

Tablica 2
RUDARSKA PROIZVODNJA KROMOVIH RUDA¹ U SVIJETU
(u tisućama tona Cr₂O₃ sadržanog u rudama)

Zemlja	Godina									
	1966.	1967.	1968.	1969.	1970.	1971.	1972.	1973.	1974.	1975.
Albanija	130	141	157	185	200	216	262	263	310	320
Brazil	10,2	8,9	11,6	14,6	27,9	83,1	146,1	124,4	—	—
Cipar	5,1	10,5	12,1	11,5	15	20,1	11,4	14,6	16,6	13,6
Filipini	195,1	155,8	161,2	168,1	196,5	150,4	124	232,3	191,7	188,8
Finska	—	2,6	15	30,1	50,5	82,6	71,8	97,9	69,5	113,5
Grčka	18,1	4,1	5,1	23,6	22,7	18,6	22,7	17,4	—	—
Indija	39,5	59,4	101,3	110,3	135,2	138,7	139,8	141,5	194,1	242,2
Iran	67,5	72	113,3	56,8	86,4	86,4	86,4	86,4	84	84
Japan ²	11,3	15,4	95	10	10,9	10,5	8,2	7,6	8,5	7,6
Južnoafrička Republika	472,8	574	569,2	594	642,5	737	661,7	724,1	825,9	906,3
Kuba	13,1	15,1	17	15,9	8	4,9	13	13	13,2	12,6
Madagaskar	—	—	—	18,6	43,4	46,4	46,4	65,4	64,7	80,6
Pakistan	9,8	18,8	11,6	12,8	12,5	13,6	16,5	8,9	6,5	4,6
Rodezija	254	185	190	181	181	272	272	272	295	295
SSSR	630	660	690	710	735	750	780	800	820	870
Sudan	10,1	9,0	11,5	12,5	13,9	10,2	12,8	16,7	10,4	7,8
Turska	277,7	249,6	235	259,3	301,7	352,1	268,3	221,7	283,2	363,5
Ukupno	2160	2140	2330	2420	2700	3000	2950	3110	3330	3660

¹ Bez Bugarske, Rumunjske i Vijetnama. ² Količina se odnosi na koncentrat kromove rude.

Tablica 3
RUDARSKA PROIZVODNJA KROMITA U JUGOSLAVIJI
(u tisućama tona Cr₂O₃ sadržanog u rudi)

Godina	1966.	1967.	1968.	1969.	1970.	1971.	1972.	1973.	1974.	1975.	1976.
Količina	18,6	15,0	14,9	9,6	14,8	12,3	10,5	1,1	0,3	0,6	0,7

Tablica 4
PROIZVODNJA KROMOVE RUDE I PRERAĐEVINA U JUGOSLAVIJI
(u tisućama tona)

Proizvod	Godina			
	1974.	1975.	1976.	1977.
Kromova ruda		1,69	2,02	1,54
Količina metala u rudi		0,57	0,68	0,45
Koncentrat		38,48	34,91	51,33
Ferokrom	38,88	53,90	42,77	36,15
Silikokrom	5,12	10,05	7,12	5,25

SSSR) 791 200 t, Evropi (bez SSSR) 518 000 t, Južnoj Americi 208 400 t, Sjevernoj Americi 6600 t i u Oceaniji 4100 t. I ovi se podaci odnose na količinu krom(III)-oksida sadržanog u iskapanoj rudi.

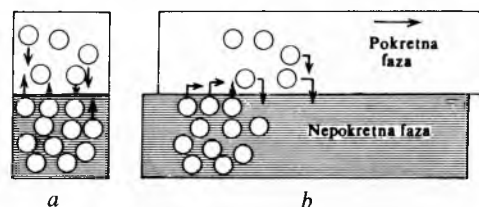
U Jugoslaviji se kromit eksploatirao više od 90 godina. Najviše se kromita proizvelo u prvim godinama nakon drugoga svjetskog rata s maksimumom u 1953. godini približno 127 000 t. Međutim, desetak godina kasnije proizvodnja kromita u Jugoslaviji opala je na svega dvadesetak tisuća tona, a od 1974. godine čak i na manje od tisuću tona godišnje (tabl. 3). Danas se kromit u Jugoslaviji praktički više i ne eksploatira. Rezerve se procjenjuju na svega oko 30 000 t relativno siromašne rude, koja se, osim toga, nalazi i na više lokaliteta.

Proizvodnja domaćih prerađivača kromne rude (tabl. 4) ovisi skoro isključivo o uvozu, uglavnom iz Grčke, Albanije i SSSR. Osim kromne rude, uvoze se i manje količine ferokroma. Godišnje potrebe domaće prerađivačke industrije iznose oko 300 000 t. Najveća separacija kromita iz kromne rude, odnosno proizvodnja koncentrata, nalazi se u Raduši (godišnji kapacitet 150 000 t). Glavni su potrošači kroma »Magnohrom«, Kraljevo (izradba vatrootalnog materijala), »Jugohrom«, Jegunovci, »Dalmacija«, Dugi Rat, i »Ruše«, Ruše (proizvodnja ferokroma).

LIT.: M. J. Udy, Chromium, Vol. I. Reinhold, New York 1956. — M. Hausen, K. Anderko, Constitution of binary alloys. McGraw-Hill, New York 1958. — H. H. Struaz, Mineralogische Tabellen. Akadem. Vlgsges., Leipzig 1966. — A. H. Sully, E. A. Brandes, Chromium. Butterworth, London 1967. — R. Durrer, G. Volkeri, Metallurgie der Ferrolegierungen. Springer Verlag, Berlin 1972.

M. Pušelj

KROMATOLOGRAFIJA, metoda odjeljivanja i analize tvari, koja se temelji na različitoj sorpciji sastojaka smjese na nekom prikladnom sorbensu, tj. na tvari sa sposobnošću sorpcije (površinskog vezivanja ili upijanja drugih tvari). Prilikom kromatografskog odjeljivanja postoji reverzibilno međusobno djelovanje između sastojaka smjese, pokretne (mobilne) faze i sorbensa (nepokretne faze). Pokretna faza (neki plin ili tekućina) nosi sastojke smjese i kreće se iznad sorbensa. Prilikom svog putovanja molekule sastojaka smjese neprestano se sorbiraju i desorbiraju (sl. 1). Nepokretna (stacionarna) faza mora biti tako odabrana da je zadržavanje molekula na njoj selektivno, pa različiti sastojci putuju različitom brzinom i tako se jedan od drugog odjeljuju.



Sl. 1. Raspodjela između dviju faza. a dinamička ravnoteža molekula između mirujućih faza, b model kromatografskog procesa

Prvi rad, u kojem je opisan i objašnjen postupak odjeljivanja sastojaka smjese koja prolazi kroz stupac adsorbensa, nazvan kromatografijom, objavio je M. Cvet 1906. god. Tek od 1931. god. kada su R. Kuhn i E. Lederer opisali odjeljivanje karotena, kromatografski se postupci šire primjenjuju. A. J. P. Martin i R. L. M. Synge prvi su upotrijebili (1941) tekućinu kao nepokretnu fazu nanijetu u tankom sloju na podlogu velike površine. Za razvoj papirne kromatografije, nakon njenih početaka 1944. godine, najzaslužniji su isti autori, a primjenom plina kao pokretne i tekućine kao nepokretne faze otvorili su A. J. P. Martin i A. T. James 1952. god. novo područje — plinsku kromatografiju. E. Stahl je 1956. god. opisao mogućnosti kromatografskog postupka u kojem je adsorbens razastrt u tankom sloju na staklenoj ploči (tankoslojna kromatografija), a koji su već 1938. god. primijenili N. A. Izmailov i M. S. Šrajber. U posljednje vrijeme neke su vrste kromatografskih separacija znatno poboljšane ili su razvijene nove, npr. ionskoizmjenjivačka, visokotlačna tekućinska i izdvojna (gelna) kromatografija.

Zahvaljujući svojoj širokoj primjenljivosti i jednostavnosti, kromatografija je danas rutinska metoda, pa se uređaji za kromatografiranje ubrajaju u standardnu laboratorijsku opremu. Kromatografija služi za pročišćavanje i izolaciju mnoštva tvari. Kako ponašanje neke tvari u kromatografskom sustavu ovisi o njenoj fizikalnoj i kemijskoj prirodi, kromatografija se upotrebljava za određivanje nekih fizikalnih i kemijskih karakteristika i svojstava tvari. To je u prvom redu analitička primjena (kvalitativna i kvantitativna kemijska analiza), ali i određivanje termodinamičkih i kinetičkih veličina ispitivane tvari. Kromatografska analiza ne zaostaje u mnogim svojim karakteristikama za kemijskim analitičkim metodama, a ima pred njima i nekih prednosti. Većina je kromatografskih aparatura relativno jednostavna i jeftina, a često se i s vrlo malim količinama uzorka postize visoka osjetljivost.

Kako se kromatografsko odvajanje osniva na reverzibilnim fizikalnim procesima, ispitivane se tvari ne mijenjaju i mogu se regenerirati. Kemijski spojevi izolirani iz smjesa kromatografskim postupcima vrlo su čisti (kromatografski čisti). Kako je čistoća tvari osnovni uvjet za određivanje njenih svojstava, kromatografija je postala nezamjenjiva operacija u svim granama znanosti povezanim s kemijskim spojevima i njihovim reakcijama. Posebna je odlika kromatografije što omogućuje odvajanje i analiziranje i takvih tvari kojih prisutnost u smjesi nije poznata, a često je i neočekivana.

Kromatografske metode i njihove mogućnosti razlikuju se s obzirom na agregatno stanje pokretne i nepokretne faze. U *plinskoj kromatografiji* pokretna faza je plin, a u *tekućinskoj kromatografiji* to je tekućina. Dalja podjela unutar tih dviju osnovnih grupa proizlazi iz razlike u primijenjenoj nepokretnoj fazi. U plinskoj kromatografiji kao nepokretna faza može služiti tekućina nanosena na čvrsti nosač (plinsko-tekućinska kromatografija) ili to može biti čvrsti adsorbens (plinsko-adsorpcijska kromatografija). U tekućinskoj kromatografiji podjela je s obzirom na nepokretnu fazu mnogo šira, jer osim tekućine ili adsorbensa kao nepokretna faza može služiti ionski izmjenjivač i neionski umreženi polimer (gel).

Uz adsorbens kao nepokretnu fazu (adsorpcijska kromatografija) mogu se primijeniti tri načina izvedbe kromatografskog procesa: *eluiranje* ili *ispiranje*, u kojem struja inertne pokretne faze nosi sastojke smjese razdvajane na nepokretnoj fazi, *frontalna analiza*, u kojoj je pokretna faza sama razdvajana smjesa, i *istiskivanje*, u kojem se pokretna faza adsorbira jače od svakog sastojka u razdvajanoj smjesi i tako istiskuje sastojke s adsorbensa.

Na tekućoj nepokretnoj fazi (razdjelna kromatografija) proces separacije je selektivno otapanje sastojaka, pa je tehnika izvođenja gotovo uvijek eluiranje ili ispiranje.

Plinskokromatografska separacija može se izvesti samo u zatvorenom sustavu s nepokretnom fazom smještenom u koloni, a tekućinska kromatografija provodi se i u koloni (kolonska kromatografija) i na otvorenim ploham (plošna kromatografija — papirna i tankoslojna).

PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Plinska kromatografija obuhvaća kromatografske postupke u kojima je pokretna faza u plinovitom stanju. U plinskoj kromatografiji sastojci smjese mogu se odijeliti diferencijalnom adsorpcijom na adsorbensu (plinsko-adsorpcijska kromatografija) ili diferencijalnim otapanjem u prikladnoj selektivnoj tekućini nanijetoj u tankom sloju na veliku površinu (plinsko-tekućinska kromatografija). Instrumentalna su rješenja u oba postupka jednaka.

Početak plinske kromatografije uzima se 1952. godina kad su A. T. James i A. J. P. Martin objavili odjeljivanje organskih kiselina na tekućoj nepokretnoj fazi uz plin kao mobilnu fazu, tj. kad je uvedena plinsko-tekućinska kromatografija. Postupci temeljeni na plinsko-adsorpcijskoj kromatografiji poznati su u analizi plinova još od 1905. godine (W. Ramsay). Međutim, tek radom na tekućim nepokretnim fazama otvorene su velike mogućnosti primjene plinske kromatografije u analizi hlapljivih spojeva. Razvoj plinske kromatografije bio je vrlo brz, pa su već 1955. godine komercijalni plinski kromatografi pružali pouzdane rezultate analize. Dalja usavršavanja u detekciji (ionizacijski detektori — J. E. Lovelock, 1958, R. A. Dewar, 1958) i visokoj djelotvornosti kolone (kapilarne kolone — M. J. E. Golay, 1958) omogućila su

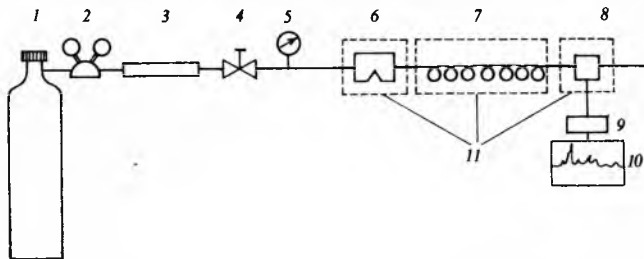
vrlo brze i djelotvorne separacije, visoku osjetljivost i točnost rezultata. U tom razdoblju plinska kromatografija postaje vodeća analitička tehnika u naftnoj i polimernoj industriji, a od 1960. godine, uvođenjem novih nepokretnih faza i pripravom derivata pogodnih za plinskokromatografsku separaciju, počinje njezina primjena u analizi biološki i medicinski važnih spojeva kompleksne strukture i velikih molekula (W. J. A. VandenHeuvel, E. C. Horning, S. R. Lipsky, H. H. Wotiz, T. Luukkainen, D. Exley i drugi).

Velike mogućnosti u plinskokromatografskoj analizi otvorene su povezivanjem plinskog kromatografa sa spektrometrom masa kao detektorom koji omogućuje identifikaciju odijeljenih sastojaka (R. Ryhage, 1964). Usavršavanje vezanog sustava plinska kromatografija—spektrometrija masa (GC-MS) još uvijek je u toku i s kompjutorskom obradom podataka danas pruža najveće mogućnosti u analizi složenih smjesa organskih i mnogih anorganskih spojeva.

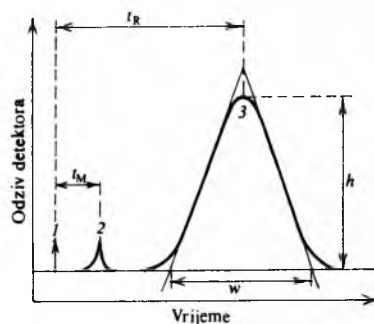
Osnove procesa separacije plinskom kromatografijom. Od mogućih načina kromatografske separacije primjenjuje se eluiranje (ispiranje). Tim se postupkom sastojci smjese mogu potpuno odvojiti, a po izlasku iz kolone pomiješani su samo s plinom nosiocem. To olakšava njihovo kvalitativno i kvantitativno određivanje i po potrebi sakupljanje, a kolona se stalno regenerira protjecanjem plina nosioca.

Za provođenje plinskokromatografske analize potrebno je osigurati stalno strujanje plina nosioca, kromatografsku kolonu u prostoru sa stalnom temperaturom, uređaj za ubacivanje uzorka (injektor), detektor i pisalo (sl. 2). Određena količina ispitivane smjese uvodi se strujom inertnog plina (plin nosilac) u kromatografsku kolonu, u kojoj se sastojci razdvajaju između sorbensa (nepokretne faze) i plina nosioca (pokretne faze). Eluiranje veoma sorbiranih sastojaka može se pospješiti povećanjem temperature za vrijeme rada, tzv. programiranjem temperature. Prisutnost odijeljenih sastojaka smjese u plinu nosiocu po izlasku iz kolone utvrđuje se u detektoru, uređaju koji količinu eluiranog sastojka kao funkciju vremena registrira u obliku kromatograma. Odziv detektora samo za pokretnu fazu daje na kromatogramu osnovnu liniju, na kojoj se ispisuju krivulje eluiranja nastale kao odziv detektora za svaki odijeljeni sastojak što izlazi iz kolone. Odziv detektora registrira se na zapisnom uređaju (pisalo) kao kromatogram, koji, već prema broju međusobno odijeljenih sastojaka u koloni, sadrži razmjern broj krivulja eluiranja ili pikova (engl. peak, vrh).

Vrijeme zadržavanja, t_R , karakteristična je veličina za svaki eluirani sastojak, a visina krivulje eluiranja i njena površina proporcionalni su količini sastojaka (sl. 3). Oblik krivulje eluiranja



Sl. 2. Shema plinskog kromatografa. 1 boca s komprimiranim plinom nosiocem, 2 redukcijski ventil, 3 uređaj za čišćenje plina nosioca, 4 regulator tlaka i protoka, 5 manometar, 6 uređaj za unošenje uzorka (injektor), 7 kromatografska kolona, 8 detektor, 9 pojačalo, 10 zapisna sprava (pisalo), 11 termostairani prostori



Sl. 3. Osnovni podaci na kromatogramu. 1 ubacivanje uzorka, 2 krivulja eluiranja inertnog sastojka, 3 krivulja eluiranja sorbiranog sastojka, t_M i t_R vremena zadržavanja sastojka, h visina i w širina krivulje eluiranja

na kromatogramu općenito odgovara Gaussovoj krivulji raspodjele. Vrijeme zadržavanja sastojka mjeri se od časa ubacivanja uzorka do maksimuma krivulje eluiranja, a ovisi ne samo o naravi eluiranog sastojka i nepokretne faze nego i o tzv. mrtvim volumenima u kromatografskom uređaju, o plinskom volumenu kolone, protoku, razlici u tlaku uzduž kolone, temperaturi i količini nepokretne faze.

Promjena temperature kolone utječe na brzinu izlaženja sastojka i na širinu zona. S porastom temperature općenito opada vrijeme zadržavanja, jer su koeficijent raspodjele i širina zone manji zbog manje molekularne difuzije. Na nižoj temperaturi obično se razlučivanje poboljšava, jer se razmak između zona povećava više od širenja zone.

Aparatura i radni uvjeti važan su čimbenik u postizanju dobre separacije, jer, osim dobre selektivnosti nepokretne faze, treba postići visoku djelotvornost vezanu uz pripremu kolone, aparatura rješavanja i izbor radnih uvjeta.

Tlak i protok plina nosioca moraju se strogo kontrolirati, što se za male protoke najlakše postiže igličastim ventilom uz regulator tlaka s membranom. Membranski diferencijalni regulatori protoka omogućuju održavanje niskih protoka od 1...180 cm³/min s točnošću ±0,3%. Vrijednosti najpovoljnijeg protoka plina nosioca ovise o vrsti plina i dimenzijama kolone. Tako, npr., za punjene kolone promjera do 5 mm najpovoljniji protok iznosi 5...100 cm³/min, a za kapilarne kolone (promjer 0,1...0,5 mm) protok je samo 0,2...10 cm³/min. Vrsta plina nosioca ovisi u prvom redu o primijenjenom detektoru. Plin nosilac najčešće je vodik, helij ili dušik.

Količina uzorka i način njegova unošenja u kromatograf veoma utječu na uspjeh separacije. Uzorak se mora unijeti odjednom, a tekući ili čvrsti uzorak mora se potpuno i što brže ispariti. Uzorci se unose injekcijskim štrcaljkama kroz gumenu membranu (septum) ili pomoću dozirnih ventila. Količina uzorka ovisi o kapacitetu kolone vezanom uz promjer kolone i količinu nepokretne faze. Zbog vrlo malog kapaciteta kapilarnih kolona uređaj za unošenje vrlo malih količina uzorka konstruiran je tako da u kolonu propušta samo mali dio uzorka, a većina se otpušta u atmosferu.

Kromatografske kolone. Adsorbens ili tekuća nepokretna faza (nanijeta na usitnjeni kruti nosilac) može kolonu ispunjavati (punjene kolone) ili samo prekrivati njenu unutrašnju stijenku. Punjene kolone promjera 2...4 mm služe u analitičke, a šire (6...500 mm) u preparativne svrhe. I kolone malih promjera (do 1 mm) mogu biti punjene, ali se najčešće pripremaju s nepokretnom fazom nanijetom na unutrašnju stijenku (tzv. kapilarne kolone). Takve kolone izvanredno su djelotvorne ako je cijeli kromatografski sustav razmjerno izveden (mali mrtvi volumeni, regulacija protoka i dr.). Sa smanjenjem promjera kolone raste njena djelotvornost, pa su krivulje eluiranja uže i šiljatije, a povećava se i brzina eluiranja, pa cijela analiza traje ponekad samo desetak sekundi. Djelotvornost kromatografskog sustava određuje se brojem teorijskih tavana n , tj. brojem odsječaka na kojima se uspostavlja ravnoteža u procesu sorpcije i desorpcije. Pri većem broju teorijskih tavana zone odjeljivanih sastojaka uže su s obzirom na zadržavanje sastojaka, pa se djelotvornost izražava pomoću veličina koje to označuju na kromatogramu, tj. iz vremena zadržavanja sastojka (t_R) i širine krivulje eluiranja (w). Iz toga slijedi da je, npr., u kolonskoj kromatografiji broj teorijskih tavana:

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2 \quad (1)$$

Izbor tipa kolone ovisi o zadatku koji se primjenom kromatografije želi riješiti, a izbor materijala od kojeg je izrađena cijev kolone ovisi o svojstvima odjeljivanih sastojaka. S obzirom na inertnost najbolje su cijevi od stakla, nerđajućeg čelika, aluminijske ili plastične mase, npr. Teflona. Nepokretna faza mora biti što selektivnija. Tada je odjeljivanje uspješno čak i ako broj teorijskih tavana nije velik. Vrijedi i obratno, tj. za visokodjelotvorne (kapilarne) kolone selektivnost nepokretne faze nije odlučujuća za dobro razlučivanje sastojaka. *Svojstva čvrstog nosioca* tekuće nepokretne faze u punjenim kolonama vrlo su važna. On mora biti inertan, prikladnog broja, ras-

poreda i veličine pora, te granulacije. Mnoge od tih uvjeta ispunjavaju dijatomejski nosioci koji se, već prema načinu pripreme, razlikuju po inertnosti, specifičnoj površini (1...10 m²/g), a time i po količini nepokretne faze koja se može na njih nanijeti (0,5...30%).

Tekuća nepokretna faza mora biti dobro i selektivno otpalno za sve sastojke odjeljivane smjese, treba biti nehlapljiva, toplinski stabilna i kemijski inertna. Redovito se dobra selektivnost postiže primjenom tekućina kemijski sličnih odjeljivanim sastojcima. Mijenjanjem polarnosti tekuće faze može se postići potrebna selektivnost prema kemijski različitim sastojcima i kada su vrelišta jednaka. Stupanj polarnosti tekućih faza raste od nepolarnih tekućih faza parafinskog tipa (skvalan, heksadekan, Apiezon itd), preko silikonskih (SE-30, OV-101, DC-550), esterskih (dinonilftalat, dibutilftalat), poliglikolnih (Carbowax, Ucon), poliesterskih (dietilenglikolsukcinat, etilenglikoladipat, butandiolsukcinat i dr.), pa sve do najpolarnijih, npr. polarnih poliesterskih spojeva s nitrilnim grupama (β , β' -oksi-dipropionitril, tetracijanoetilirani pentaeritritol itd.).

Adsorbensi kao nepokretne faze imaju vrlo visoku moć odjeljivanja, koja u plinskoj kromatografiji nije još dovoljno iskorištena. Aktivni ugljen, silikagel, aluminijski oksid i umjetni zeoliti (molekularna sita) s velikom specifičnom površinom (200...1000 m²/g) mnogo se primjenjuju za odjeljivanje plinova i spojeva niskog vrelišta, koje je zbog slabog zadržavanja na tekućim fazama teško odijeliti. Nove vrste adsorbensa s homogenijom površinom i definiranim svojstvima omogućuju i odjeljivanja spojeva s visokim vrelištim i polarnošću. Takvi su adsorbensi grafitna čađa, adsorbensi modificirani nanošenjem male količine tekuće faze ili s kemijski vezanom tekućom fazom, umreženi polimeri tipa stiren-divinilbenzen, soli teških metala i kristali nekih organskih spojeva.

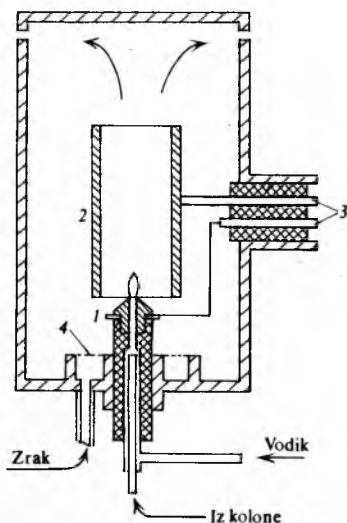
Odjeljivanje smjesa sastojaka s velikim rasponom vrelišta jednostavno i uspješno se postiže *programiranjem temperature*, tj. kontroliranim povećavanjem temperature za vrijeme analize. Porast temperature od 25...35 °C smanjuje koeficijent raspodjele na polovicu vrijednosti, što udvostručuje brzinu izlaženja sastojaka. Ponekad se složena smjesa može odijeliti samo upotrebom više nepokretnih faza, što se izvodi na višekolonskom sustavu ili na koloni s miješanim nepokretnim fazama.

Po izlasku iz kromatografske kolone odijeljeni sastojak ulazi u *detektor*, koji na osnovi nekog fizikalnog ili kemijskog svojstva eluiranog sastojka registrira njegovu prisutnost u plinu nosiocu. S obzirom na mjerni princip detektori mogu biti vrlo različiti i mogu se osnivati, npr., na toplinskoj vodljivosti, radioaktivnoj ili plamenoj ionizaciji, fotoionizaciji, plamenoj fotometriji, spektrofotometriji infracrvenog ili ultraljubičastog zračenja, spektrometriji masa, kemijskim reakcijama, promjeni temperature vodikova plamena, električnoj vodljivosti otopina eluiranog sastojka, potenciometrijskoj i volumetrijskoj titraciji i dr. Detektori mogu biti neselektivni (univerzalni) ili selektivni, tj. osjetljivi samo na određenu vrstu spojeva.

Jedan od najviše upotrebljivanih detektora od prvih početaka plinske kromatografije jest *detektor toplinske vodljivosti* ili *katarometar*, u kojemu se mjeri promjena toplinske vodljivosti plina koji kroz njega prolazi. U tom se detektoru u ćelijama kroz koje protječe plin konstantnog protoka nalaze četiri ugrijana žičana otpornika (niti) pod strujom stalne jakosti. Temperatura užarenih niti funkcija je toplinske vodljivosti plina, pa promjene u sastavu plina, a time i njegove toplinske vodljivosti dovode do promjena u temperaturi i otporu niti.

Ionizacijski detektori osnivaju se na mjerenju električne vodljivosti plinova, koja je izravno proporcionalna količini električki nabijenih čestica u plinu. Izvori energije, a time i procesi ionizacije plina, mogu biti vrlo različiti, npr. plamena ionizacija, radioaktivno zračenje, termička ionizacija, fotoionizacija, te električno izbijanje. Najčešći ionizacijski detektor jest plameno-ionizacijski (sl. 4), malih mrtvih volumena, stabilan prema promjenama u protoku i temperaturi i s velikim područjem linearosti odziva. Detektor je osjetljiv na sve organske spojeve, a radi na principu njihove ionizacije u vodikovom plamenu temperature 2000...2200 °C. Plamen se nalazi između elektroda

s naponom 100...300 V, na kojima se skupljaju nabijene čestice, a dobivena se struja pojačava i registrira. Modifikacijom plamenoionizacijskog detektora (stavljanjem alkalijskih soli uz vodikov plamen) dobivaju se selektivni detektori vrlo osjetljivi na spojeve s fosforom i dušikom.



Sl. 4. Plamenoionizacijski detektor. 1 mlaznica, ujedno i elektroda, 2 sabirna elektroda, 3 izvodi elektroda, 4 mrežica

Signal detektora za eluirani sastojak pojačava se i bilježi na zapisnom uređaju (pisalu), koji mora biti osjetljiv, brz i s linearnim područjem mjerne skale. Površina krivulje eluiranja kao mjera za količinu sastojka može se dobiti automatskom pretvorbom detektorskog signala u kvantitativni podatak o količini prisutnog sastojka. To se provodi pomoću integratora, koji mogu biti od jednostavne elektromehaničke izvedbe do komputora.

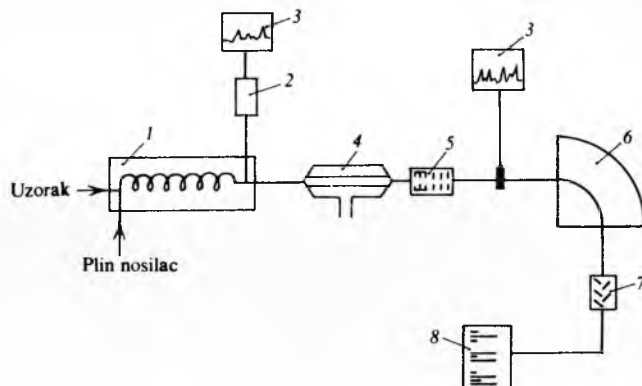
Interpretacija kromatograma za kvalitativnu i kvantitativnu analizu. Osnovni podaci na kromatogramu jesu krivulje eluiranja određenog redoslijeda, međusobnog razmaka i veličine pomoću kojih se izračunavaju rezultati kvalitativne i kvantitativne analize. Vremena ili volumeni zadržavanja određenog spoja na nekoj nepokretnoj fazi karakteristični su, ali ne i specifični podaci za kvalitativnu analizu (identifikaciju), jer različiti spojevi mogu na istoj nepokretnoj fazi imati jednaka vremena zadržavanja. Zato je za jednoznačnu identifikaciju krivulja eluiranja na kromatogramu potrebno raspolagati dodatnim podacima. Takvi se podaci mogu dobiti analizom na nepokretnim fazama različite polarosti, radom uz selektivne detektore, prevođenjem uzorka ili pojedinih njegovih sastojaka u oblik pogodniji za identifikaciju ili analizom eluiranih sastojaka drugim instrumentalnim metodama. Najbolje je rješenje vezani sustav plinski kromatograf—spektrometar masa. Međutim, zbog visoke cijene takav instrument nije dostupan većini laboratorija, pa se identifikacija sastojaka samo na osnovi kromatografskih podataka još uvijek najviše primjenjuje i dalje usavršava.

Za kvantitativnu interpretaciju kromatograma početni je podatak visina ili površina krivulje eluiranja. Mjerenje visine jednostavno je i brzo, ali područje linearosti mnogo je uže za odnos količine sastojka prema visini nego prema površini krivulje eluiranja. Zato se u kvantitativnom radu mnogo češće određuje površina, koja se najtočnije mjeri elektroničkim integratorom. Iz podataka o veličini krivulje eluiranja na kromatogramu može se količina sastojka izračunati na nekoliko načina. Metodom normaliziranja površina izražava se površina pojedine krivulje eluiranja s obzirom na zbroj površina krivulja eluiranja svih sastojaka smjese. Prema metodi apsolutnog kalibriranja količina se sastojka očita s ranije izrađene kalibracijske krivulje za odnos veličine krivulje eluiranja prema količini sastojka. Metodom unutrašnjeg standardiziranja količina se sastojka izražava relativno, tj. prema poznatoj količini referentne

supstancije (standarda) koja se prije analize doda uzorku. Time se izbjegavaju pogreške zbog razlika u količini ubačenog uzorka, jer su promjene u odzivu detektora proporcionalne za obje supstancije.

Plinska kromatografija u vezanim sustavima. Sastojke je uzorka nepoznatog sastava teško, a često i nemoguće jednoznačno identificirati samo na temelju podataka o njihovu vremenu zadržavanja u koloni. Međutim, kad je jednom sastojak na kromatografskoj koloni odijeljen od ostalih sastojaka smjese, moguće je vrstu spoja i njegove strukturne karakteristike utvrditi drugim metodama, u prvom redu spektrometrijskim (v. *Spektrometrija*). Najbolja su rješenja tzv. vezani sustavi koji se sastoje od plinskog kromatografa izravno povezanog s instrumentom za identifikaciju odijeljenih sastojaka. Tada se osnovni uvjeti za uspješan rad svode na prikladno agregatno stanje eluiranog sastojka, njegovu količinu i brzinu snimanja spektara.

Izvanredne mogućnosti u analizi složenih smjesa pruža vezani sustav plinski kromatograf—spektrometar masa, u kojemu su ta dva instrumenta izravno povezana (sl. 5). Neposredno po izlasku iz kromatografske kolone pojedini odijeljeni sastojci smjese ulaze redom u spektrometar masa u kojem se snima njihov spektar. Analiza u tom vezanom sustavu može se uspješno provesti zahvaljujući velikoj brzini snimanja spektara masa i mogućnosti analize u plinovitom stanju te u količinama manjim od mikrogramskih.



Sl. 5. Vezani sustav plinski kromatograf—spektrometar masa. 1 kromatografska kolona, 2 detektor, 3 uređaj za registraciju kromatograma, 4 separator, 5 ionski izvor, 6 magnetsko polje, 7 kolektor iona, 8 uređaj za registraciju spektra masa

Glavne poteškoće izravnog vezanja plinskog kromatografa na spektrometar masa jesu ograničena količina plina nosioca koja smije ulaziti u ionizacijsku komoru (da bi se mogao održati visoki vakuum u spektrometru) i uklanjanje plina nosioca koji razrjeđuje ionako male količine sastojka za analizu. To je riješeno ugrađivanjem separatora koji u ionski izvor spektrometra propušta uglavnom samo eluirani sastojak, dok se skoro sav plin nosilac uklanja. Primjenjuju se separatori s poroznom staklenom cijevi, Teflonom, membranom od silikonske gume ili paladija, te separatori s mlaznicom, u kojima mnogo brža difuzija malih molekula plina nosioca s obzirom na veće molekule ispitivanog spoja omogućuje njihovo odjeljivanje.

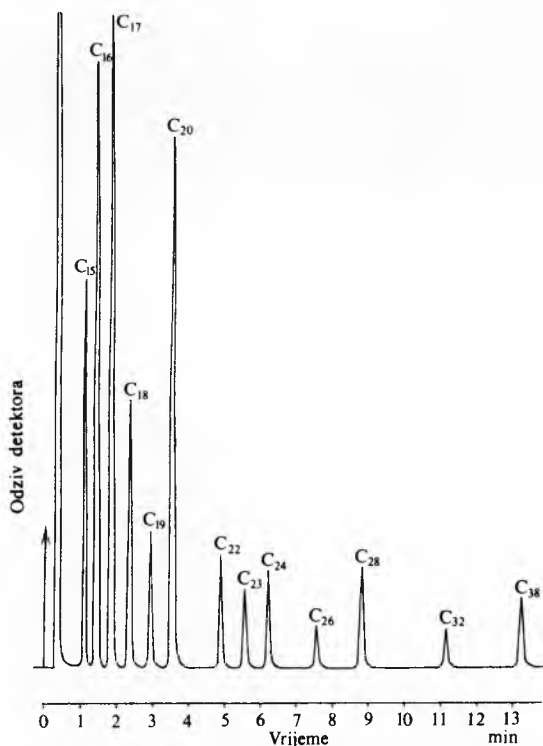
Osim spektrometrijskih metoda, za identifikaciju sastojaka odijeljenih plinskom kromatografijom u vezanim sustavima može se primijeniti i tankoslojna kromatografija. Metoda je prikladna za analizu polarnih spojeva s visokim vrelištem, a eluirani sastojci mogu se na kromatografsku ploču nanositi automatski.

Spektrometrija infracrvenog zračenja široko je upotrebljavana spektrometrijska metoda za identifikaciju spojeva. Vezanje te tehnike s plinskom kromatografijom za sada se samo rijetko primjenjuje, uglavnom zbog prepolaganog snimanja spektara i nedovoljne osjetljivosti. Instrumenti s Fourierovom transformacijom najviše obećavaju u budućim rješenjima vezanih sustava, ali su danas još preskupi.

U plinskokromatografski tok (u kolonu, ispred ili iza nje) mogu se uključiti *protočni mikroreaktori*. Osim toga što se na taj način neki sastojci mogu lakše identificirati, ta je tehnika

proširila mogućnost primjene plinske kromatografije i na studij kemijskih reakcija, pa je to danas već novo područje plinske kromatografije poznato kao *reakcijska plinska kromatografija*. Osobito veliku primjenu našla je termička (pirolitička) razgradnja. *Pirogrami*, tj. kromatogrami pirolitičkih proizvoda, vrlo su karakteristični za svaki spoj, čak i za vrlo bliske izomere, pa mogu, kao i spektri masa, poslužiti za brzu i pouzdanu identifikaciju.

Primjena plinske kromatografije. Najvažnija je primjena analitička, jer pruža velike mogućnosti u analizi smjesa koje je drugim metodama teško ili nemoguće analizirati zbog brojnih sastojaka, bliskih izomera, sastojaka u tragovima i sl. Plinskom kromatografijom mogu se analizirati spojevi s vrlo širokim rasponom vrelišta ($-270\text{--}450\text{ }^{\circ}\text{C}$). Nehlapljivi i termički nestabilni spojevi mogu se ispitivati pripremom hlapljivih derivata, odnosno razgradnih proizvoda na osnovi kojih se može zaključiti o sastavu izvornog spoja. Analitičke metode plinske kromatografije našle su primjenu u mnogim granama kemijske industrije: u naftnoj (sl. 6), petrokemijskoj, farmaceutskoj i prehrambenoj industriji, industriji plastičnih masa, analizi plinova, organometalnih spojeva, metalurgiji i drugdje, ali i u biokemiji, biologiji i medicini. Plinskokromatografska analiza osobito je važna u određivanju primjesa sadržanih u malim količinama, što je posebno važno u rješavanju problema onečišćenja okoliša i u agrikulturi.



Sl. 6. Kromatogram smjese *n*-alkanâ s 15–30 ugljikovih atoma u molekuli. Kolona: punjena, duljina 1,5 m, promjer 4 mm, metil-silikonska guma, temperatura $180\text{--}330\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($12\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}$); detektor: plamenoionizacijski

Manje je poznata primjena plinske kromatografije u neanalitičke svrhe, iako su i tu postignuti izvrsni rezultati. Preparativnom plinskom kromatografijom pripravlja se čiste supstancije iz vrlo složenih smjesa, od laboratorijskih do industrijskih mjerila. Reakcijska plinska kromatografija pruža velike mogućnosti u studiju kinetike i mehanizma kemijskih reakcija. Procesni plinski kromatografi izvrsno služe za automatsko vođenje tehnoloških procesa u organskoj i anorganskoj kemijskoj industriji. Na osnovi plinskokromatografskih podataka mogu se veoma točno odrediti fizikalno-kemijske veličine, npr., vrelište, napon para, relativna molekularna masa, koeficijenti aktivnosti, toplina otapanja i druge termodinamičke vrijednosti.

D. Deur-Šiftar

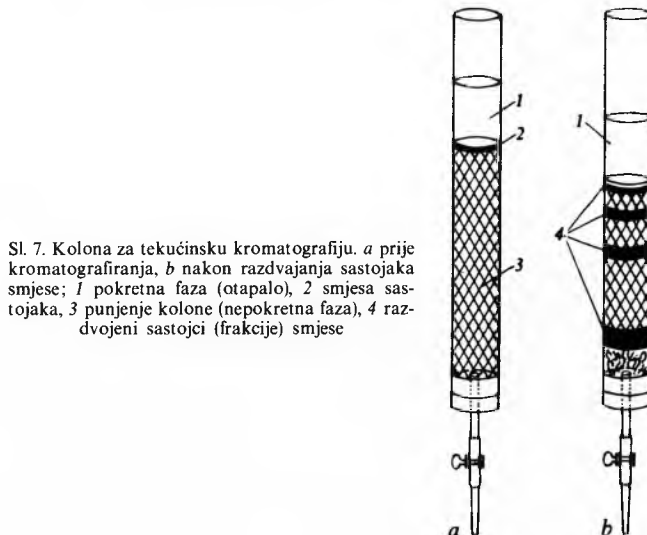
KOLONSKA TEKUĆINSKA KROMATOGRAFIJA

U kolonskoj tekućinskoj kromatografiji, nazivanoj i kromatografijom u stupcu, tekuća pokretna faza prolazi kroz kolonu (stupac) ispunjenu nepokretnom fazom. Ispitivani uzorak ubacuje se u kolonu na njenu početak, sastojci uzorka odjeljuju se prilikom putovanja kroz kolonu i detektiraju se na njenu izlazu. Tekućinska kolonska kromatografija donekle je, prema tome, slična plinskoj kromatografiji. Upravo na temelju praktičnog iskustva u radu s plinskim kromatografima razvila se suvremena visokotlačna kolonska tekućinska kromatografija.

Svoja prva uspješna odjeljivanja pigmenta iz zelenog lišća proveo je M. Cvet oko 1903. godine upotrebom uspravne kolone s adsorbensom. Tekućinska kolonska kromatografija bila je, dakle, prva kromatografska metoda i označila je početak kromatografije u današnjem smislu. Međutim, u prvih četrdesetak godina našeg stoljeća kolonska tekućinska kromatografija ostala je ujedno i jedina metoda kromatografiranja, a upotrebljavala se relativno rijetko, uglavnom u preparativne svrhe. Razvojem ostalih kromatografskih metoda, u prvom redu plinske, papirne i tankoslojne, izgubila je kolonska tekućinska kromatografija još više na svojoj važnosti. Tek 1969. godine uspjelo je J. J. Kirklandu i J. F. K. Huberu razviti aparaturu koja je pokazala da ta modificirana metoda, visokotlačna tekućinska kromatografija, po svojoj djelotvornosti i brzini ne zaostaje mnogo za plinskom kromatografijom.

Kolonska tekućinska kromatografija zahtijeva nešto složeniju i skuplju aparaturu od one potrebne u plinskoj kromatografiji, a pogotovo je to naglašeno ako se usporedi s papirnom ili tankoslojnom kromatografijom. Međutim, tekućinska kromatografija u koloni ima pred ostalim kromatografskim metodama i nekih prednosti. To su u prvom redu veći kapacitet i prikladnost za preparativan rad, a kako se radi na nižim temperaturama, uzorci se ne moraju prevesti u plinovito stanje kao što je to potrebno prilikom rada s plinskim kromatografom.

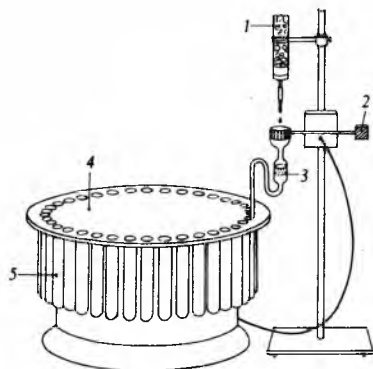
Za razdvajanje sastojaka neke smjese kolonskom tekućinskom kromatografijom bila je u početku potrebna samo jednostavna aparatura. Takva se aparatura upotrebljava ponekad još i danas, uglavnom samo u laboratorijskom istraživačkom radu. Osnovni je dio aparature kromatografska kolona, obično staklena cijev s promjerom 10–20 puta manjim od njene duljine (sl. 7). Kolona je ispunjena materijalom (nepokretna faza) koji



Sl. 7. Kolona za tekućinsku kromatografiju. a prije kromatografiranja, b nakon razdvajanja sastojaka smjese; 1 pokretna faza (otapalo), 2 smjesa sastojaka, 3 punjenje kolone (nepokretna faza), 4 razdvojeni sastojci (frakcije) smjese

selektivno veže pojedine sastojke smjese, a kroz kolonu protječe jedno ili više otapala (pokretna faza). Prolaženjem kroz kolonu sastojci smjese razdjeljuju se u odvojene zone. Ranije se po završenom razdvajanju materijal kolone istiskivao i rezao na diskove, koji su se zatim odvojeno analizirali ili su se iz njih sastojci izolirali. U današnjoj tehnici eluiranja odijeljeni sastojci redom izlaze iz kolone i registriraju se mjerenjem nekog njihova svojstva. Za preparativan rad, tj. za izolaciju pojedinih komponenata smjese, upotrebljava se automatski kolektor frakcija, koji pod izlaz kolone redom postavlja epruvete za skupljanje frakcija. Postoje s epruvetama može se pomicati u

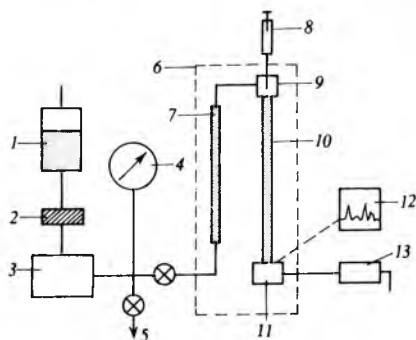
jednakim vremenskim razmacima. Kako, međutim, protok kroz kolonu nije uvijek jednoličan, prikladnije je skupljati uzorke približno jednakih volumena. To se može provesti pomoću automatske vage, koja uključuje mehanizam za promjenu epruveta nakon što se u ranijoj epruveti nakupila određena količina uzorka (sl. 8).



Sl. 8. Kolektor frakcija. 1 kolona, 2 vaga, 3 sifon za skupljanje određene količine tekućine iz kolone, 4 rotirajući stalak za epruvete, 5 epruvete za odijeljene frakcije

Rad s opisanom aparaturom bio je dugotrajan, a odjeljivanje relativno slabo, pa je ta metoda služila uglavnom u preparativne svrhe. Suvremena kolonska tekućinska kromatografija jest visokotlačna tekućinska kromatografija, nazivana i visokodjelotvornom ili vrlo brzom tekućinskom kromatografijom. Visoka djelotvornost, tj. kratko trajanje postupka i vrlo dobro odjeljivanje sastojaka smjese (visoko razlučivanje) omogućilo je široku primjenu te metode u analitičke svrhe. Potrebna visoka djelotvornost postiže se u prvom redu primjenom dugih i uskih kolona jednoliko ispunjenih vrlo sitnim česticama. Za to je, međutim, potrebno da se pokretna faza tjera kroz kolonu pod visokim tlakom i da struji jednoliko.

Suvremeni visokotlačni tekućinski kromatograf (sl. 9) konstruiran je po uzoru na plinski kromatograf. Tekućina koja služi kao pokretna faza oslobađa se otopljenih plinova zagrijavanjem, evakuiranjem ili djelovanjem ultrazvuka. Tekućina zatim prolazi kroz fini filtar i ulazi u pumpu koja je tjera kroz kolonu



Sl. 9. Visokotlačni tekućinski kromatograf. 1 spremnik za pokretnu fazu, 2 filtar, 3 visokotlačna pumpa, 4 manometar, 5 ispušni, 6 termostat, 7 pretkolona, 8 uređaj za uvođenje uzorka, 9 injektor, 10 analitička kolona, 11 detektor, 12 pisalo, 13 kolektor frakcija

pod tlakom 20...30 MPa (oko 200...300 atm). Uzorak se ubacuje na početak kolone pomoću injekcijske štrcaljke ili prikladnog ventila. Vrlo uske kolone promjera 2...5 mm i duljine do 2 m obično su staklene ili od nerđajućeg čelika, a održavaju se na stalnoj temperaturi pomoću zračne ili vodene termostatisirane kupke. Materijal jednoliko punjen u kolonu, nepokretna faza, vrlo je sitnih čestica s promjerom 5...50 μm . Neposredno na izlazu iz kolone nalazi se detektor, koji mjerenjem promjene nekog fizikalnog svojstva, npr. apsorpcije ili loma svjetla, die-

lektrične konstante, električne vodljivosti i sl., registrira pojedine odijeljene komponente. Po izlazu iz detektora komponente se po potrebi mogu izolirati upotrebom kolektora frakcija.

Visokotlačna tekućinska kromatografija ima mnogih prednosti pred ranijom tekućinskom kromatografijom u relativno širokim kolonama. Trajanje analize znatno je skraćeno, pa su česta potpuna razdvajanja u svega nekoliko minuta. Zbog primjene uskih i dugačkih kolona i visokoosjetljivih detektora dovoljne su i nanogramske količine uzorka, a omogućeno je visoko razlučivanje sastojaka smjese. Ispiranjem pokretnom fazom kolone se mogu nakon provedene analize potpuno očistiti i ponovno upotrijebiti.

S obzirom na prirodu nepokretne faze i, prema tome, na način zadržavanja i odvajanja sastojaka u koloni, razlikuje se nekoliko vrsta kolonske kromatografije.

U adsorpcijskoj kromatografiji kolona je ispunjena adsorbensom vrlo sitnih čestica. Među adsorbensima posebno se izdvaja aluminij-oksidi kao univerzalni adsorbens za skoro sve klase organskih spojeva, osim ugljikovodika. Osim toga, upotrebljavaju se i silikagel, aktivni ugljen, magnezij-silikati, kalcij-karbonat, talk, saharoza i mnogi drugi. Supstancije se obično razmjerno čvrsto vežu uz adsorbens, pa se uobičajenim eluiranjem samo jednom vrstom otapala ne mogu razdvojiti i istjerati iz kolone. Umjesto eluiranja primjenjuje se stoga istiskivanje, tj. pokretna faza (nazivana ne sasvim točno otapalom) jače se veže uz adsorbens i istiskuje s njega sastojke, u prvom redu one koji su slabije vezani. Međutim, jače vezane sastojke može istisnuti samo neko drugo otapalo, koje se i samo jače veže uz adsorbens. To je princip *gradijentne analize*, u kojoj kao pokretna faza služi smjesa otapala. Pomoću prikladnog uređaja sastav smjese otapala kontinuirano se mijenja, pa se pokretna faza prilikom kromatografiranja sve jače veže uz adsorbens i redom istiskuje pojedine sastojke. Uspješnost analize ovisi, dakle, veoma o izboru pokretne faze, a ne samo o prikladno odabranom adsorbensu. Kao pokretne faze služe polarne i nepolarne organske tekućine kao što su benzen, eter, kloroform, metanol, etilacetat i druge. Adsorpcijska kolonska kromatografija uspješno se upotrebljava za razdvajanje mnogih vrsta spojeva, ali je osobito prikladna za steroide i lipide.

U kolonskoj razdjelnoj kromatografiji nepokretna je faza neka podesna tekućina nanosena na čvrsti nosilac. Izbor tekućine ovisi o svojstvima (polarnost, sposobnost stvaranja vodikovih veza itd.) bitnim za njenu sposobnost zadržavanja i razdvajanja sastojaka neke smjese. Obično je to neka hidrofilna tekućina kao voda, razrijeđeni alkoholi, kiseline, baze, glikoli i sl., dok je pokretna faza neko hidrofobno otapalo. Ako je, međutim, nepokretna faza hidrofobna, a pokretna faza hidrofilna, govori se o razdjelnoj tekućinskoj kromatografiji s obrnutim fazama. Važno je, dakle, da se te dvije faze ne miješaju, da pokretna faza ne bi otopila nepokretnu i isprala je iz kolone. Kao nosilac, uz koji je nepokretna faza čvrsto vezana, služe inertne, mehanički čvrste tvari velike specifične površine, npr. silikagel, praškasta celuloza, stakleni prah, dijatomejska zemlja i druge.

U razdjelnoj kromatografiji, za razliku od adsorpcijske, sastojci smjese razdjeljuju se između nepokretne i pokretne faze, pa se odvajaju i prolaze kroz kolonu eluiranjem (ispiranjem). Taj način omogućuje bolje i finije odvajanje, ne postoji opasnost od katalitičke aktivnosti nosioca ili vrlo čvrstog vezanja sastojaka uz nepokretnu fazu, a prikladan je za kromatografiranje čitavog niza spojeva različita sastava i strukture.

Prije desetak godina uvedena je i modificirana razdjelna kromatografija, u kojoj kao nepokretna faza služi polimer kemijski vezan na površinu silicij-dioksida kao čvrstog nosioca. Iako je, dakle, nepokretna faza kruta, ona posjeduje svojstva slična tekućoj nepokretnoj fazi, pa je mehanizam kromatografiranja također razdjelni. Osim što je termički otporna, velika je prednost takve nepokretne faze što je netopljiva u otapalima koja služe kao pokretna faza. To omogućuje primjenu gradijentne analize, koja se inače u razdjelnoj tekućinskoj kromatografiji ne može provesti.

Ionskoizmjenjivačka kromatografija primjenjuje kao nepokretnu fazu neki ionski izmjenjivač. Najčešće su to umreženi sintetski polimeri koji mogu izmjenjivati ione. Sastojci smjese,

koji moraju također biti sposobni da izmjenjuju svoje ione, odvajaju se na temelju svog različitog afiniteta prema ionsko-izmjenjivačkoj nepokretnoj fazi. Pokretna je faza puferška vodena otopina, kojoj se sastav može kontinuirano mijenjati (gradijentna analiza). Ionskoizmjenjivačka kromatografija vrlo je prikladna za kromatografiranje spojeva s ioniziranim grupama, u prvom redu aminokiselina, nukleinskih kiselina, metabolita, farmaceutskih proizvoda i mnogih metalnih soli.

Izdvojna (gelna) kromatografija poznata je u anglosaskoj literaturi pod mnogim nazivima (exclusion, gel permeation, gel filtration chromatography). Kao nepokretna faza služi mikro-porozni neionski prirodni ili sintetski polimer. U njegove pore mogu potpuno ili djelomično ući samo molekule manje od neke određene veličine, dok se veće molekule ne zadržavaju. Sastojci se, prema tome, redom eluiraju iz kolone, već prema veličini svojih molekula, pa je važno da takav polimer ne ispoljava nikakva adsorpcijska ili ionskoizmjenjivačka svojstva. Kao nepokretne faze ranije su se mnogo upotrebljavali zeoliti (molekulska sita), a danas se uglavnom radi s umreženim polimerima na osnovi dekstrana (za razdvajanje hidrofilnih sastojaka), ili s polistirenom (za razdvajanje hidrofobnih sastojaka). Iako je to relativno nova kromatografska metoda, izdvojna kromatografija nalazi vrlo široku primjenu u analitičkom, preparativnom i industrijskom mjerilu. Od brojnih primjera ističe se njena primjena u čišćenju i izolaciji supstancija iz prirodnih tvari, određivanje raspodjele relativnih molekulskih težina prirodnih i sintetskih polimera, odvajanje aminokiselina od peptida, primjena u kliničkoj dijagnostici itd.

D. Štefanović

PAPIRNA KROMATOGRAFIJA

Papirna kromatografija plošna je kromatografska metoda. Kao nepokretna (stacionarna) faza upotrebljava se list ili traka kromatografskog papira, dok je pokretna faza tekuća. Ispitivani uzorak stavlja se na papir u blizini njegova ruba i taj se rub papira uroni u tekućinu. Prolaskom tekućine kroz papir putuju i razdvajaju se i sastojine ispitivanog uzorka. Pogodnosti papirne kromatografije jesu jednostavnost izvođenja, jednostavnost i jeftina aparatura, velika moć razdvajanja, laka detekcija i mala količina uzorka potrebna za analizu. Međutim, ta je metoda manje pogodna za kvantitativna određivanja i za preparativne svrhe.

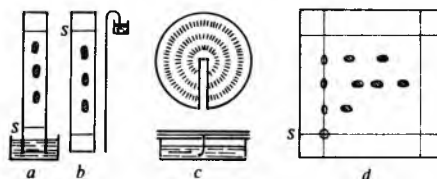
Iako su pojedinačni pokusi dokazivanja i razdvajanja tvari na papiru izvođeni i u dalekoj prošlosti (Plinije Stariji, početak nove ere), ipak se početkom papirne kromatografije kao analitičke metode smatra 1944. godina, kad su je razradili i opisali R. Consden, A. H. Gordon i A. J. P. Martin. Razvoju i primjeni papirne kromatografije najviše su pridonijeli Martin i R. L. M. Synge, koji su za taj rad dobili Nobelovu nagradu 1952. godine.

Kromatografski papir skoro je čista celuloza s vrlo malo nečistoća. Papir mora imati određenu debljinu, poroznost i plošnu masu (g/m^2), mora biti jednolične strukture i debljine i mora omogućiti kapilarno širenje tekućine određenom brzinom. Papiri se mogu i impregnirati obradom pogodnim tekućinama (hidrofilne ili hidrofobne tekućine, puferške otopine), a celuloza papira može se esterificirati. Najpoznatiji su kromatografski papiri: Whatman (engleske tvornice Reeve and Angel), S&S (Schleicher und Schull, Njemačka), Mackery-Nagel (Njemačka), Munktell (Švedska), Lenjingradskaja bumaga (SSSR) itd. Kao pokretna faza u papirnoj kromatografiji upotrebljavaju se različita organska otapala, često u smjesi s vodom, kiselinom ili lužinom. Otapala moraju biti vrlo čista (stupnja čistoće *pro chromatographia*). Pri izboru otapala treba uzimati u obzir njihova svojstva, osobito polarnost, zatim viskoznost, hlapljivost, sposobnost miješanja s vodom itd. Prolaskom pokretne faze kroz područje papira na kojem se nalazi ispitivana tvar raspodijelit će se ta tvar između dviju faza, tj. između otapala i papira. O privlačnoj sili na papiru ne postoji jedinstveno mišljenje. Papir je, naime, sposoban da veže znatnu količinu vode (do 20%), što je uzrokovano prisutnošću hidroksidnih i karboksilnih grupa celuloze. Zbog toga neki smatraju da papir služi samo kao inertna podloga za sloj vode (odnosno kompleks celuloza—voda), koji djeluje kao nepokretna tekuća faza, pa se tvar raspodjeljuje između dviju tekućih faza, tj. uspostavlja

se tzv. razdjelni mehanizam kromatografskog procesa. Postoji, međutim, mnogo pojava koje pokazuju da papir aktivno sudjeluje u kromatografskom procesu i da je njegova privlačna sila, adsorpcija, uzrokovana elektrostatskim silama, vodikovim vezama, kemijskim vezama itd. Tada se mehanizam kromatografskog procesa sastoji u ravnotežnom procesu sorpcije i desorpcije tvari na nepokretnoj fazi (papiru). Kad se kromatografski proces odvija na impregniranom papiru, može se govoriti o pravom razdjelnom mehanizmu, tj. o raspodjeli tvari između dviju tekućina koje se ne miješaju. Ako je nepokretna faza polarna, a pokretna nepolarna, radi se o razdjelnoj kromatografiji normalnih faza, dok je obrnuto razdjelna kromatografija obrnutih faza.

Da bi se napravila analiza nekog uzorka papirnom kromatografijom, treba, već prema svojstvima ispitivanih tvari, izabrati vrstu papira i otapala. Kao aparatura za kromatografiranje služi posuda s otapalom koja se može hermetički zatvoriti. To su obično stakleni cilindri ili komore različitih izvedbi. Uzorak se u tekućem obliku nanosi na list ili traku papira na mjesto (start) udaljeno nekoliko centimetara od ruba. Za nanošenje uzorka služe staklene kapilarne cjevčice, mikropipete (od 5, 10, 20, 50 ili 100 μl) ili specijalni uređaji za točno nanošenje. Početna mrlja uzorka na papiru treba biti malena, jer je tada naknadno širenje mrlje manje, a razdvajanje bolje. Papir s osušenom mrljom uzorka uranja se u otapalo rubom koji je bliži mrlji. Početna mrlja mora biti barem 1 cm iznad razine tekućine. Komora se zatvori i pusti da se tekućina kreće po papiru. Ako je otapalo veoma hlapljivo, komora se ranije može zasiti parama otapala. Pokretna faza (otapalo) kreće se po papiru u prvom redu zbog kapilarnih sila. Brzina kretanja ovisi o viskoznosti, polarnosti, površinskoj napetosti i o drugim fizikalno-kemijskim svojstvima tekućine i papira (npr. o sorpcijskoj aktivnosti). Uspješnost razdvajanja ovisi, između ostalog, i o brzini kretanja pokretne faze. Stoga se nastoji da se pokretna faza kreće nekom najpovoljnijom brzinom.

Kretanje pokretne faze po papiru s ispitivanom smjesom tvari, koje uzrokuje uspostavljanje dinamičke ravnoteže tvari između dviju faza i razdvajanje smjese, naziva se razvijanjem. Pokretna se faza, prema tome, naziva i *razvijanjem*. Prema smjeru kretanja razvijaa razlikuje se više načina razvijanja (sl. 10).



Sl. 10. Načini razvijanja u papirnoj kromatografiji. a) uzlazno, b) silazno, c) radijalno, d) dvodimenzijnsko; S start

Prilikom uzlaznog razvijanja razvijaač se uspinje prema gore zbog kapilarnih sila; u silaznom razvijanju razvijaač se kreće prema dolje pod utjecajem kapilarnih sila i sile teže; prilikom horizontalnog (radijalnog, kružnog) razvijanja razvijaač se po tankoj traci uspinje na sredinu papira na kojoj se nalazi mrlja uzorka, a zatim se u horizontalnom smjeru radijalno širi; dvodimenzijnsko (dvosmjernom) razvijanje odvija se u dva smjera sa dva različita razvijaača. Uzorak se nanese u ugao lista papira, razvije u jednom smjeru, osuši, a zatim razvije drugim razvijaačem u smjeru okomitom na prvi smjer razvijanja. Mogućnost različitog razvijanja prednost je kromatografije na papiru, jer se ponašanje istih tvari u silaznom, uzlaznom, a pogotovo u radijalnom načinu razvijanja mogu znatno razlikovati, a to omogućuje veći izbor povoljnih uvjeta za razdvajanje sličnih spojeva. U tom je smislu također vrlo uspješno dvodimenzijnsko razvijanje. Razvijanje treba provoditi na stalnoj temperaturi jer i temperatura može utjecati na uspješnost razdvajanja. Vrijeme razvijanja ovisi o načinu razvijanja i sličnosti razdvajanih spojeva. Horizontalno razvijanje traje najkraće. Nakon što razvijaač pređe željenu udaljenost (oko 10 ili više cm od starta), papir se vadi iz komore i suši. Poželjno je

da sušenje bude brzo, npr. strujom toplog zraka, kako bi se spriječilo naknadno širenje mrlja.

Obojeni spojevi vide se nakon kromatografiranja u obliku potpuno ili djelomično razdvojenih mrlja na površini papira na kojoj je provedeno razvijanje. To se područje zove *kromatogram*. Najčešće su ispitivani spojevi bezbojni, pa ih je na papiru potrebno učiniti vidljivima. Uočavanje mrlja (detekcija, vizualizacija) može se provesti na nekoliko načina. Vrlo je čest način prskanje kromatograma otopinama reagensa koji s prisutnim tvarima stvaraju obojene spojeve. Reagensi mogu biti specifični za neki spoj ili grupu spojeva, ili opći, tj. za više vrsta spojeva. Nedostatak tog načina uočavanja jest u tome što razdvojene tvari nakon detekcije nisu više na papiru u izvornom obliku. Tvari koje fluoresciraju ili koje gase fluorescenciju uočavaju se pomoću ultraljubičastog svjetla. Enzimi i biološki aktivne tvari (antibiotici) uočavaju se enzimatskim i biološkim metodama, a radioaktivne izotope moguće je detektirati s pomoću detektora radioaktivnog zračenja. Dokazivanje (identifikacija) tvari prisutnih u pojedinoj mrlji temelji se u prvom redu na pokretljivosti spoja u promatranom kromatografskom sustavu. Pokretljivost se izražava faktorom zaostajanja (R_F -faktor). To je omjer udaljenosti od starta do sredine mrlje prema udaljenosti od starta do fronte razvijča. Za identifikaciju služi i boja mrlje i metoda usporednog razvijanja čistih tvari za koje se pretpostavlja da se nalaze u ispitivanoj smjesi. Ponekad se identifikacija može provesti i izravno primjenom neke spektroskopske metode (npr. snimanjem apsorpcijskih spektara mrlja, a može se i papir s mrljom izrezati, spoj ekstrahirati prikladnim otapalom i dokazati nekom od reakcija ili metoda kvalitativne analitičke kemije.



Sl. 11. Papirni kromatogram nakon razdvajanja smjese fenola. Razvijčač: izopropileter; reagens za detekciju: srebro-nitrat. 1 α -naftol, 2 pirokatehol, 3 orcino, 4 rezorcino: 5 hidrokinon, 6 pirogalo, 7 floroglucinol, 8 galna kiselina, 9 oksihidrokinon, 10 razdvojena smjesa fenola

Primjena je papirne kromatografije vrlo široka. Od prve primjene za razdvajanje aminokiselina ta je metoda upotrebljavana s većim ili manjim uspjehom za razdvajanje skoro svih poznatih vrsta spojeva. Papirna kromatografija uspješno služi za razdvajanje sljedećih grupa spojeva: aminokiselina, alifatskih i aromatskih amina, nitro-spojeva, heterocikličkih spojeva s dušikom, alkohola, aldehida, ketona, fenola (sl. 11), karboksilnih kiselina, šećera, steroida, peptida, alkaloida, sum-

pornih organskih spojeva, enzima, vitamina, antibiotika, mnogih analognih tvari itd. Osobito je važna njezina primjena u biokemiji, farmaceutskoj i medicinskoj kemiji.

TANKOSLOJNA KROMATOGRAFIJA

Tankoslojna kromatografija također je plošna kromatografska metoda; prema načinu izvođenja vrlo je slična papirnoj kromatografiji. Kao nepokretna faza služi tanki sloj finoizratog (praškastog) materijala koji ima svojstvo sorpcije. Pogodnosti tankoslojne kromatografije, slično papirnoj, jesu jednostavnost izvođenja, jednostavna i jeftina aparatura i mala količina uzorka potrebna za analizu. Međutim, tankoslojna kromatografija ima i prednosti, jer je vrijeme razvijanja kraće, razdvajanje oštrije, veća je mogućnost detekcije, a zbog mogućnosti upotrebe različitih materijala za tanki sloj postoji veći izbor povoljnih uvjeta za razdvajanje različitih vrsta spojeva. Za kvantitativne je svrhe nepovoljnija od kromatografije u koloni jer se ne mogu odvajati veće količine tvari, ali može poslužiti za prethodno brzo ispitivanje najpovoljnijih uvjeta, koji se zatim primjenjuju u kolonskoj kromatografiji.

Ruski kemičari N. A. Izmailov i M. S. Šrajber 1938. godine prvi su umjesto stupca kao nepokretnu fazu upotrijebili tanki sloj adsorbensa. Iako se i u međuvremenu radilo s tankim slojevima, pravi razvoj tankoslojne kromatografije počeo je tek 1956. godine radovima njemačkog kemičara E. Stahla. Od tada su mnogi istraživači pridonijeli razvoju i primjeni te metode.

Kao tanki slojevi mogu se primijeniti različiti sorbensi. Od anorganskih spojeva najvažniji su sorbensi silikagel, aluminij-oksidi, magnezij-oksidi, diatomljevska zemlja itd., a od organskih celuloza, poliamidi, poliakrilamidni gel i smole za izmjenu iona. Najviše se upotrebljavaju silikagel i celuloza, koji mogu sadržavati različite dodatke. Sorbensi su općenito karakterizirani svojom strukturom, veličinom čestica, stupnjem čvrstoće i prisutnim vezivom. Sorbensi za tankoslojnu kromatografiju razlikuju se prema svojim svojstvima od sorbensa za kolonsku kromatografiju. Najčešći mehanizam kromatografskog procesa u tankoslojnoj kromatografiji jest adsorpcijski, ali može biti i razdjelni, ionskoizmjenjivački ili mehanizam na principu molekularnih sita. Tanki se sloj također može impregnirati.

Prilikom pripreve tankog sloja treba najprije pripraviti suspenziju sorbensa u vodi ili nekom organskom otapalu, npr. etanolu, acetonu ili sl. Omjer sorbensa prema vodi ovisi u



Sl. 12. Priprava tankog sloja pomoću uređaja Stahl-Desaga

prvom redu o svojstvima sorbensa. Suspenzija homogenizirana mučkanjem nanosi se na ploče koje služe kao nosioci (podloge) sloja sorbensa. Ploče su najčešće staklene (rjeđe plastične, aluminijske folije i dr.) različitih veličina: 20 × 20 cm, 10 × 20 cm, 10 × 10 cm, pa do veličine stakalaca za mikroskopiju. Ploče moraju biti potpuno čiste. Tanki slojevi mogu se na ploče nanijeti na nekoliko načina: uranjanjem ploče u suspenziju, nalijevanjem suspenzije na ploču i pokretanjem pločice, nalijevanjem suspenzije na ploču s tankim trakama zalijepljenim na njenim dvama rubovima, a zatim izravnavanjem suspenzije ravnim predmetom, npr. staklenim štapićem. Konačno, tanki slojevi mogu se na ploču nanijeti i pomoću posebnih uređaja različitih izvedbi, od ručnih do automatiziranih (sl. 12). Ti uređaji omogućuju pripremu slojeva jednolične i željene debljine. Debljina sloja ovisi o namjeni. Standardna je debljina mokrog sloja 0,25 mm, a može biti i manja ili veća, maksimalno do 2 mm, jer deblji slojevi pucaju. Slojevi se obično suše najprije na zraku 10–20 minuta, a zatim u sušioniku 0,5–1 sat na temperaturi 110–120 °C (katkad i duže i na višoj temperaturi). Neki se sorbensi, npr. celuloza, suše samo na zraku. Suhe ploče drže se u specijalnim eksikatorima.

Otopina uzorka za analizu nanosi se na ploču pomoću mikropipeta, kapilarnih cjevčica ili specijalnih uređaja. Uzorak se najčešće stavlja na mjesto udaljeno 2 cm od donjeg ruba ploče, i to u obliku okrugle mrlje (točkasto nanošenje) ili ravne crte (linijsko nanošenje). Količina uzorka ovisi o prirodi ispitivanih spojeva i svrsi analize. Ploča s nanosenim uzorkom stavlja se u komoru za razvijanje u kojoj se nalazi pokretna, tekuća faza (razvijlač). Donji se rub ploče uroni u tekućinu (startna linija mora biti iznad razine tekućine) i komora se hermetički zatvori.

Komore ili kade za razvijanje staklene su posude različitih veličina i oblika, s brušenim poklopcem. U njima se istodobno mogu razvijati dvije ili više ploča. Posebno su građene tzv. sendvič-komore, koje imaju vrlo malen volumen i stoga je zasićenje i razvijanje brže, a potrebna je manja količina razvijlača. Kao razvijlač služe organska otapala, bilo pojedinačna ili u smjesi (smjese organskog otapala, vode i kiseline, rjeđe lužine). Razvijlač se odabiru prema prirodi ispitivanih spojeva i svojstvima tankog sloja. U tankoslojnoj kromatografiji obično se primjenjuju uzlazni načina razvijanja. Ponekad se razvija i horizontalno, npr. u preparativne svrhe, s debljim slojem sorbensa. Osim toga, razvijati se može i dvodimenzijski (dvosmjerno), zatim zaredom više puta istim razvijlačem (višestruko razvijanje), te kontinuirano, kojom se prilikom na jednoj strani ploče kontinuirano dovode razvijlač i uzorak, na drugoj se strani razvijlač odvodi, a razdvojene sastojine smjese odvojeno se hvataju. Trajanje je razvijanja različito, a ovisi o svojstvima razvijlača i vrsti sorbensa. Ono je općenito mnogo kraće od razvijanja u kolonskoj i papirnoj kromatografiji (može biti i kraće od 30 minuta). Standardna je visina uspinjanja razvijlača od starta 10 cm, ali, već prema mogućnostima razdvajanja spojeva u smjesi, može biti i manja ili veća.

Nakon završetka razvijanja ploča se vadi iz kade i suši toplim zrakom, a zatim se pristupa uočavanju mrlja. Postupci detekcije (vizualizacije) mrlja analogni su onima u papirnoj kromatografiji. Najvažnije je prskanje ili izlaganje ploče reagensima koji oboje mrlje (zbog kemijske otpornosti sloja mogu se primijetiti i agresivni reagensi) i promatranje pod ultraljubičastim svjetlom. Ako tanki sloj sadrži fluorescirajuće tvari, na sloju se mogu uočiti i oni spojevi koji ne fluoresciraju, jer tada mrlje na kromatogramu gase fluorescenciju. Detekcija ultraljubičastim svjetlom pogodna je i zato što se spojevi na kromatogramu kemijski ne mijenjaju, pa se mogu izolirati u izvornom obliku. Ostale metode detekcije jesu biološka, enzimatska i radiografska. Tvari se na kromatogramu dokazuju (identificiraju) na isti način kao u papirnoj kromatografiji, tj. na temelju vrijednosti faktora zaostajanja (R_F), obojenja mrlje i usporednog razvijanja čistih tvari. Osim toga, za identifikaciju mogu poslužiti i neka fizikalna svojstva spojeva (npr. ponašanje pod ultraljubičastim svjetlom, apsorpcija svjetla). Ako je potrebno, sastruže se dio sloja na kojem se nalazi mrlja, spoj se ekstrahira otapalom i zatim u otopini dokazuje nekom od analitičkih metoda. Tako se može odrediti i količina tvari,

ali se kvantitativno određivanje može provesti izravno na ploči. To se ponekad provodi pomoću usporedbene vizualne metode, koja se temelji na usporedbi veličine i intenziteta boje mrlja što potječu od ispitivanog spoja prema mrljama usporedbenih otopina nanosenih u rastućim koncentracijama. Točnost tog postupka nije velika. Sve je više u upotrebi instrumentalna metoda, koja se osniva na izravnom fotometriranju mrlja na ploči. U tu svrhu specijalni fotometri mjere apsorpciju svjetla u mrlji (ili slabljenje fluorescencije ako tanki sloj sadrži fluorescirajuću tvar). Koncentracija tvari odredi se zatim na temelju fotometrijske krivulje pomoću baždarnih dijagrama.

Zbog spomenutih dobrih svojstava tankoslojna kromatografija ima vrlo veliku i široku primjenu, pa u pojedinim područjima potiskuje papirnu i kolonsku kromatografiju. Primjenjuje se za razdvajanje i identificiranje mnogobrojnih spojeva, a osobito je važna njezina primjena u farmaceutskoj i medicinskoj kemiji i biokemiji, ali i u drugim područjima organske i anorganske kemije, posebno u analizi radioaktivnih izotopa i elemenata rijetkih zemalja.

Z. Šoljić

LIT.: S. Dal Nogare, R. S. Juvet, Gas liquid chromatography. Wiley-Interscience, New York 1962. — R. Kaiser, Gas phase chromatography. Plenum Press, New York 1963. — I. M. Hais, K. Macek, Paper chromatography. Czechoslovak Academy of Sciences, Praha 1963. — E. Stahl, Thin layer chromatography. Academic Press, New York 1965. — L. S. Etre, A. Zlatkis, The practice of gas chromatography. Wiley-Interscience, New York 1967. — H. M. McNair, E. J. Bonelli, Basic chromatography. Consolidated Printers, Calif. 1969. — L. Szepeszy, Gas chromatography. Akadémiai Kiadó, Budapest 1970. — I. Smith, J. G. Feinberg, Paper and thin-layer chromatography and electrophoresis. Longman, London 1972. — J. N. Done, J. H. Knox, J. Loheac, Applications of high-speed liquid chromatography. John Wiley and Sons, London 1974. — I. Filipović, P. Sabioncello, Laboratorijski priručnik, I. dio, knjige druga. Tehnička knjiga, Zagreb 1978.

Đ. Đeur-Šifar Z. Šoljić D. Štefanović

KROV, gornji završni dio zgrade s jednom ili više kosih ploha. Sastoji se od krovne konstrukcije i pokrova, te zatvara sa stropom najvišeg kata tavanski prostor. Krovna konstrukcija preuzima opterećenje pokrova i pokretna opterećenja (snijeg i vjetar) te ih prenosi na nosive konstrukcije. Pokrov štiti zgradu od atmosferskih oborina, požara i temperaturnih promjena.

U određenim arhitektonskim epohama (gotika, barok) pridavala se velika važnost oblikovanju i boji krova kao bitnom arhitektonskom elementu. Danas krov još uvijek ima istaknutu funkciju u bogatom arhitektonskom oblikovanju Dalekog istoka. Ako se potkrovlje grije ili ako je krov ujedno i strop zagrijanog kata, treba posvetiti osobitu pažnju odvodu vode, toplinskoj izolaciji i difuziji pare.

Nagib krova (kut što ga čini gornja ploha nosive konstrukcije s horizontalom) ovisi o vrsti pokrovnog materijala, klimatskim i lokalnim prilikama, namjeni tavanskog prostora, o položaju i obliku zgrade, te o arhitektonskim zahtjevima. Krov je to strmiji što ima sitniji, hrapaviji i manje trajan pokrov, što su mu prekloppi manji i što je jače izložen oborinama. Ako je krov s više ploha, one imaju obično jednak nagib, ali nagib može biti i različit. Krov može biti strmiji (više od 30°) i položeni (manje od 30°). Položeni krov koji ima mali nagib naziva se i ravnim krovom. Nagib krovnih ploha obično se smanjuje prema obodu zgrade, ali može imati i pad do sabirnih grla unutar zgrada (to je često na ravnim krovovima). Krovne plohe najčešće su ravne, ali mogu biti i lomljene, oble, zavojite i izvitoperene.

Mase mjerodavne za proračun stalnog opterećenja pokrova i krovne konstrukcije, te pokretnog opterećenja snijegom i vjetrom određuju Privremeni tehnički propisi za opterećenje zgrada. Mase pokrova zajedno s letvama ili oplatom ovise o vrsti pokrova (tabl. 1). Masa krovne tesane konstrukcije raspona 7–20 m iznosi 10–25 kg/m² tlocrtne površine. Inženjerske nosive konstrukcije raspona 15–50 m imaju vlastitu masu 20–60 kg/m². Opterećenje snijegom krovova nagiba do 20° iznosi 75 kg/m² tlocrtne površine. Kad je nagib krova 20–60°, opterećenje se smanjuje postepeno do 35 kg/m², a ako je nagib