (etanol, aceton, petroleter i sl.), ali se to izbjegava jer su to skupe, hlapljive i zapaljive tvari. Ako se nečistoća (tragovi nečistoća, a ne naslage) ne može ukloniti ni jednim od gore navedenih sredstava koristi se kromsumporna kiselina koja ima svojstvo razaranja tragova nečistoća. Kromsumporna kiselina koristi se kada se traži vrlo čisto posuđe. Prilikom rada s kromsumpornom kiselinom potreban je poseban oprez zbog agresivnosti i otrovnosti tog sredstva.

Danas na tržištu postoje specijalne otopine za pranje laboratorijskog posuđa (Labex, Kemex) koje se mogu primijeniti u razrijeđenom ili koncentriranom obliku.

Nakon pranja s bilo kojim sredstvom za pranje, posuđe treba dobro isprati vodovodnom, a zatim destiliranom vodom, ocijediti i sušiti u sušioniku na temperaturi od 100 do 110 °C. Graduirano stakleno posuđe se suši na temperaturi od 40 °C.

# IZOLACIJA I ČIŠĆENJE ORGANSKIH SPOJEVA

Mnoge tvari izolirane iz prirode, kao i produkti organskih sinteza nisu čisti. Razlog tome su popratne reakcije, koje u manjoj ili većoj mjeri stvaraju nusprodukте, a također su prisutni i reaktanti, otapala, katalizator, razgradni produkti i druge nečistoće koje treba ukloniti. Sama sinteza je više puta vremenski kratka, dok izolacija spoja u čistom stanju iz heterogenih ili homogenih smjesa iziskuje mnogo vremena i truda. Za to postoji niz metoda (operacija). Osim klasičnih metoda kao što su *prekristalizacija* i *sublimacija* (za krutine), razne vrste *destilacije* (za tekućine) te *ekstrakcija*, danas su gotovo nezamjenjive i *kromatografske metode*.

## 1. PREKRISTALIZACIJA

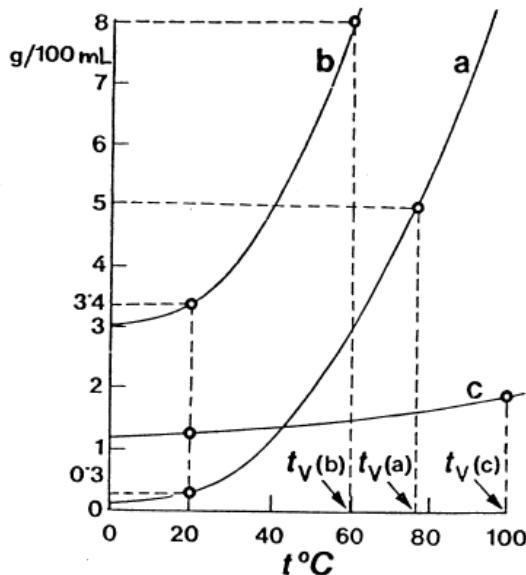
Krute tvari čiste se *prekristalizacijom*. Pod tim se pojmom podrazumijeva otapanje kristalinične ili amorfne tvari u vrućem otapalu, te polagano hlađenje dobivene otopine uz kristalizaciju pročišćenog produkta zbog smanjene topljivosti na nižoj temperaturi. Prekristalizacija je operacija koja se temelji na fenomenu *kristalizacije*, a uključuje i operaciju *filtriranja*.

*Filtracija* je postupak odvajanja krute od tekuće faze neke heterogene smjese preko filter-papira.

Najjednostavnija filtracija je pomoću gravitacije, a izvodi se ulijevanjem heterogene smjese u stakleni lijevak s filter-papirom, pri čemu filtrat otječe u predložak. Drugi način filtracije, koji se izvodi pod sniženim tlakom, zove se *odsisavanje*. Filtracija se koristi za uklanjanje nečistoća iz tekuće faze, kada se u filtratu (matičnici – otopina preostala nakon kristalizacije neke tvari) nalazi željeni produkt ili za izdvajanje krutog produkta iz otopine pri čemu se filtrat najčešće odbacuje.

Za uspješnu prekristalizaciju neobično je važan *izbor pogodnog otapala*. Topljivost je funkcija polarnosti otapala i otopljenih tvari te veličine molekule. Postoji općenito, neprecizno pravilo po kojem "slično otapa slično", što znači da će polarna otapala (voda, metanol, etanol i sl.) bolje otapati ionske i polarne tvari, a nepolarne tvari će se bolje otapati u nepolarnim otapalima (petroleter, heksan, benzen i sl.). Otapalo za prekristalizaciju mora zadovoljavati sljedeće uvjete:

- topljivost tvari u izabranom otapalu na sobnoj temperaturi mora biti što manja, dok povišenjem temperature topljivost tvari mora naglo rasti (slika 3),
- otapalo ne smije reagirati s tvari koju otapamo kod bilo koje temperature (sobne i temperature vrenja),
- najčešće se biraju otapala s vrelištem 60-100 °C, koja se, nakon provedene prekristalizacije, mogu lako ukloniti isparavanjem,
- otapalo mora biti što manje opasno (s obzirom na zapaljivost, eksplozivnost i otrovnost) i jeftino.



*Slika 4.* Ovisnost topljivosti neke tvari o temperaturi u otapalima a, b i c

Na slici 4. prikazana je ovisnost topljivosti neke tvari (u g/100 mL otapala) o temperaturi u tri otapala. Na temperaturi vrenja otapala **a** topljivost tvari je 5,0 g, a na temperaturi od 20 °C 0,3 g. Dakle, hlađenjem zasićene otopine na temperaturu od 20 °C iskristalizira 4,7 g tvari, odnosno 94% od ukupne tvari:

$$\% \text{ kristalizacije} = (5,0 \text{ g} - 0,3 \text{ g}) / 5,0 \text{ g} \times 100 = 94\%$$

Analogno, topljivost tvari u kipućem otapalu **b** je 8,0 g, a na temperaturi od 20 °C 3,4 g. Hlađenjem zasićene otopine do temperature od 20 °C iskristalizira 4,6 g tvari, odnosno 57,5% od ukupne tvari:

$$\% \text{ kristalizacije} = (8,0 \text{ g} - 3,4 \text{ g}) / 8,0 \text{ g} \times 100 = 57,5\%$$

Otapalo **a** je bolje za prekristalizaciju od otapala **b** jer je topljivost tvari u otapalu **a** na sobnoj temperaturi (20 °C) znatno manja. Otapalo **c** nije prikladno za prekristalizaciju zbog male razlike topljivosti tvari u vrućem i hladnom otapalu.

## 2. DESTILACIJA

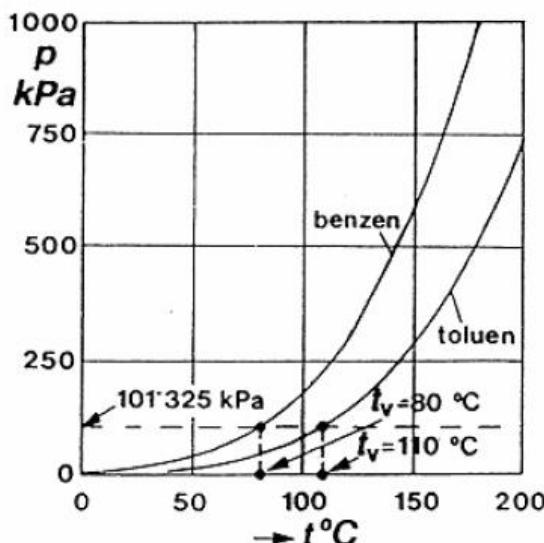
*Destilacija* je postupak kod kojeg se tekućina zagrijava i prevodi u paru, a nastala para odvodi i hlađenjem kondenzira (ukapljuje). Kondenzat (destilat) sakuplja se u drugoj posudi. Svrha destilacije je

- čišćenje tekućih tvari,
- razdvajanje smjesa tekućina različitog vrelišta,
- otparavanje organskih otapala,
- identifikacija tekućih tvari (određivanje vrelišta).

Najčešće vrste destilacija koje se primjenjuju u organskom laboratoriju su destilacije pri normalnom tlaku: jednostavna destilacija, frakcijska destilacija i destilacija s vodenom parom te destilacija pri sniženom tlaku (vakuum-destilacija: jednostavna i frakcijska).

### **Teorijsko objašnjenje destilacije i temperatura vrenja**

Hlapljivost tekućine ovisi o njezinu tlaku para. Svaka je tekućina u ravnoteži s parom koja se nalazi iznad tekućine. Tlak para tekućine ovisan je o vrsti tvari i temperaturi. Povećanjem temperature tlak para tekućine raste (slika 5).



**Slika 5.** Ovisnost tlaka para o temperaturi

Kada se tlak para tekućine izjednači s vanjskim tlakom tekućina vrije, a daljnje dovođenje topline troši se na isparavanje tvari, a ne na povišenje temperature. Ta temperatura, pri kojoj se uspostavlja ravnoteža između plinske i tekuće faze, je **temperatura vrenja** ili **vrelište**. Vrelište je funkcija vanjskog tlaka i zato treba naznačiti tlak pri kojem je vrelište određeno. Ako je tlak u sustavu manji od atmosferskog temperatura vrenja tekućine je snižena.

*Određivanje vrelišta* neke tekućine obično se provodi *metodom destilacije*, ako su na raspolaganju količine veće od 4 do 5 mL. Zagrijavanjem tekućine temperatura naglo raste do blizine vrelišta, a zatim polagano do konstantne vrijednosti. Ta konstantna vrijednost temperature je temperatura vrenja ispitivane tekućine.

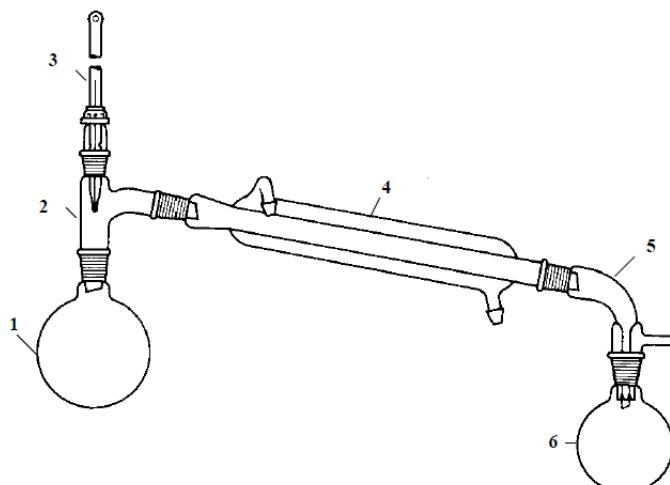
#### **2.1. JEDNOSTAVNA DESTILACIJA**

Za pročišćavanje tekućina čije je vrelište do 200 °C, kao i za razdvajanje smjesa tekućina čija se vrelišta razlikuju za više od 80 - 100 °C, koristi se *jednostavna destilacija pri normalnom tlaku*.

Kod jednostavne destilacije kondenzat se ne dovodi u dodir s parama koje izlaze iz tikvice.

Aparatura za destilaciju (slika 6) sastoji se od:

- tikvice s okruglim dnom (1),
- nastavka za destilaciju - tzv. "račve" (2),
- termometra (3),
- hladila (4),
- nastavka za hvatanje destilata - tzv. "lule" (5),
- predloške za hvatanje destilata (najčešće Erlenmeyerova tikvica; 6).



*Slika 6.* Aparatura za jednostavnu destilaciju

## 2.2. DESTILACIJA S VODENOM PAROM

Za izbjegavanje destilacije kod visoke temperature koristi se destilacija s vodenom parom i/ili vakuum-destilacija.

Destilacija s vodenom parom primjenjuje se za izolaciju neke tvari iz smjese i za čišćenje organskih tvari visokog vrelišta (iznad 200 °C) koje bi se termički razgradile jednostavnom destilacijom kod atmosferskog tlaka. Organske tvari, koje se s vodom ne miješaju, imaju svojstvo da isparavaju zajedno s vodenom parom, pri temperaturi nižoj od njihova vrelišta odnosno nižoj od 100 °C. Tu činjenicu objašnjava *Daltonov zakon parcijalnih tlakova* za najjednostavniji binarni sustav:

$$p = p_A + p_B$$

Tlak para iznad heterogene smjese (smjesa dviju tekućina koje se ne miješaju) jednak je zbroju parcijalnih tlakova obiju komponenti za danu temperaturu, bez obzira na sastav smjese. Dakle, svaka komponenta u takvoj smjesi ponaša se kao čista tekućina. Kako je tlak para iznad takve smjese veći od parcijalnih tlakova pojedinih komponenti, on će se izjednačiti s vanjskim tlakom pri nižoj temperaturi, odnosno vrelište heterogene smjese biti će niže od vrelišta bilo koje od komponenti.

Tvari koje destiliraju s vodenom parom, moraju imati sljedeća svojstva:

- što manju topljivost u vodi,
- tlak para pri 100 °C viši od 667 Pa (5 mm živina stupca),
- stabilnost tijekom zagrijavanja s vodom.

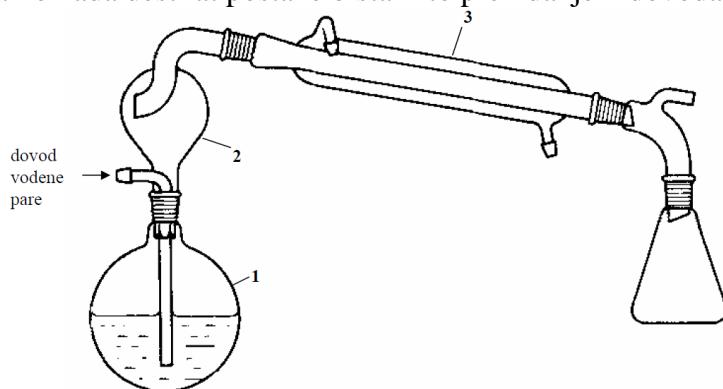
Destilacija s vodenom parom osobito je pogodna za izolaciju i čišćenje tvari koje se pri svojim vrelištima raspadaju (npr. izolacija eteričnih ulja) ili za izolaciju tvari prisutnih u niskoj koncentraciji u smjesi nehlapljivih spojeva (npr. izolacija anilina iz reakcijske smjese).

### *Izvodenje destilacije s vodenom parom*

Aparatura za destilaciju vodenom parom (slika 7) nešto je modificirana u odnosu na aparaturu za jednostavnu destilaciju. Vodena para se razvija u metalnom kotliću (generator pare), a umjesto "račve" na tikvicu (1) se postavi nastavak za destilaciju vodenom parom (2). Taj nastavak ima dva otvora, jedan za dovod vodene pare iz kotlića, a drugi za odvod para u vodeno hladilo (3).

Kotlić za razvijanje vodene pare puni se destiliranim vodom do 2/3 volumena, a staklena cijev koja je kroz pluteni čep postavljena gotovo do dna kotlića služi za izjednačavanje tlaka u sustavu ("sigurnosni ventil"). Dovod pare priključuje se na aparaturu tek kada para počne izlaziti iz kotlića.

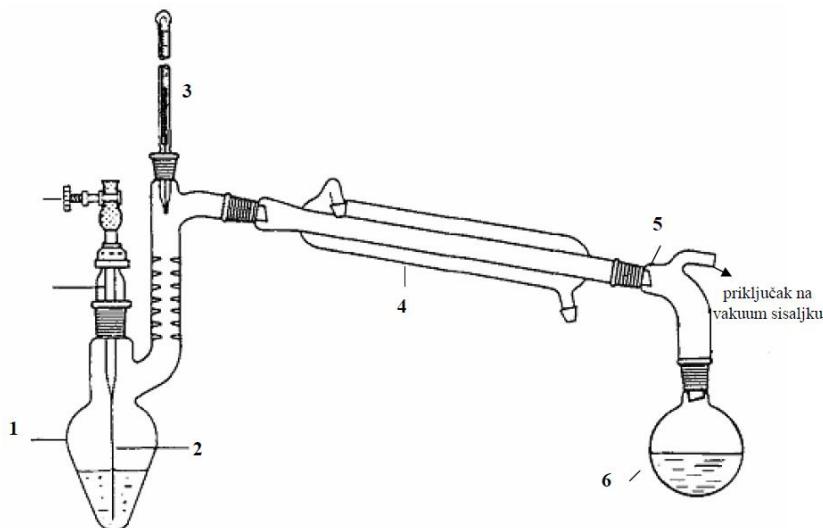
Destilacija se izvodi tako da se u tikvicu s tvari (1) uvodi vodena para iz kotlića, dolazi do isparavanja tvari i vode, a pare se kondenziraju u vodenom hladilu i skupljaju u predlošku. Destilaciju prekidamo kada destilat postane bistar i to prekidanjem dovoda pare u tikvicu.



*Slika 7.* Aparatura za destilaciju s vodenom parom

### 2.3. DESTILACIJA PRI SNIŽENOM TLAKU

Destilacija pri sniženom tlaku primjenjuje se za destilaciju tvari koje imaju vrelišta viša od  $200^{\circ}\text{C}$  ili se raspadaju vrenjem pri normalnom tlaku. Smanjivanjem tlaka sustava u kojem se tekućina zagrijava snižava se i temperatura vrenja. Ta destilacija zove se i **vakuum-destilacija**. Snižavanje tlaka u sustavu provodi se priključivanjem aparature na vakuum-pumpu. Najčešće koristi vakuum sisaljka na vodenim mlazima, a za postizanje još nižih tlakova upotrebljava se pumpa na ulje.



*Slika 8.* Aparatura za vakuum-destilaciju

Aparatura za vakuum-destilaciju (slika 8) sastoji se od Claisenove tikvice ili okrugle tikvice s Claisenovim nastavkom (1), kapilare (2), termometra (3), vodenog hladila (4), lule (5) i predloška (6). Kapilara koja je postavljena u vertikalni odvod Claisenova nastavka ide gotovo do dna tikvice i služi za reguliranje vrenja. Zbog razlike tlakova sustava i okoline zrak struji kroz kapilaru i miješa tekućinu. Lula koja se koristi kod ove destilacije ima "šlifove" na oba kraja i odvod za priključivanje na sisaljku na vodenim mlazima ili vakuum-pumpu. Kod vakuum-destilacije za predlošku ne smije se nikad upotrebljavati Erlenmeyerova tikvica nego samo tikvica s okruglim dnem (zbog opasnosti od implozije).

### 3. SUBLIMACIJA

Neke čvrste tvari imaju tako visok tlak para da mogu ispariti prije nego što se rastale. Pojava isparavanja čvrste tvari, odnosno neposredno prelaženje čvrste tvari u plinovito stanje naziva se **sublimacija**. To se dešava u onom trenutku kada se izjednači tlak para čvrste tvari s atmosferskim. Temperatura kod koje se to dešava naziva se **temperatura sublimacije**. Kao i za tekućine vrijedi da ukoliko čvrsta tvar ima veći tlak para, ta ista imat će nižu temperaturu sublimacije i obrnuto.

Tom pojavom odlikuje se dosta veliki broj i elemenata i spojeva kao što su na primjer: sumpor, jod, amonijev klorid, živin(II) klorid, živin(II) jodid, naftalen, kamfor i drugi. Temperatura kod koje dolazi do sublimacije neke tvari je niža od temperature taljenja, ali uz određeni tlak to je uvjek ista karakteristična vrijednost. Stoga se sublimacija može vrlo korisno upotrijebiti za čišćenje spojeva, bilo da su onečišćeni tvarima koje ne sublimiraju ili da sadrže primjese koje također sublimiraju, ali na nekoj drugoj temperaturi.

Tvari stabilne na zraku i povišenoj temperaturi mogu se uspješno sublimirati uz atmosferski tlak. Za nestabilne spojeve, kao i za one kojima je temperatura sublimacije relativno visoka, često se koristi sublimacija uz sniženi tlak. Na taj se način postiže da tvar sublimira na znatno nižoj temperaturi, čime se čuva od oksidacije ili raspadanja.

Sublimacija se u laboratoriju može izvoditi na različite načine. Kao najjednostavnija aparatura može poslužiti koso položena epruveta, zatim čaša pokrivena satnim stakлом, satno staklo pokriveno lijevkom i slično.

### 4. EKSTRAKCIJA

*Ekstrakcija* je jedna od metoda za pročišćavanje i za izolaciju neke tvari iz otopine, suspenzije, emulzije ili krute smjese pomoću otapala. Bilo da se radi o ekstrakciji iz tekuće (*ekstrakcija tekuće-tekuće*) ili iz čvrste faze (*ekstrakcija čvrsto-tekuće*), organsko otapalo koje se primjenjuje za ekstrakciju treba zadovoljiti sljedeće uvjete:

- otapalo mora biti kemijski inertno prema prisutnim tvarima,
- tvar koju ekstrahiramo mora imati što bolju topljivost u tom otapalu,
- otopina iz koje ekstrahiramo željenu tvar i otapalo moraju se što više razlikovati u gustoći,
- otapalo ne smije imati previšoko vrelište kako bi se, nakon ekstrakcije, moglo lako ukloniti,
- otapalo mora biti što manje zapaljivo, otrovno i jeftino.

Otapala koja se najčešće koriste za ekstrakciju u organskom laboratoriju su: dietil-eter, kloroform, petroleter, diklormetan itd.

#### *Teorijsko objašnjenje ekstrakcije*

Fenomen ekstrakcije temelji se na različitoj topljivosti tvari koju želimo izdvojiti iz otopine i primjesa koje prate tvar, u dva otapala koja se ne miješaju. Pri tom dolazi do *razdjeljenja* (particije) tvari između dva otapala. Većinom su to voda (odnosno vodena otopina tvari) i neko organsko otapalo koje se ne miješa s vodom. Ekstrakcija je opisana *Nernstovim zakonom razdjeljenja*:

$$K = c_1 / c_2,$$

gdje su

K = koeficijent razdjeljenja

c<sub>1</sub>, c<sub>2</sub> = ravnotežne koncentracije (množinske ili masene) tvari u dva otapala

Koeficijent razdjeljenja K jednak je omjeru topljivosti tvari u oba otapala, konstantan je pri određenoj temperaturi i ovisi o prirodi tvari.

Učinak ekstrakcije je bolji ako se postupak ponovi više puta, odnosno ako se ekstrakcija provode više puta s manjom količinom otapala nego jedanput s većom. Nepisano pravilo ekstrakcije kaže da se ekstrakcija ponavlja tri puta.

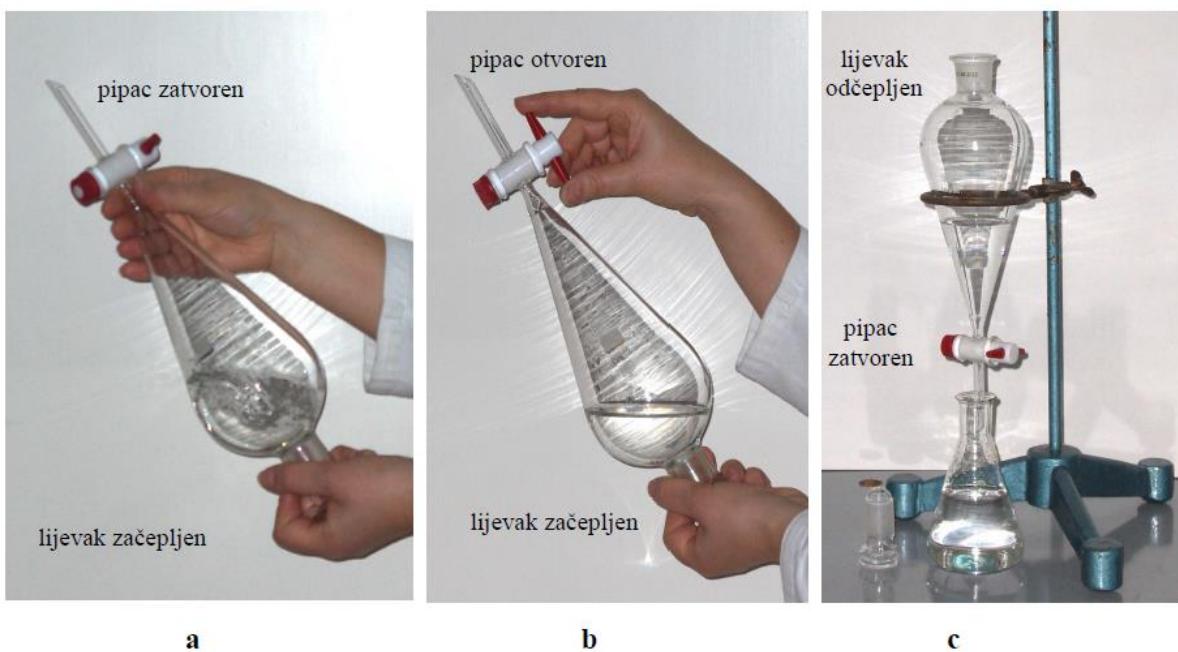
### ***Ekstrakcija tekuće-tekuće***

*Ekstrakcija tekuće-tekuće*, koju nazivamo i izmućivanje, izvodi se u *lijevku za odjeljivanje*.

Izmućivanjem otopine s nekim otapalom s kojim se ona ne miješa stvara se velika dodirna površina između dvije tekuće faze i povećava uspješnost ekstrakcije.

#### **1) Ekstrakcija**

Prema volumenu otopine iz koje ekstrahiramo željenu tvar i volumenu otapala odabire se veličina lijevka za odjeljivanje. Lijevak se puni, preko običnog staklenog lijevka, do najviše 2/3 volumena. Začepljeni lijevak se energično protrese (izmućka), a tlak nastao u lijevku izjednači se s vanjskim tlakom otvaranjem pipca (slika 9). Zatim se lijevak stavi na željezni prsten kako bi se slojevi odijelili. Preporučuju se najmanje tri uzastopna izmućivanja sa svakim obrokom otapala.



**Slika 9.** Rad s lijevkom za odjeljivanje: **a** - izmućavanje, **b** - izjednačavanje tlakova, **c** - odjeljivanje slojeva

#### **2) Isoljavanje**

Ako se prilikom ekstrakcije stvari emulzija ili se slojevi ne odvoje, vrši se *isoljavanje*. Neke organske tvari imaju relativno veliku topljivost u vodi, pa ih *isoljavamo* iz vodene otopine dodatkom anorganskih soli čija je topljivost u vodi veća. Za isoljavanje najčešće se koristi NaCl (kuhinjska sol) koja se dodaje otopini ili emulziji organske tvari do nastanka zasićene otopine. Osim isoljavanja, emulzija se može razbiti centrifugiranjem, običnom filtracijom ili duljim stajanjem.

#### **3) Odvajanje slojeva**

Ispuštanje donjeg sloja provodi se otvaranjem pipca (lijevak odčepljen!), a gornji sloj se izlijeva kroz gornji otvor lijevka. Ako je jedan sloj organski, a drugi voden, organski sloj se obavezno izlijeva u suhu Erlenmeyerovu tikvicu. Sloj iz kojeg se ekstrahira željena tvar vratiti se u lijevak i ekstrakcija ponovi s novom količinom organskog otapala. Organski ekstrakti dobiveni višestrukom ekstrakcijom sakupljaju se u istu Erlenmeyerovu tikvicu.

#### *4) Sušenje organskog ekstrakta*

Tijekom ekstrakcije organskih tvari iz vodene otopine, određena količina vode otopi se u organskom otapalu, a dijelom i emulgira. Uklanjanje vode iz organskog ekstrakta izvodi se dodatkom nekog sredstva za sušenje. Sredstvo za sušenje ne smije biti topljivo u organskom otapalu i ne smije reagirati ni s otapalom ni s otopljenom tvari. Parametri kojima se karakteriziraju sredstva za sušenje su kapacitet, efikasnost sušenja i brzina sušenja. Sredstva za sušenje mogu se podijeliti u tri skupine:

- U prvu skupinu spadaju bezvodne anorganske soli koje kristaliziraju s molekulama vode. Najčešće se koriste bezvodni kalcijev klorid (ali ne za spojeve koji imaju hidroksilne i aminoskupine), natrijev sulfat i magnezijev sulfat.
- U drugu skupinu spadaju vrlo higroskopne tvari koje adsorbiraju vodu iz ekstrakta. To su natrijev hidroksid i kalijev hidroksid koji se upotrebljavaju uglavnom za sušenje amina. Danas se često upotrebljavaju i molekulska sita (sintetski natrijevi i kalcijevi aluminosilikati) koja vežu molekule vode u šupljine svoje kristalne rešetke.
- Treću skupinu čine sredstva za sušenje koja reagiraju s vodom i alkoholima i irreverzibilno ih uklanjaju iz aprotonskih otapala, ali se zbog svoje reaktivnosti upotrebljavaju samo za jako sušenje organskih otapala, a ne ekstrakata. To su npr. natrij koji s vodom tvori hidrokside, konc.  $H_2SO_4$  i dr.

U združene organske ekstrakte doda se sredstvo za sušenje i ostavi pola sata uz povremeno potresanje. Sredstvo za sušenje ukloni se iz suhe, bistre otopine dekantiranjem (ako je moguće) ili filtriranjem organskog ekstrakta.

Parametri kojima se karakteriziraju sredstva za sušenje su:

- kapacitet sušenja – maksimalna količina vode koju tvar može vezati po jedinici mase tvari;
- efikasnost sušenja – odnosi se na količinu vode koja je zaostala u organskoj tvari nakon sušenja;
- brzina sušenja – brzina apsorpcije vode na tvari za sušenje.

#### *5) Otparavanje otapala*

Izvodi se destilacijom pri normalnom ili sniženom tlaku, a često se ekstrahirana tvar destilira kod temperature vrenja u drugu predlošku. Ako je ekstrahirana tvar krutina daljnje čišćenje se provodi prekristalizacijom ili kromatografijom.

## **5. KROMATOGRAFIJA**

Tvari koje se nalaze u prirodi, kao i produkti sinteza, najčešće se javljaju u kompleksnim smjesama. Klasične metode odjeljivanja (kristalizacija, sublimacija, ekstrakcija, destilacija) samo donekle mogu riješiti problem odjeljivanja individualnih komponenti iz smjese. Većina smjesa organskih spojeva je složena zbog velikog broja spojeva koji često imaju slična fizikalno-kemijska svojstva. Mnogi od njih imaju slične ili čak iste molekulske formule, te mogu biti konstitutivni izomeri i stereomeri. Zbog navedenog, odjeljivanje komponenti iz smjese može predstavljati ozbiljan problem. Razdvajanje antibiotika, vitamina, hormona, polipeptida, terpena, alkaloida i drugih srodnih spojeva riješeno je uporabom kromatografije. Naziv kromatografija potječe od ruskog kemičara Tswett-a koji je 1906. god. uveo ovu tehniku za odjeljivanje biljnih boja. Kasnije se ime prenijelo na sve postupke odjeljivanja kod kojih se komponente smjese razdjeljuju između stacionarne i mobilne faze. Keulemans je dao općenitu definiciju za ovu tehniku:

**“Kromatografija je metoda odjeljivanja kojom se komponente razdjeljuju između dviju faza; jedna je stacionarna s velikom površinom, a druga je mobilna.”**

Stacionarna faza može biti krutina ili kapljevina, a mobilna kapljevina ili plin. Mobilna faza putuje preko ili uzduž stacionarne faze utjecajem kapilarnih sila, sile teže, razlike tlakova i sl. Kromatografski proces se temelji na uspostavljanju dinamičke ravnoteže nekog spoja između stacionarne i mobilne faze: u stacionarnoj fazi nalazi se dio tvari koji je u ravnoteži s dijelom u mobilnoj fazi. Zbog gibanja mobilne faze narušava se ravnoteža i molekule putuju u smjeru gibanja mobilne faze. Zbog specifične interakcije različitih spojeva sa stacionarnom i mobilnom fazom, različiti spojevi putuju različitim brzinama i tako se odjeljuju. Sam proces odjeljivanja zasniva se na sljedećim načelima: adsorpciji, razdjeljenju, difuziji, ionskoj izmjeni, kiralnosti i dr. Velika moć razlučivanja kromatografskih metoda zasniva se na pojavi uzastopnog ponavljanja primarnog postupka razdjeljivanja neke tvari između mobilne i stacionarne faze. Budući se uspostavljanje ravnoteže neprestano ponavlja, to i male razlike u razdjeljivanju između stacionarne i mobilne faze dovode do dobrog odjeljivanja tvari. Na uspješnost kromatografije (osim prirode tvari, mobilne i stacionarne faze) utječu: brzina mobilne faze, temperatura sustava, omjer mase tvari koja se odjeljuje i stacionarne faze, veličina i oblik čestica sorbensa (stacionarna faza) i dr.

Prema agregatnom stanju stacionarne i mobilne faze, načinu izvedbe, kao i prema fizikalno-kemijskim procesima tijekom razdvajanja razlikujemo sljedeće vrste kromatografije:

- **adsorpcijska kromatografija** - stacionarna faza je kruti adsorbens, a mobilna faza može biti kapljevina ili plin (tekućinska adsorpcijska kromatografija (LSC, engl. Liquid Solid Chromatography) i plinska adsorpcijska kromatografija (GSC, engl. Gas Solid Chromatography)),
- **razdjelna kromatografija** - stacionarna faza je kapljevina vezana za sorbens ili fino zrnatu inertnu krutinu, a mobilna kapljevina ili inertni plin (tekućinska razdjelna kromatografija LLC, engl. Liquid Liquid Chromatography) i plinska razdjelna kromatografija (GLC, engl. Gas Liquid Chromatography),
- **ionsko-izmjenjivačka kromatografija** - temelji se na interakciji naboja između molekula uzorka i naboja stacionarne faze. Ionski izmjenjivač je stacionarna faza (npr. polimer koji sadrži benzensulfonske grupe može na sebe vezati proteine sa suprotnim nabojem od naboja funkcijeske skupine na polimeru). Koristi se za pročišćavanje proteina, peptida, aminokarboksilnih kiselina, oligonukleotida i drugih molekula s nabojem. Eluiranje se postiže poništavanjem ionskih interakcija promjenom ionske jakosti ili promjenom pH proteina.
- **afinitetna kromatografija** - se zasniva na sposobnosti proteina da vežu određene male molekule. Molekula supstrata odabranog enzima se veže kovalentno za određeni nosač (stacionarna faza), koji se stavi u kolonu. Tako se iz proteinske otopine koja se propušta kroz kolonu sa određenom stacionarnom fazom veže samo pripadni enzim.

## Tankoslojna kromatografija

Odjeljivanje se kod TLC (engl. Thin Layer Chromatography) temelji na adsorpciji ili razdjeljenju. Najčešće se koristi adsorpcijska kromatografija na tankom sloju adsorbensa (stacionarna faza) nanesenom na staklenu ploču. Debljina sloja adsorbensa ovisi o namjeni kromatografije. Kao adsorbensi pretežno se upotrebljavaju silikagel, aluminijev oksid i dr. Najjednostavnija izvedba je tzv. "uzlazna kromatografija", slike 10 i 11.

Tankoslojnom kromatografijom može se doznati broj komponenti u smjesi. Upotrebljava se i za praćenje reakcije (nestajanje reaktanata i stvaranje produkata). Tankoslojnom kromatografijom može se pronaći otapalo optimalne polarnosti za razdvajanje komponenti kromatografijom na stupcu. Može se upotrebljavati i u preparativne svrhe, gdje se upotrebljavaju preparativne ploče s debljim slojem krutog adsorbensa. Nakon nanošenja, razvijanja i detekcije zone s komponentama od interesa, slojevi na kojima se nalaze pojedine komponente se odijele s ploče i ekstrahiraju pogodnim otapalom.

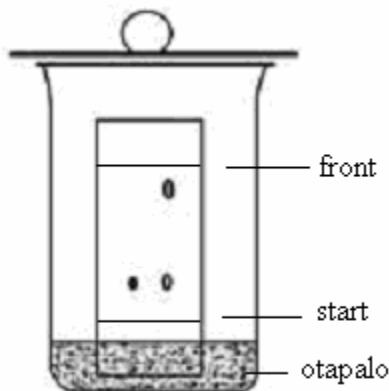
Osnovne faze rada kod tankoslojne kromatografije su:

### (a) Nanošenje uzorka

Uzorak se otopi u otapalu s niskim vrelištem, otopina se točkasto nanese kapilarom na startnu liniju koja je udaljena 1,5 - 2 cm od ruba pločice i osuši; mrlja treba biti što manja. Startna linija ne smije biti uronjena u razvijač kada se pločica stavi u kadu za kromatografiju.

### (b) Razvijanje kromatograma

Pločica se postavi u kadu za kromatografiju s pogodnim razvijačem (mobilna faza). Pomoću kapilarnih sila mobilna faza diže se uz pločicu i eluira sastojke smjesi; ova faza naziva se razvijanje kromatograma. Korisno je prethodno uroniti komad filter-papira (veličine pločice) u razvijač, kako bi se prostor u kadi za kromatografiju zasitio parama razvijača (zbog dizanja razvijača kapilarnim silama uz papir). Nakon izvlačenja pločice iz kade olovkom se označi položaj otapala (frontna linija) i zatim se pločica osuši.



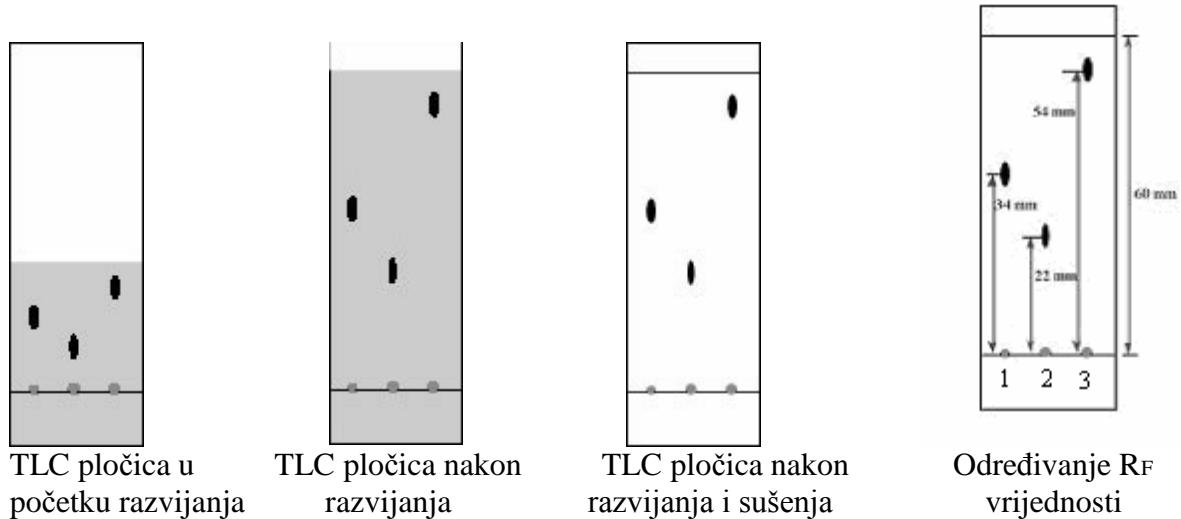
Slika 10. Razvijanje kromatograma

### (c) Obrada kromatograma

Mrlje obojenih tvari razdijeljene duž pločice se mogu vidjeti na dnevnom svjetlu. Bezbojne tvari se promatraju pod ultraljubičastim svjetлом (ukoliko sadrže pogodne skupine) ili se detektiraju pomoću određenih reagensa ("izazivanje kromatograma"). Osnovni kriterij za identifikaciju pojedinog spoja je njegova pokretljivost na tankome sloju, što se izražava pomoću  $R_F$  vrijednosti; to je omjer prijeđenog puta tvari (x) i prijeđenog puta otapala (y):

$$R_F = x / y.$$

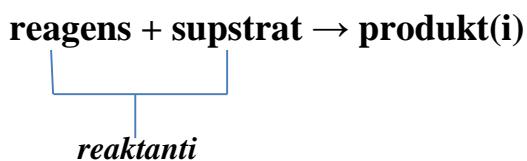
Primjeri proračuna  $R_F$  vrijednosti (slika 11):  $R_F(1) = 34 / 60 = 0,57$ ;  $R_F(2) = 22 / 60 = 0,37$ ;  $R_F(3) = 54 / 60 = 0,9$ .



*Slika 11.* Tankoslojna uzlazna kromatografija

# ORGANSKE REAKCIJE I PRIPRAVE SPOJEVA

Sinteza se jednostavno može definirati kao prevođenje polaznih reaktanata u željeni spoj:



- Supstrat** je organska molekula kojoj se mijenja funkcijksa skupina.
  - Reagens** je drugi reaktant koji sudjeluje u reakciji (može biti i anorganski).
  - Otapalo** može biti protonsko i aprotonsko.
  - Katalizator** reakcije je često anorganski spoj ili enzim.

Reakcije u organskoj kemiji dijelimo na homolitičke i heterolitičke tj. reakcije po tipu radikala i ionske. Reakcije po ionskom tipu obično se događaju u otopinama. Reagensi u organskim ionskim reakcijama se dijele na **nukleofile** (negativno nabijeni ili elektroneutralni sa slobodnim elektronskim parom - Lewisove baze) i **elektrofile** (pozitivno nabijeni ili neutralni kojima nedostaje par elektrona - Lewisove kiseline). Reakcije na ugljikovom atomu (supstratu) mogu biti elektrofilne i nukleofilne, a dijele se na:

- **adicije** - kod nezasićenih spojeva na dvostrukе ili trostrukе veze se adiraju atomi ili atomske skupine:
  - **eliminacije** - atomi ili skupine se uklanjaju iz molekule uz nastanak višestrukih veza (suprotno od adicije):
  - **supstitucije** - reagens daje atom ili skupinu koja zamjenjuje atom ili skupinu supstrata:
  - **pregradnje** (nastanak novog razmještaja atoma ili skupina u molekuli) je moguće objasniti kroz adiciju, supstituciju i eliminaciju:

Mnoge reakcije organskih spojeva možemo objasniti kroz kiselo-bazna svojstva. Oksidacije i redukcije nisu posebne vrste organskih reakcija, već odražavaju promjene elektronske gustoće na ugljikovim atomima tijekom određenih reakcija.

Općenito, organska sinteza je mjerilo naše sposobnosti korištenja i kontroliranja organskih reakcija. U praksi, sinteza se koristi za pripravu korisnih spojeva kojih u prirodi nema u dovoljnim količinama, kao i za pripravu spojeva koji se ne nalaze u prirodi, a za koje se pretpostavlja da imaju korisna svojstva. Organski kemičari provode sinteze kao krajnji dokaz strukture molekule prirodnih spojeva izoliranih iz biljnih i životinjskih materijala.

Organska sinteza može se podijeliti u četiri faze:

1. Planiranje i pripremanje sinteze što obuhvaća pregled literature
  2. Slaganje aparature u skladu sa zahtjevima i specifičnostima reakcije i sama priprava spoja
  3. Izolacija i čišćenje produkata
  4. Identifikacija dobivenih produkata

## **IDENTIFIKACIJA NEPOZNATOG ORGANSKOG SPOJA**

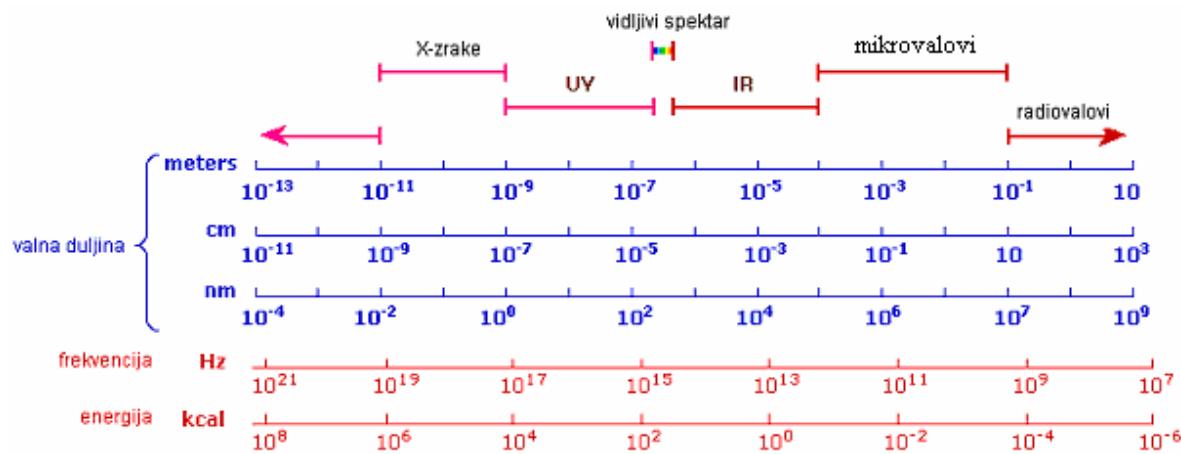
Organski kemičar često je suočen s problemom identifikacije organskog spoja, koji je produkt kemijske reakcije ili je izoliran iz prirodnih izvora. Određivanje strukture spoja zahtijeva određivanje prisutnih funkcijskih grupa i njihove lokacije u spoju, kao i pronalaženje prostornih odnosa u trodimenzionalnoj strukturi molekule. Danas se koriste kemijske i spektroskopske metode. U ovom praktikumu su opisane osnovne kemijske metode za identifikaciju tipičnih grupa organskih spojeva uz osnove spektroskopskih metoda organske analize.

Općenita procedura za identifikaciju nepoznatog organskog spoja je sljedeća:

- 1. Određivanje fizikalnih konstanti i stupnja čistoće** (npr. *temperatura taljenja* za krutine - spoj se smatra čistim ako se temperatura taljenja prekristalizacijom ne mijenja; *temperatura vrenja* za kapljevine - tvar se smatra čistom ako većina tvari destilira na konstantnoj temperaturi  $\pm 1 - 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ), izuzetak su azeotropi
- 2. Kvalitativna analiza elemenata** (elementa analiza spoja - osim C, H i O organski spojevi mogu sadržavati i druge elemente kao što su N, S, X, P, i sl.)
- 3. Određivanje topljivosti spoja** (određivanje topljivosti spoja u ograničenom broju otapala - voda, eter, 5% NaOH, 5% NaHCO<sub>3</sub>, 5% HCl, 96% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i 85% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>)
- 4. Određivanje funkcijskih skupine** (karakterističnim reakcijama dokazuje se prisustvo jedne ili više organskih funkcijskih skupina)
- 5. Priprava derivata** (pripravom i identificiranjem krutih derivata nepoznatog spoja nedvojbeno se identificira i nepoznati spoj)
- 6. Spektroskopska analiza** (spektroskopske metode analize - npr. spektroskopija u vidljivom, infracrvenom i ultraljubičastom području, nuklearna magnetska rezonancija (NMR), spektrometrija masa (MS), rentgenska struktorna analiza i sl.)

## SPEKTROSKOPSKE METODE ORGANSKE ANALIZE

Spektroskopija istražuje djelovanje elektromagnetskog zračenja na kemijski sastav i strukturu tvari i proučava spekture nastale interakcijom EM-zračenja i tvari. Ovdje su opisane osnove spektroskopskih tehnika koje se najčešće primjenjuju u organskoj analizi:

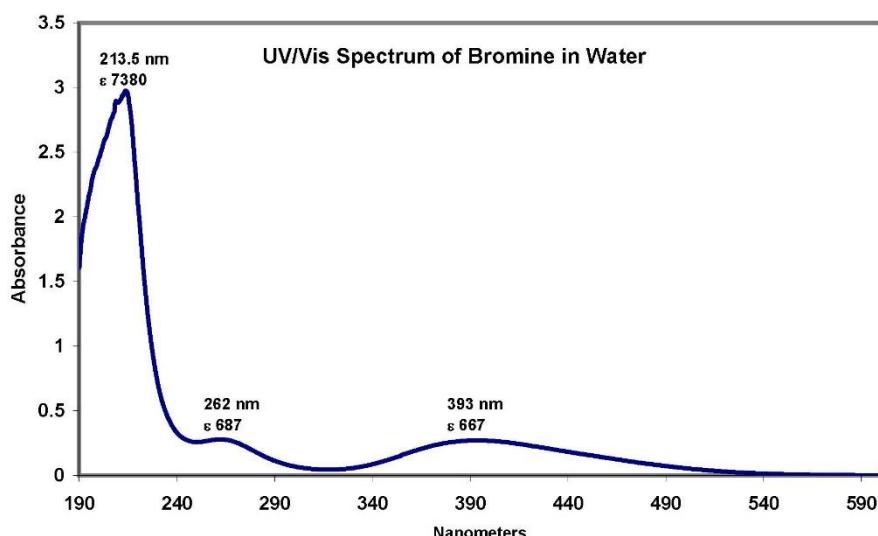


Slika 12. Spektar elektromagnetskog zračenja

### Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija

Ultraljubičasta i vidljiva spektroskopija (engl. Ultraviolet/Visible Spectroscopy, UV/VIS) općenito se odnosi na apsorpciju energije EM zračenja ultraljubičastog (100-380 nm) i vidljivog područja (380–800 nm) te pobuđivanje valentnih elektrona u s, p, i n-orbitalama (n-nevezne orbitale) organskih spojeva iz osnovnog u više energetsko stanje (tzv. antivezne molekulske orbitale; s\* i p\*). Elektronski prijelazi odgovorni za apsorpciju EM-zračenja u organskim spojevima koji se registriraju standardnim UV/VIS spektrofotometrima su  $p \rightarrow p^*$  i  $n \rightarrow p^*$  i  $s \rightarrow s^*$  prijelazi.

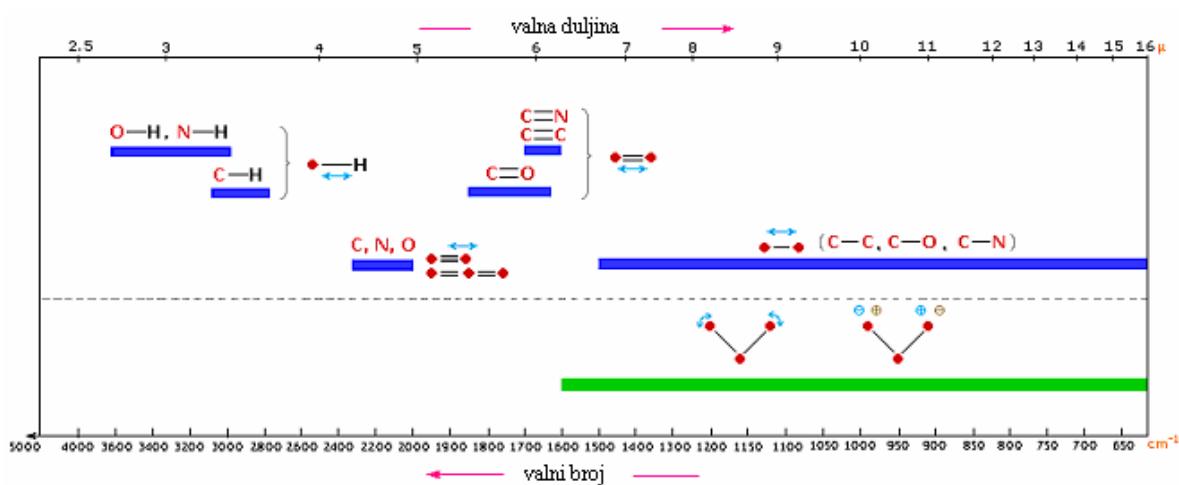
Kromofori su funkcionalne grupe koje apsorbiraju UV/VIS zračenje, a snažni kromofori sadrže nezasićene veze kao na primjer  $>\text{C}=\text{O}$ ,  $>\text{C}=\text{C}<$ ,  $-\text{N}=\text{N}-$ ,  $-\text{N}=\text{O}$ ,  $-\text{C}\equiv\text{C}-$  i druge. Povećanjem broja dvostrukih, osobito konjugiranih, veza apsorpcija se pomiče prema većim valnim duljinama. Molekula može dati više od jedne vrpce u UV spektru zbog toga što sadrži više od jednog kromofora ili se može uočiti više od jednog prijelaznog stanja jednog kromofora. Međutim, UV spektri pružaju znatno manje karakteristika za identifikaciju strukture organskih spojeva u odnosu na IR, MS ili NMR spekture.



*Slika 13.* UV/VIS spektar broma u vodi

### Infracrvena spektroskopija

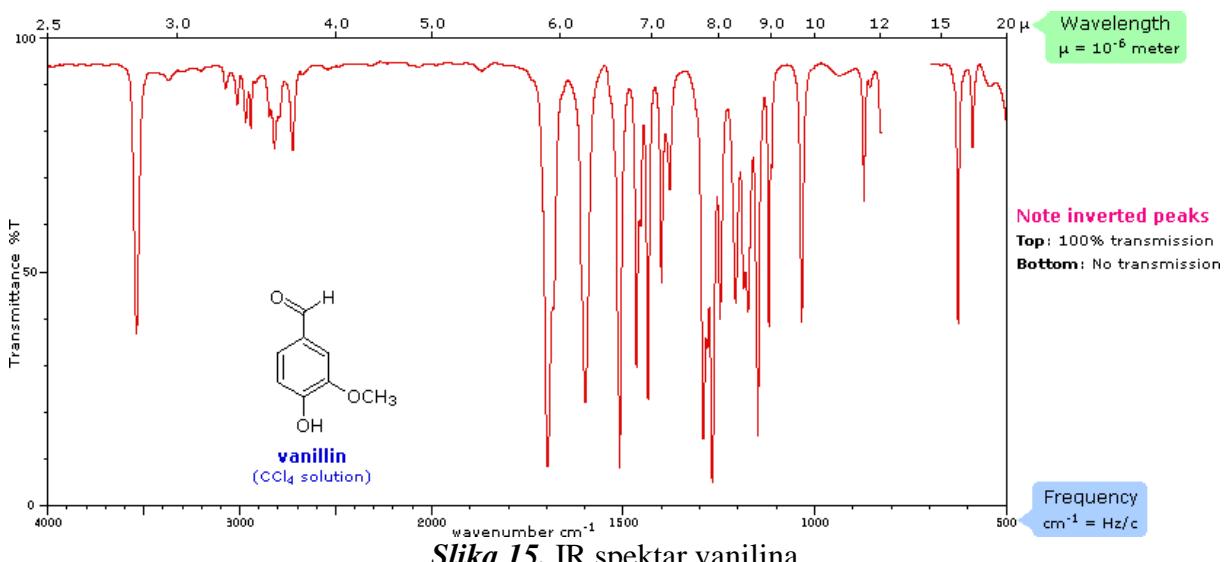
Infracrvena spektroskopija (engl. Infrared Spectroscopy, IR) obično koristi EM-zračenje valne duljine 2,5-15  $\mu\text{m}$  (4000-600  $\text{cm}^{-1}$ ). Kod ove tehnike IR zračenje se apsorbira i pretvara u energiju molekulske vibracije (periodično gibanje koje uključuje istezanje i savijanje veza). Masa atoma u molekuli, konstante jakosti veza i geometrijska struktura molekule određuju frekvenciju za apsorpciju. Uvjet za IR apsorpciju: veza koja vibrira mora biti polarna. Općenita područja infracrvenog spektra u kojima se uočavaju različite vrste vibracijskih vrpcu u IR spektrima su označene na slici 14.



*Slika 14.* Područja IR spektra u kojima se uočavaju različite vrste vibracijskih vrpcu

IR spektar se može koristiti za dobivanje informacija o funkcijskim skupinama, ali i o strukturi čitave molekule, a dijeli se na tri osnovna područja:

- **područje funkcijskih skupina (1200-4000 cm<sup>-1</sup>)** – visokofrekventno područje u kojem se nalaze karakteristične funkcijске skupine
- **područje «otiska prsta», engl. fingerprint (ispod 1600 cm<sup>-1</sup>)** – srednje frekventno područje u kojem su apsorpcije kompleksne zbog kombinacije interaktivnih vibracija dajući jedinstven «otisak prsta» za svaki spoj
- **niskofrekventno područje (700-900 cm<sup>-1</sup>)** – karakteristično je za aromatske spojeve i heteroaromatske spojeve koje pokazuju jake apsorpcijske vrpce u ovom području, a njihov položaj često odražava vrstu supstitucije (karboksilne kiseline, amidi, amini i dr.).



### Spektrometrija masa

U spektrometriji masa (engl. Mass Spectrometry, MS) spoj se ionizira dovođenjem energije molekuli, pri čemu se iz molekule izbacuje jedan ili više elektrona. Nastaje molekulski kation ( $M^+$ ) koji se dalje fragmentira ovisno o dovedenoj energiji i strukturi spoja. Postoji više načina ionizacije molekule koji se razlikuju po količini energije koja se predaje molekuli od kojih su istaknuti:

- **elektronska ionizacija** (engl. Electron Ionisation, EI) – koristi snop brzih elektrona (obično energije » 70 eV) za bombardiranje molekule u plinskoj fazi,
- **kemijska ionizacija** (engl. Chemical Ionisation, CI) – molekula se ionizira posredno pomoću druge tvari (Uzorak u plinovitom stanju se pomiješa s drugim plinom ( $\text{CH}_4$ ,  $\text{NH}_3$  i dr.) u velikom suvišku. Djelovanjem brzih elektrona (slično kao kod EI) ionizira se plin u suvišku, a dobiveni ioni plina ioniziraju molekule uzorka. Ova metoda proizvodi malu fragmentaciju i daje jasno vidljiv molekulski ion u spektru.).

Fragmentiranje molekulskog kationa ( $M^+$ ) na različite fragmente i preuređene ione s različitim intenzitetima i  $m/z$  ( $m$  - masa,  $z$  - naboј) daje informacije o strukturi molekule. Načela fragmentiranja su poznata te je moguće odrediti strukturu molekule iz spektra masa:

- **pojava intenzivnih pikova na određenim  $m/z$**  može se empirijski povezati s određenim strukturnim elementima (npr.  $m/z = 43$  jako indicira prisustvo  $\text{CH}_3\text{CO}$ -fragmenta). Informacije se mogu dobiti iz razlike mase dva pika. (npr. dominantni fragmentni ion koji se javlja 15 masenih brojeva ispod molekulskog iona sugerira gubitak  $\text{CH}_3$ -fragmenta),

- **poznavanje načela fragmentiranja iona** (slabe veze se najlakše kidaju; nastaju stabilni fragmenti (ne samo ioni, već i prateći radikali i male molekule); određena fragmentiranja ovise o sposobnosti molekula za stvaranje cikličnih prijelaznih stanja).

