



PONTIFICIA
ACADEMIA
SCIENTIARVM

COMMENTARII

VOL. I

N. 49

F. CACACE, R. CIPOLLINI, G. PEREZ

ANALISI ELEMENTARE CONTINUA
DI COMPOSTI ORGANICI SEPARATI MEDIANTE
CROMATOGRAFIA IN FASE VAPORE

EX AEDIBVS ACADEMICIS IN CIVITATE VATICANA



PONTIFICIA
ACADEMIA
SCIENTIARVM

COMMENTARII

Vol. I - N. 49

pag. 1-12

ANALISI ELEMENTARE CONTINUA DI COM- POSTI ORGANICI SEPARATI MEDIANTE CROMATOGRAFIA IN FASE VAPORE

F. CACACE, R. CIPOLLINI, G. PEREZ

SUMMARY — Breviter describitur quaedam ratio, qua elementariae continuae analysi (Carbonium-Hydrogenum-Nitrum) subiici possunt parvae organicorum compositorum quantitates, dummodo per chromatographiam vaporem separata sint.

INTRODUZIONE

È stato in precedenza descritto il principio di un metodo per l'analisi elementare continua di effluenti gas cromatografici applicato all'analisi C/H (1-4). Si tratta di una tecnica basata sulla separazione gas cromatografica e sulla combustione continua dei singoli picchi di eluizione, che consente di ottenere l'analisi elementare dei componenti di una miscela, eliminando la usuale necessità di una loro purificazione preliminare.

Nella presente comunicazione si descrive l'estensione di questo metodo all'analisi di sostanze organiche contenenti azoto.

Nota presentata dall'Accademico Pontificio S.E. GIORDANO GIACOMELLO il 2 ottobre 1964 durante la Sessione Plenaria della Pontificia Accademia delle Scienze.

Il principio del metodo è il seguente: la miscela da analizzare viene risolta prima nei suoi componenti mediante una colonna gas cromatografica.

Una frazione di ciascun componente è introdotta in un forno di combustione e convertita quantitativamente in una miscela di CO_2 , N_2 e H_2O , che entrano insieme nel rivelatore di un secondo gas cromatografo. Si determina in questo modo il totale dei tre composti, che vengono quindi introdotti in un tubo di essiccazione e in una colonna che separa l' N_2 dal CO_2 . Un secondo rivelatore, disposto all'uscita di questa colonna, permette di determinare la quantità di N_2 e CO_2 e, per differenza dal totale, la quantità di H_2O .

APPARECCHIATURA

L'apparecchio adoperato è illustrato schematicamente nella fig. 1. Il gas di trasporto (elio) entra dalla valvola **2** in un gas cromatografo ERBA modello B. La miscela da analiz-

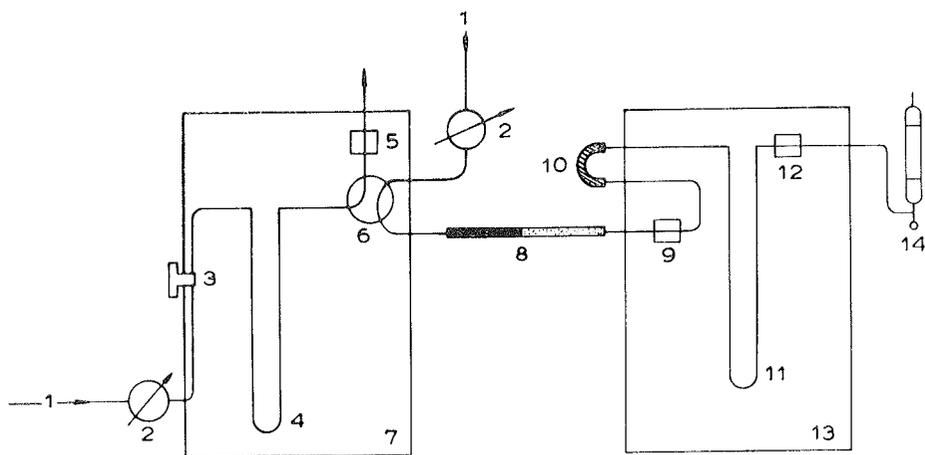


Fig. 1

zare, introdotta nella miscela di vaporizzazione **3**, viene risolta in una colonna **4**, contenente una fase stazionaria scelta a seconda della natura del campione. Il rivelatore **5** permette di registrare l'eluizione di ciascun componente e, manovrando il rubinetto **6**, è possibile introdurre una porzione del picco nel forno di combustione **8**, escludendo momentaneamente il flusso di gas di trasporto che normalmente lo attraversa.

Il forno è costituito da un tubo di vetro Pyrex speciale dalla lunghezza di cm 40 e dal diametro di 8 mm, riempito di due terzi di ossido di rame finemente suddiviso, supportato da ossido di rame granulare. Il resto del tubo è riempito con rame suddiviso per la riduzione degli ossidi d'azoto. Il tubo di combustione, mantenuto a 720°C, è collegato, mediante un tubicino di rame riscaldato, ad uno speciale cromatografo dotato di due rivelatori, **9** e **12**. Tra di essi è inserito un tubo di essiccazione a perclorato di magnesio ed una colonna **11** da 3 metri, diametro interno 4 mm, riempita di gel di silice e mantenuta a 100°C. Un flussimetro a bolla di sapone è inserito alla fine del circuito del gas di trasporto. Il segnale di ciascun rivelatore, convenientemente attenuato, è portato ad un registratore potenziometrico Speedomax Mod. G dotato di integratore elettronico ERBA mod. 62 per la misura dell'area dei picchi.

PROCEDIMENTO

La colonna per la risoluzione della miscela da analizzare viene scelta di volta in volta a seconda della natura del campione.

La quantità di sostanza richiesta per ciascuna analisi è molto piccola ed è spesso conveniente adoperare un solvente per l'iniezione nel cromatografo.

Allorchè un picco viene registrato dal primo rivelatore l'operatore aziona il rubinetto a quattro vie per la combu-

stione di una parte del composto. Un tipico tracciato ottenuto durante questa operazione è riportato in fig. 2, che mostra la parte del picco destinata alla combustione (area tratteggiata)

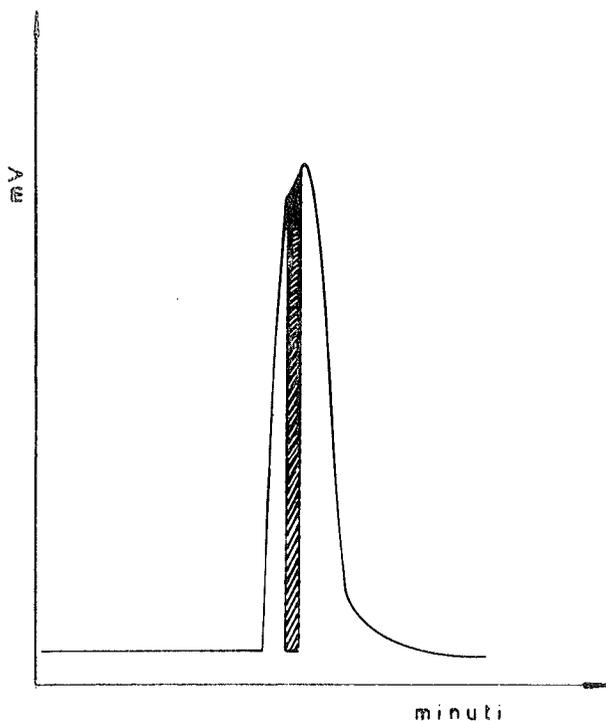


FIG. 2

È possibile, naturalmente, bruciare tutti i picchi presenti nel cromatogramma o solo alcuni di essi. Nella fig. 3 è illustrato un tipico tracciato ottenuto dopo la combustione di un dato componente: il primo picco corrisponde alla somma $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2$, gli altri due rispettivamente all' N_2 e al CO_2 .

L'apparecchio viene calibrato periodicamente, iniettando quantità uguali di CO_2 , H_2O e N_2 , e ricavando in tal modo

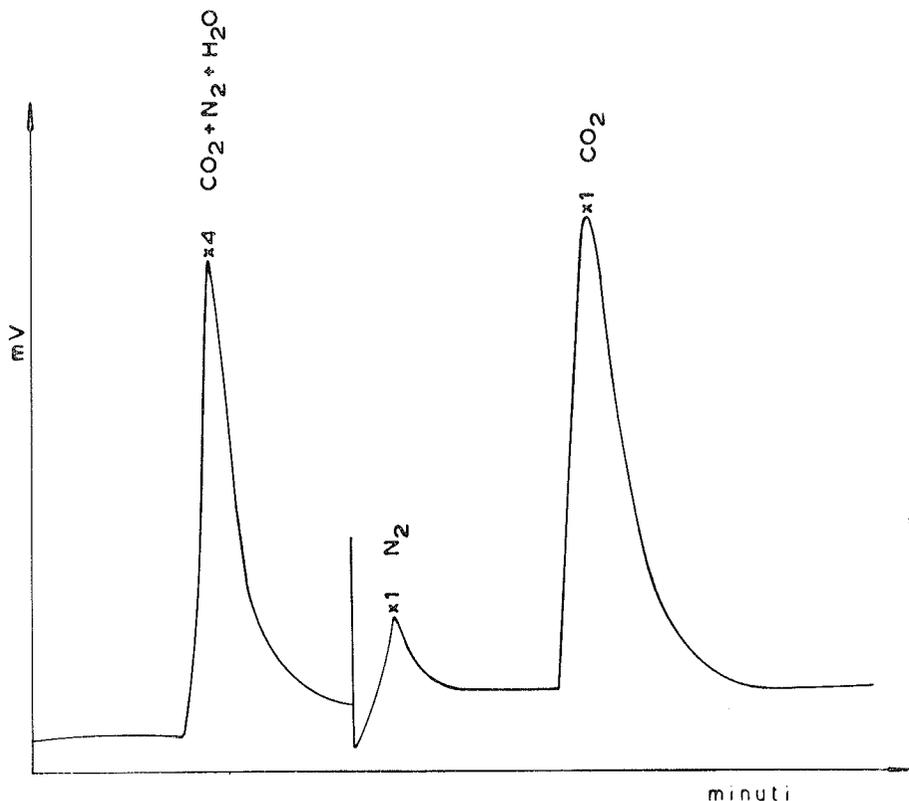


FIG. 3

fattori di calibrazione che tengono conto della diversa sensibilità dell'apparecchio per le tre sostanze.

Il valore delle aree dei tre picchi (totale, N₂, CO₂) è ottenuto dall'integratore elettronico. Ciascuna area è corretta per le variazioni di flusso che possono aver luogo nell'esperienza, quindi, facendo uso dei fattori relativi si ottengono dalle rispettive aree le gmoli di N₂ e CO₂.

I valori corretti delle aree dell'N₂ e CO₂ sono addizionati tra loro e sottratti dall'area del picco totale. La differenza mol-

tiplicata per il relativo fattore di correzione, dà le gmoli dell'acqua.

Note in tal modo le gmoli dell' H_2O , CO_2 e N_2 che prendono origine da un dato composto è possibile calcolare il rapporto C:H:N nella sua formula grezza.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Nella tabella I sono riportati i risultati ottenuti nell'analisi di sostanze organiche volatili con la tecnica descritta.

Si osserverà che le percentuali riportate sono calcolate secondo le espressioni:

$$a = 100 \frac{\text{gmoli CO}_2}{\text{gmoli (CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2)}$$

$$b = 100 \frac{\text{gmoli H}_2\text{O}}{\text{gmoli (CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2)}$$

$$c = 100 \frac{\text{gmoli N}_2}{\text{gmoli (CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2)}$$

Il rapporto $a:2b:2c$ permette di risalire direttamente al rapporto C:H:N nella molecola del composto analizzato.

La deviazione standard delle percentuali è riportata nella tabella e risulta in genere inferiore al 4%.

Sostanza	$\frac{\text{moli CO}_2}{\text{moli (CO}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{N}_2)}$ teor.	$\frac{\text{moli N}_2\text{O}}{\text{moli (OO}_2 + \text{H}_2 + \text{N}_2)}$ teor.	$\frac{\text{moli N}_2}{\text{moli (N}_2 + \text{H}_2\text{O} + \text{OO}_2)}$ teor.	N. determinazioni			
C ₂ H ₄	49,5 ± 1,3	50,0	50,5 ± 1,3	50,0	16,2 ± 0,8	16,7	15
H ₈	42,6 ± 1,1	42,9	57,4 ± 1,1	57,1			12
C ₄ H ₁₀	44,7 ± 1,2	44,4	55,3 ± 1,2	55,6			7
C ₂ H ₆	38,8 ± 1,8	40,0	60,2 ± 1,8	60,0			9
<i>i</i> -C ₄ H ₁₀	45,1 ± 1,1	44,4	54,9 ± 1,6	55,5			14
CH ₃ NO ₂	32,5 ± 1,3	33,3	51,3 ± 2,1	50,0			18
C ₂ H ₃ NO ₂	38,8 ± 1,5	40,0	50,5 ± 1,7	50,0	10,2 ± 0,5	10,0	19
C ₃ H ₇ NO ₂ sec.	42,7 ± 1,5	42,9	50,2 ± 1,8	50,0	7,4 ± 0,5	7,1	19
C ₃ H ₇ NO ₂ prim.	42,6 ± 1,9	42,9	49,8 ± 2,6	50,0	6,9 ± 0,7	7,1	18
CH ₃ CN	49,9 ± 1,5	50,0	37,6 ± 1,8	37,5	12,6 ± 0,6	12,5	13

CONCLUSIONI

Dai dati riportati, e che si riferiscono all'analisi dei composti organici di varia natura (idrocarburi, nitroparaffine, nitrili), risulta che è possibile ottenere con buona accuratezza analisi elementari C:H:N di composti organici contenuti in miscele complesse, senza la necessità di una purificazione preliminare.

L'interesse di questa tecnica consiste nel fatto che essa rende possibile l'analisi elementare di piccole quantità (fino a 50 μg) di sostanze organiche in miscele anche molto complesse, eliminando lo stadio di isolamento e purificazione chimica richiesto dai metodi classici.

Quantità di miscela dell'ordine del milligrammo, contenenti un numero elevato di prodotti (naturali, metabolici, miscele ottenute da reazioni di demolizione e di sintesi, ecc.) possono in tal modo essere direttamente sottoposte all'analisi elementare (per uno o per tutti i loro componenti) ricavandone dati non ottenibili con nessun altro metodo.

L'unico requisito perchè una sostanza possa essere analizzata è la necessità che essa possa essere eluita da una colonna gas cromatografica: ciò limita l'impiego della tecnica descritta a sostanze dotate di una certa volatilità e stabilità termica.

Occorre però osservare che questa limitazione va perdendo sempre più significato, dato che oggi è possibile separare per via gas cromatografici composti come gli steroidi, amminoacidi, terpeni ecc.

Inoltre l'analisi elementare continua di effluenti gas cromatografici si presta molto bene ad essere applicata a sostanze organiche marcate al carbonio. Una estrema sensibilità d'analisi può allora essere raggiunta accoppiando l'uso di rivelatori adeguati ⁽⁵⁾ con l'impiego dell'isotopo ¹⁴C, del quale possono essere misurate quantità dell'ordine di poche migliaia di molecole.

Sono in corso presso questo Istituto ricerche volte ad accrescere la sensibilità, precisione e campo di applicazione delle tecniche qui descritte.

RINGRAZIAMENTI

Gli AA. desiderano esprimere la loro gratitudine al professor G. GIACOMELLO per l'incoraggiamento e i consigli ricevuti.

Roma, Istituto Chimica Farmaceutica e Tossicologica.
Centro di Chimica delle Radiazioni e Radioelementi del
C.N.R.

REFERENCES

- [1] F. CACACE, R. CIPOLLINI, G. PEREZ, « Scienze », 132, 1253 (1960).
- [2] F. CACACE, R. CIPOLLINI, G. PEREZ, E. POSSAGNO, « Gazz. Chim. It. », 91, 804 (1961).
- [3] F. CACACE, R. CIPOLLINI, G. PEREZ, « Anal. Chem. », 35, 1348 (1963).
- [4] — « La Chimica e l'Industria », 45, 11, 1426 (1963).
- [5] F. CACACE, « Nucleonics, 19, 45 (1961).