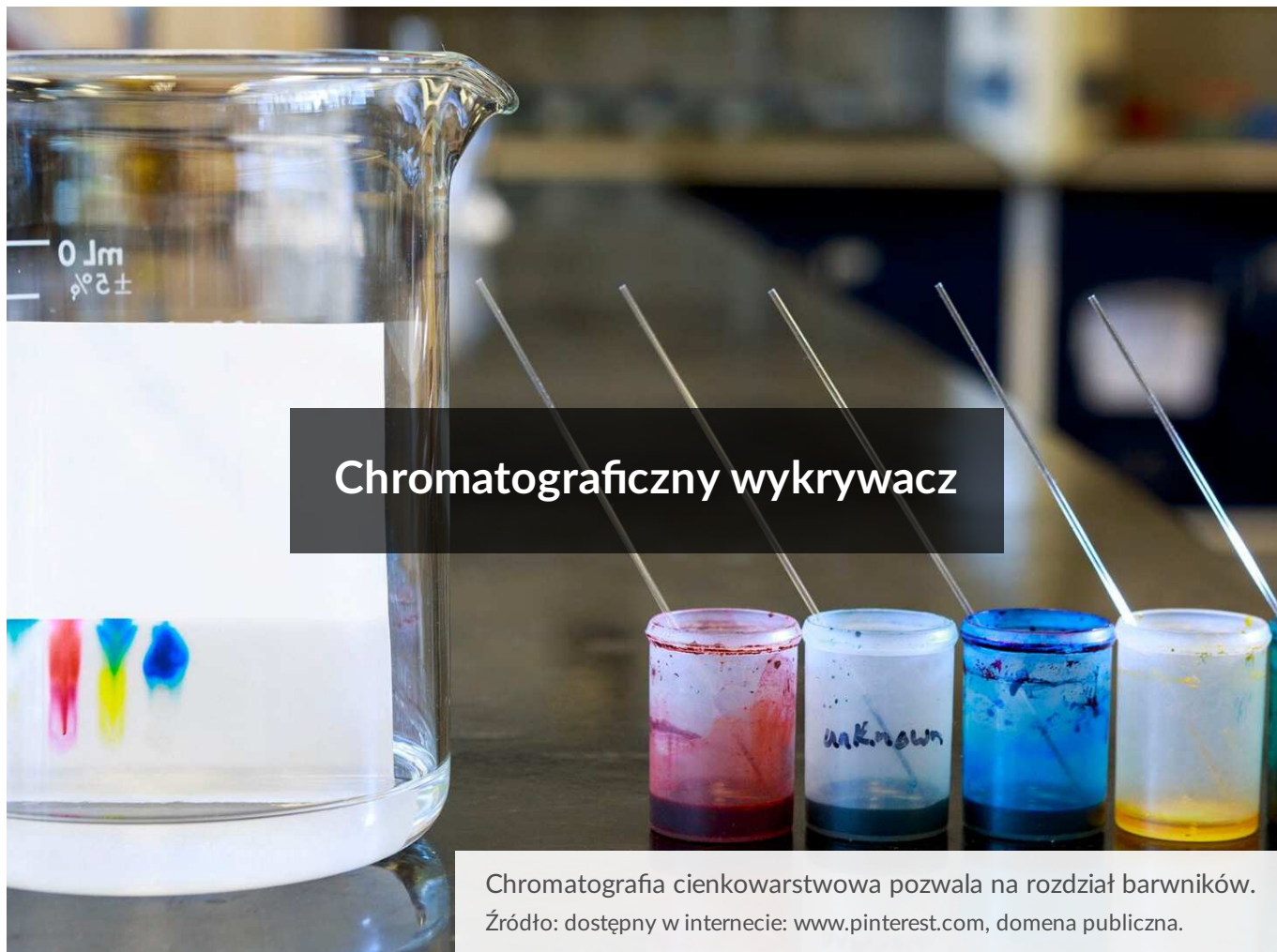




Chromatograficzny wykrywacz

- Wprowadzenie
- Przeczytaj
- Wirtualne laboratorium - I
- Sprawdź się
- Dla nauczyciela



Jak sądzisz, dlaczego w tytule pojawił się zapis: „chromatograficzny wykrywacz”? Czy wiesz, że aby odkryć źródło pochodzenia narkotyków, specjaliści kryminalistyki analizują ich skład pod kątem zawartych zanieczyszczeń? A może wiesz, jaką metodę stosuje się podczas kontroli antydopingowej? Jak się wówczas wykrywa niedozwolone substancje we krwi, pocie, moczu i ekstrakcie z włosów sportowców? Czy zastanawia Cię to, na jakiej zasadzie działa test ciążowy?

Twoje cele

- Poznasz pojęcia stosowane w chromatografii: faza stacjonarna i ruchoma, elucja, analit, rozdzielana mieszanina, adsorpcja.
- Dowiesz się, gdzie w życiu zastosowanie ma chromatografia.
- Zapoznasz się z etapami analizy metodą chromatografii kolumnowej.
- Wskażesz, jakie są zasady rozdzielania mieszanin metodą chromatografii kolumnowej. Wskażesz metodę stosowaną do znalezienia optymalnych warunków dla chromatografii kolumnowej.

Przeczytaj

Czy znasz przebieg doświadczenia, które pozwala zbadać chromatografię bibułą barwnika pisaka? Na bibule filtracyjnej zaznaczono kreskę mazakiem, a następnie zanurzono ją w zlewce z octem. Poziom cieczy podnosił się i zaczynała ona pochłaniać za sobą wchodzące w skład tuszu pisaka barwniki, które podczas rozdzielania wędrowały z różnymi prędkościami. Wniosek brzmiał następująco: w skład tuszu pisaka określonego koloru wchodzi więcej niż jeden barwnik.

Czy wiesz, kto odkrył chromatografię i w jakich okolicznościach?

Chromatografia

Chromatografia jest zaliczana do jednej z metod analitycznych i preparatywnych. Technika ta pozwala na rozkładanie mieszaniny na oddzielne składniki lub ich grupy ([frakcje](#)), a także ich identyfikację. Procedura ta korzysta z różnic w zachowaniu poszczególnych związków chemicznych w układzie dwufazowym – czyli działa na zasadzie oddziaływań międzycząsteczkowych, powstających pomiędzy związkami chemicznymi, z których składa się mieszanina, a złożem. Wówczas pewne związki chemiczne przechodzą przez złożę szybciej, a inne wolniej.

Jedna z faz pozostaje w tym samym miejscu, nie ulega zmianie jej położenie (faza stacjonarna, [faza nieruchoma](#), złożo, adsorbent). Druga natomiast przemieszcza się w stosunku do pierwszej w określonym kierunku (roztwór rozwijający, eluent, [faza ruchoma](#), faza nośna).

Chromatografię można podzielić, w zależności od stanu skupienia fazy ruchomej, na:

- **gazową** – fazę ruchomą stanowi gaz (zazwyczaj hel, argon, wodór);

- **cieczową** – fazę ruchomą stanowi ciecz;
- **nadkrytyczną** – fazę ruchomą jest substancja (najczęściej tlenek węgla(IV)) w stanie nadkrytycznym.

Możliwe zależności pomiędzy fazą ruchomą i fazą stacjonarną:

Faza ruchoma	Faza nieruchoma
gaz	ciecz
gaz	ciało stałe
ciecz	ciecz
ciecz	ciało stałe

Chromatografia kolumnowa

Chromatografia kolumnowa jest reprezentantem chromatografii cieczowej. Jest dobrą i wydajną techniką, służącą do rozdzielania mieszanin i oczyszczania produktów naturalnych i syntetycznych.

W mechanizmie rozdzielania wykorzystuje się istnienie różnic w sile oddziaływań międzycząsteczkowych dla różnych związków, pomiędzy składnikami mieszaniny a fazą ruchomą oraz składnikami mieszaniny a fazą stacjonarną. W roli fazy stacjonarnej można używać rozmaitych adsorbentów, którymi są ciała stałe, porowate, o silnie rozwiniętej powierzchni, nierozpuszczalne w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych.

Najczęściej stosowanymi adsorbentami (faza stacjonarna) są:

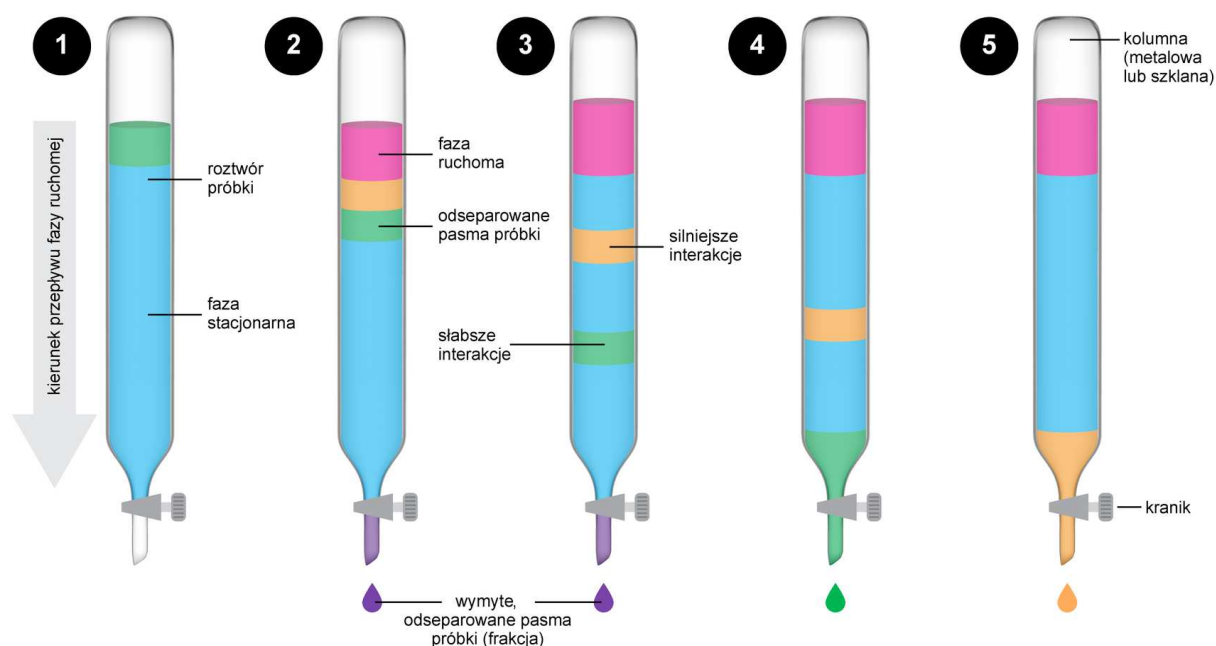
- żel krzemionkowy – SiO_2 (silnie polarny);
- tlenek glinu(III) – Al_2O_3 ;

- węgiel aktywny;
- poliamid;
- glinokrzemiany.

Z kolei **fazę ruchomą** stanowią woda lub organiczne rozpuszczalniki, takie jak: metanol, acetonitryl, propanol lub heksan.

Związki polarne adsorbują się silniej na polarnych cząsteczkach silikażelu, dlatego są wmywane z kolumny później niż składniki mniej polarne, które poruszają się szybciej przy zastosowaniu rozpuszczalnika mniej polarnego.

Etapy analizy metodą chromatografii kolumnowej:



Etapy przeprowadzania chromatografii kolumnowej

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC, ang. *Thin Layer Chromatography*) stanowi powszechną technikę sprawnego kontrolowania postępu reakcji chemicznych i czystości produktów. Za pomocą tej metody można zidentyfikować związki zarówno organiczne, jak i nieorganiczne.

W technice TLC, fazę stacjonarną nakłada się w formie cienkiej, równomiernej warstewki na płytkę szklaną, arkusz folii aluminiowej lub na tworzywo sztuczne. Mieszaninę substancji do rozdzielania lub po rozdziale nanosi się punktowo przy dolnej krawędzi płytki. Następnie płytkę chromatograficzną umieszcza się w komorze chromatograficznej. Jeden koniec płytki zanurzony jest w zlewce z fazą ruchomą, która – dzięki siłom kapilarnym – porusza się przez złoże prostopadle do powierzchni fazy ruchomej. Taki ruch kapilarny jest porównywany do dyfuzji substancji rozpuszczonej w fazie ruchomej pod kątem prostym w stosunku do drogi migracji, więc substancja rozpuszczona ograniczona jest do wąskiej dróżki.

Składniki rozdzielanej mieszaniny chemicznej wiążą się z różną siłą z polarnym adsorbentem. Następnie są wmywane za pomocą rozpuszczalnika, który pełni funkcję fazy ruchomej.

Ważne!

Wraz z polarnością badanej substancji, wzrasta wiązanie się ich z fazą stałą, czego efektem jest trudniejsze wmywanie substancji chemicznych przez eluent. Natomiast wraz ze wzrostem polarności fazy ruchomej następuje wzrost blokowania przez niego polarnych centrów aktywnych fazy stałej, co zmniejsza „opory” przesuwania się wmywanych substancji.

Rozpuszczalniki dobiera się na zasadzie „podobne rozpuszcza się w podobnym „. Wówczas wykonuje się kilka prób (modyfikując polarność fazy ruchomej) i stara się otrzymać jak najmniejszą wartość tzw. współczynnika opóźnienia R_f (ang. *retardation factor*). Współczynnik ten przedstawia ułamek czasu spędzonego przez substancję w fazie ruchomej i powinien być wyższy od 0 i niższy od 1.

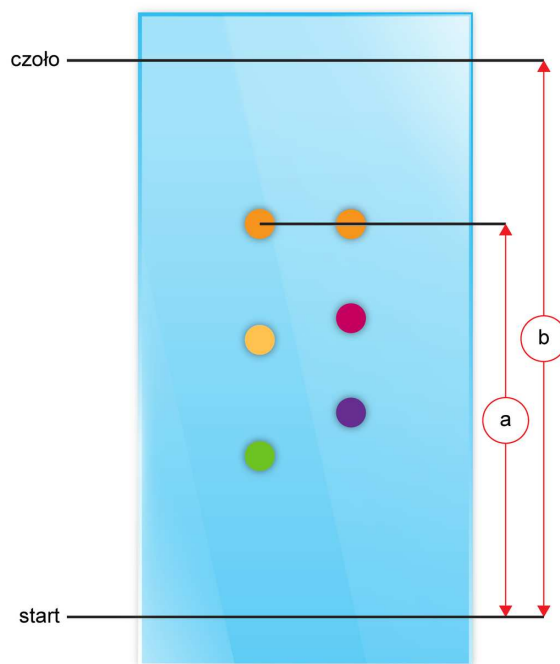
$$R_f = \frac{a}{b}$$

Gdzie a to długość drogi, którą przebył nałożony analit, a b to długość drogi, którą przebył eluent.

Jeżeli wartość współczynnika R_f jest równa lub bliska zero, oznacza to, że substancja adsorbuje się bardzo silnie, przez co w tym samym czasie, co w przypadku substancji o wysokich wartościach współczynnika R_f (0,6-0,9) przebywa krótszą drogę.

W uproszczeniu, współczynnik R_f pokazuje stosunek prędkości próbki do prędkości eluentu.

Technika TLC jest wykorzystywana w celu znalezienia optymalnych warunków dla chromatografii kolumnowej oraz analizy frakcji uzyskanych techniką chromatografii kolumnowej.

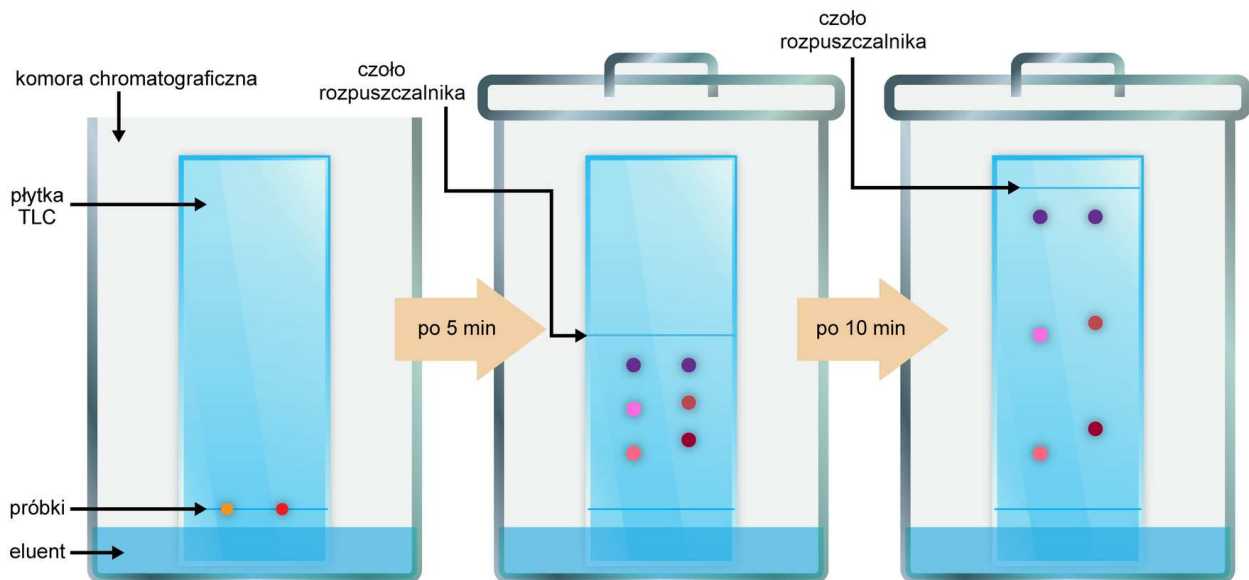


Płytka TLC po przeprowadzonej chromatografii. Ze wskazanych odległości wyliczany jest współczynnik opóźnienia R_f , gdzie:

- *start* to linia, na którą punktowo наносimy analit (mieszaninę substancji) za pomocą kapilary;
- *a* to punkt, do którego dotarł nałożony analit;
- *b* to poziom, do którego dotarło czoło eluentu;
- *czoło* to linia pomocnicza, która przedstawia moment wyciągnięcia płytki z komory rozwijającej (eluent dotarł do tej linii).

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Metoda liniowa to najpopularniejsza technika rozwijania płytek chromatograficznych. Wymagany jest kontakt jednego końca płytki (warstwy chromatograficznej) z rozpuszczalnikiem (faza ruchoma). Potem płytkę chromatograficzną ustawia się w pozycji pionowej lub pod kątem, zanurzając ją w kilku mililitrach rozpuszczalnika, który znajduje się w odpowiednim pojemniku zwanym komorą chromatograficzną. Rozwijanie liniowe może być jednokierunkowe lub dwukierunkowe.



Etapy chromatografii cienkowarstwowej

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

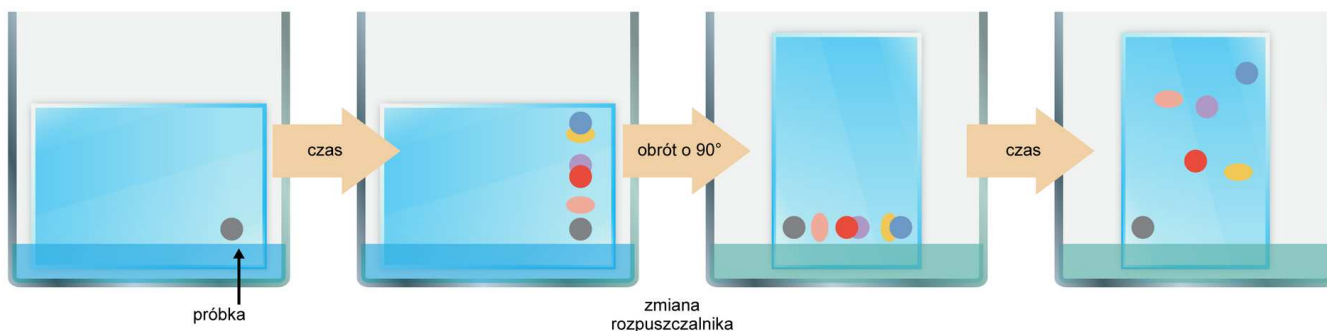
Płytkę chromatograficzną można rozwijać:

- pojedynczo;

W rozwijaniu jednokierunkowym, faza ruchoma przemieszcza się od dołu płytki chromatograficznej ku górze. Spotykane jest również rozwijanie dwukierunkowe. W tym przypadku, po pierwszym rozwinięciu należy płytkę wysuszyć w celu usunięcia rozpuszczalnika, a następnie ponownie ją zanurzyć w tym samym lub innym rozpuszczalniku. Konieczne jest jednak obrócenie płytki o 90 stopni.

- wielokrotnie.

W rozwijaniu wielokrotnym, po każdej analizie, płytkę chromatograficzną należy wysuszyć i ponownie rozwinąć. W tym celu można zastosować taką samą lub inną fazę ruchomą. Technika wielokrotnego rozwijania ma na celu zwężenie pasma stężeniowego substancji, czego efektem jest zwiększenie sprawności układu i czułości metody.



Etapy przeprowadzania chromatografii cienkowarstwowej dwukierunkowej

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Zalety TLC

- Stosowana jest do wstępnego doboru faz dla układów kolumnowych, ponieważ zużycie rozpuszczalników, w porównaniu z chromatografią kolumnową, jest znacznie mniejsze.
- Możliwość przechowywania płytek z rozdzielonymi substancjami.
- Na jednej warstwie chromatograficznej można równocześnie rozdzielać kilka różnych próbek.
- Pozwala określić stopień rozdzielenia substancji na każdym etapie rozwijania chromatogramu i przerwać ten proces w dowolnym momencie.

W przypadku kolumny chromatograficznej, zarówno detekcja składników, jak i ocena stopnia ich rozdzielenia możliwe są dopiero, gdy związki te opuszczą kolumnę.

Zastosowania chromatografii w życiu codziennym

Słownik

kolumna chromatograficzna

faza nieruchoma jest umieszczona w specjalnej kolumnie, przez którą przepuszcza się roztwór badanej mieszaniny, po czym wymywa składniki mieszaniny, stosując eluent

faza stacjonarna (nieruchoma, adsorbent)

substancja umieszczona w kolumnie chromatograficznej (chromatografia kolumnowa) lub na płaszczyźnie (chromatografia cienkowarstwowa), która ma budowę porowatą i spełnia rolę sorbentu, tzn. działa na zasadzie zatrzymywania składników rozdzielanej mieszaniny na powierzchni (adsorpcja) lub w masie (absorpcja)

faza ruchoma

eluent lub inaczej czynnik wymywający; w przypadku chromatografii cieczowej jest nim ciekły rozpuszczalnik, który przenosi analizowaną substancję przez złożę, a w przypadku chromatografii gazowej gaz – mówimy wtedy o gazie nośnym

elucja

proces wymywania składników

adsorpcja

efekt powierzchniowy; wynika z oddziaływań elektrostatycznych (wiązania wodorowe, oddz. dipol-dipol, dipol-dipol indukowany) pomiędzy substancją rozdzielaną i miejscami polarnymi (polarne grupy funkcyjne np. OH, Si – O – Si lub Si – OH) fazy stacjonarnej

rozdzielana mieszanina

układ dwóch lub więcej związków chemicznych, zmieszanych ze sobą w dowolnym stosunku oraz podlegających rozdzielaniu

analit

składnik wykrywany lub/i oznaczany w badanej próbce

współczynnik opóźnienia (migracji)

R_f , iloraz odległości przebytej przez substancję rozdzielaną przez odległość przebytą przez czoło eluentu w tym samym czasie

frakcja

części mieszaniny, wyodrębnione w procesie rozdzielania

Bibliografia

Szczepaniak W., *Metody instrumentalne w analizie chemicznej*, Warszawa 1996.

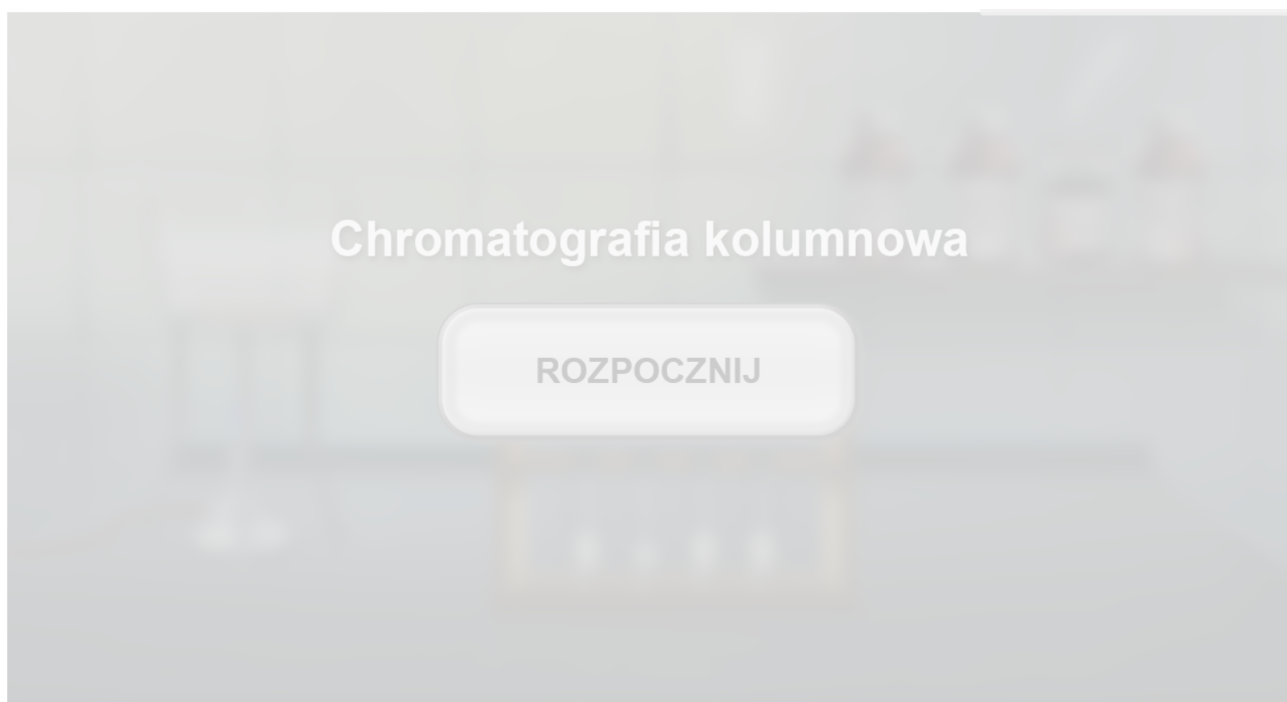
Witkiewicz Z., *Podstawy chromatografii*, Warszawa 1995.

Zniszczoł, A., Budniok S., *Laboratorium z chemii organicznej. Chromatografia Cienkowarstwowa (TLC)*, Gliwice 2010.

Wirtualne laboratorium – I

Laboratorium 1

Przeprowadź doświadczenie w laboratorium chemicznym. Metodą chromatografii kolumnowej rozdziel mieszaninę *o*-nitrofenol i *p*-nitrofenolu. Jako eluent zastosuj dichlorometan. Rozwiąż problem badawczy i zweryfikuj hipotezę. W formularzu zapisz swoje obserwacje i wyniki, a następnie sformułuj wnioski.




Zasób interaktywny dostępny pod adresem <https://zpe.gov.pl/a/DIFg1c9H6>

Wirtualne laboratorium pt. *Chromatografia kolumnowa*

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Sprawdź się

Pokaż ćwiczenia:   

Ćwiczenie 1



Zaznacz prawidłową odpowiedź.

Chromatografia kolumnowa jest przykładem chromatografii:

nadkrytycznej.

cieczowej.

gazowej.

Ćwiczenie 2



Zaznacz prawidłową odpowiedź.

Aby znaleźć optymalne warunki dla chromatografii kolumnowej, należy wykonać:

chromatografię gazową.

chromatografię nadkrytyczną.

chromatografię cienkwarstową.

Ćwiczenie 3



Zaznacz prawidłową odpowiedź.

Fazę stacjonarną stanowi:

eluent.

szklana kolumna.

adsorbent.

Ćwiczenie 4



Uporządkuj etapy analizy metody chromatografii kolumnowej.

załadowanie kolumny



aplikacja próbki na kolumnę



rozwijanie kolumny



zbieranie frakcji



przygotowanie kolumny



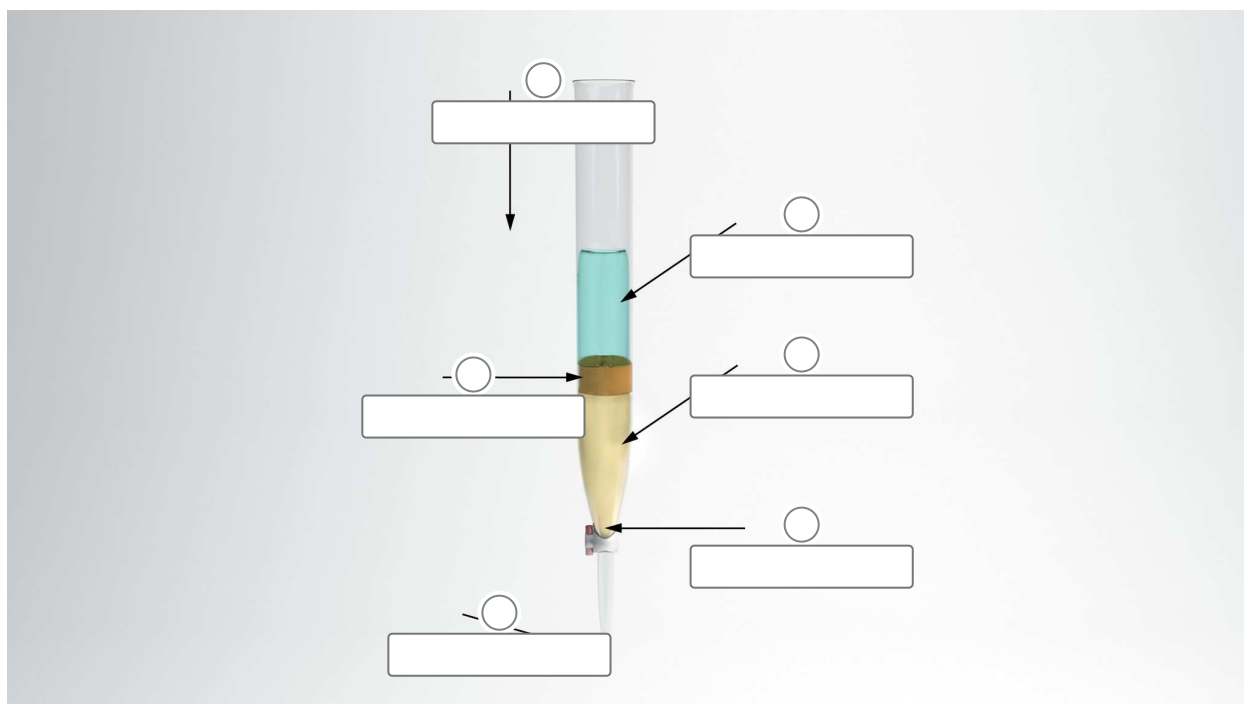
analiza frakcji



Ćwiczenie 5



Uzupełnij rysunek, wykorzystując opisy znajdujące się poniżej.



wata/spiek

faza ruchoma

kierunek przepływu fazy ruchomej

faza stacjonarna

odbierany eluent

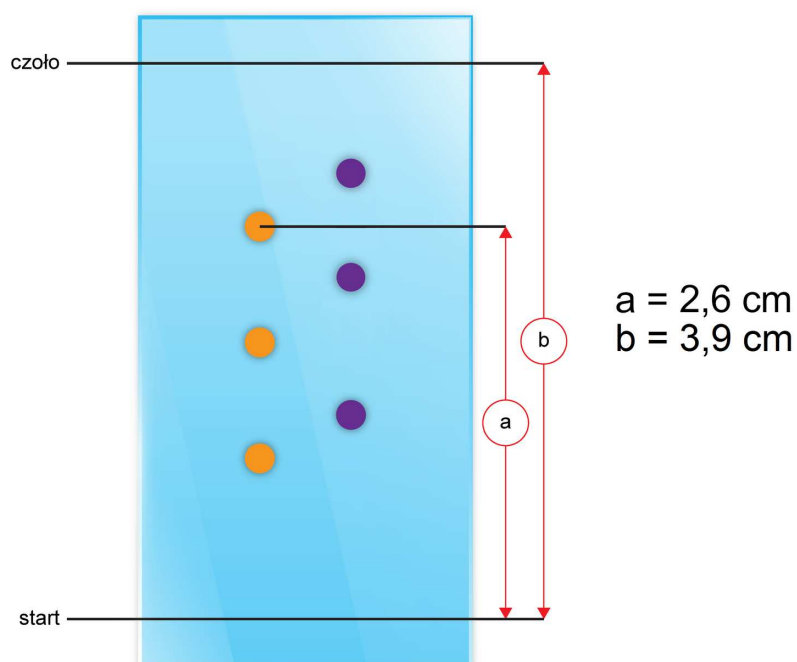
piasek

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Ćwiczenie 6



Oblicz współczynnik opóźnienia R_f . Dane potrzebne do obliczeń odczytaj z rysunku.



Płyta chromatograficzna. Pomarańczowe plamki pochodzą od analizowanej próbki, natomiast fioletowe od wzorca.

Źródło: GroMar Sp. z o.o., licencja: CC BY-SA 3.0.

Odpowiedz, czy zastosowano właściwy eluent do rozdzielenia analizowanej próbki.

Odpowiedź zapisz w zeszycie do lekcji chemii, zrób zdjęcie, a następnie umieść je w wyznaczonym polu.

Zaloguj się, aby dodać ilustrację.

Ćwiczenie 7



Z jakim typem chromatografii mamy do czynienia w przypadku testów medycznych, takich jak test ciążowy czy test na wykrywanie narkotyków w moczu?

Odpowiedź:

Ćwiczenie 8



Wyjaśnij, dlaczego substancje (składniki analizowanej mieszaniny) przemieszczają się na płytkach do chromatografii cienkowarstwowej z różną szybkością.

Odpowiedź:

Ćwiczenie 9



Wykonaj doświadczenie.

Potrzebne materiały:

- szklanka;
- woda;
- biała bibuła;
- cukrowe różnokolorowe cukierki;
- wykałaczki;
- ołówek lub długopis.

Instrukcja:

Do szklanki nalej 2 cm wody. Narysuj ołówkiem linię o długości jednego centymetra od spodu kawałka bibuły do chromatografii. Użyj kilku kropli wody, aby rozpuścić każdy cukierek. Nanieś kilka kropel koloru w małym miejscu na linii za pomocą wykałaczki. W ten sam sposób nanieś inne kolory cukierków, centymetr od pierwszej kropki na linii. Po umieszczeniu wszystkich kolorów w linii, napisz nazwę każdego koloru cukierka wg odpowiedniego miejsca. Później drugi koniec bibuły owiń wokół długopisu/ołówka i wprowadź do szklanki z wodą (długopis/ołówek oparty na krawędziach szklanki). Bibuła powinna dotykać dna szklanki. Gdy woda zbliży się do ok. 2 cm od jej górnej krawędzi, wyjmij ją, osusz i przeanalizuj.

Przeprowadź doświadczenie, a następnie:

- wykonaj rysunek poglądowy zgodnie z opisem doświadczenia;
- zaproponuj pytanie badawcze, hipotezę oraz podaj wnioski.

Odpowiedź zapisz w zeszycie do lekcji chemii, zrób zdjęcie, a następnie umieść je w wyznaczonym polu.

Zaloguj się, aby dodać ilustrację.

Dla nauczyciela

Scenariusz zajęć

Autor: Sylwia Kostera, Krzysztof Błaszczak

Przedmiot: chemia

Temat: Chromatografia kolumnowa.

Grupa odbiorcza: III etap edukacyjny, liceum, technikum, zakres podstawowy i rozszerzony; uczniowie III etapu edukacyjnego – kształcenie w zakresie podstawowym i rozszerzonym

Podstawa programowa:

Zakres podstawowy:

V. Roztwory. Uczeń:

4) opisuje sposoby rozdzielania roztworów właściwych (ciał stałych w cieczach, cieczy w cieczach) na składniki (m.in. ekstrakcja, chromatografia).

Zakres rozszerzony

V. Roztwory. Uczeń:

4) opisuje sposoby rozdzielania roztworów właściwych (ciał stałych w cieczach, cieczy w cieczach) na składniki (m.in. ekstrakcja, chromatografia, elektroforeza).

Kształtowane kompetencje kluczowe:

- kompetencje w zakresie rozumienia i tworzenia informacji;
- kompetencje matematyczne oraz kompetencje w zakresie nauk przyrodniczych, technologii i inżynierii;
- kompetencje cyfrowe;
- kompetencje osobiste, społeczne i w zakresie umiejętności uczenia się.

Cele operacyjne:

Uczeń:

- wyjaśnia pojęcia: chromatografia, kolumna chromatograficzna, faza stacjonarna, faza ruchoma, współczynnik opóźnienia, chromatografia cienkowsarstwowa;
- omawia wygląd kolumny chromatograficznej;

- omawia zalety chromatografii cienkowsarstwowej.

Strategie nauczania:

- asocjacyjna;
- problemowa.

Metody i techniki nauczania:

- dyskusja dydaktyczna;
- burza mózgów;
- ćwiczenia uczniowskie;
- analiza materiału źródłowego;
- eksperyment chemiczny;
- technika zdań podsumowujących.

Formy pracy:

- praca zbiorowa;
- praca w grupach;
- praca indywidualna.

Środki dydaktyczne:

- komputery z głośnikami, słuchawkami i z dostępem do Internetu;
- rzutnik multimedialny;
- zasoby multimedialne zawarte w e-materiale;
- tablica interaktywna/tablica, kreda/mazak.

Przebieg zajęć

Faza wstępna:

1. Zaciekawienie i dyskusja. Nauczyciel wyświetla okładkę e-materiału, na której widoczna jest kolumna chromatograficzna, po czym zadaje uczniom pytania: Co ich zdaniem przedstawione jest na zdjęciu? W jaki sposób można rozdzielić atrament lub barwnik z mazaków na składniki? Gdzie w życiu codziennym można znaleźć przykłady chromatografii?
2. Rozpoznawanie wiedzy wyjściowej uczniów. Burza mózgów wokół terminu „chromatografia”.
3. Ustalenie celów lekcji. Nauczyciel podaje temat zajęć i wspólnie z uczniami ustala cele lekcji, które uczniowie zapisują w portfolio.
4. Zasady BHP. Nauczyciel zapoznaje uczniów z kartami charakterystyk substancji, jakie zostaną użyte w czasie lekcji.

Faza realizacyjna:

1. Prowadzący zajęcia wyświetla na tablicy multimedialnej film samouczek z YouTube zatytułowany „Jak poprawnie przygotować kolumnę chromatograficzną?” (link w materiałach pomocniczych).
2. Następnie odwołuje uczniów do wirtualnego laboratorium – uczniowie pracują parami z wykorzystaniem kilku wariantów, z możliwością modyfikacji parametrów.
3. Eksperyment chemiczny. Nauczyciel dzieli uczniów na grupy, rozdaje karty pracy, rozdaje sprzęt, szkło laboratoryjne, odczynniki i instrukcję do eksperymentu. Uczniowie stawiają pytanie badawcze i hipotezę, przeprowadzają eksperyment wg instrukcji, obserwują zmiany, wyciągają wnioski, zapisują wszystko w kartach pracy. Nauczyciel monitoruje przebieg pracy uczniów, wyjaśnia ewentualnie niezrozumiałe kwestie i wątpliwości. Po minionym czasie liderzy grup prezentują efekty pracy. Nauczyciel weryfikuje poprawność merytoryczną wypowiedzi uczniów.
4. Uczniowie samodzielnie sprawdzają swoją wiedzę, wykonując ćwiczenia zawarte w e-materiale – „Sprawdź się”.

Faza podsumowująca:

1. Nauczyciel sprawdza wiedzę uczniów, zadając przykładowe pytania: Na czym polega chromatografia kolumnowa? Co to jest elucja? Jaką rolę pełni eluent? Co to jest faza stała i faza ruchoma?
2. Jako podsumowanie lekcji, nauczyciel może wykorzystać zdania do uzupełnienia, które uczniowie również zamieszczają w swoim portfolio:
 - Przypomniałem/łam sobie, że...
 - Co było dla mnie łatwe...
 - Czego się nauczyłam/łem...
 - Co sprawiało mi trudność...

Praca domowa:

Uczniowie sprawdzają swoją wiedzę wykonując ćwiczenie 9 (doświadczenie) zawarte w e-materiale – „Sprawdź się”.

Wskazówki metodyczne opisujące różne zastosowania multimediu:

Wirtualne laboratorium może być wykorzystane do przedstawienia procedury chromatografii. Uczniowie mogą je wykorzystać, przygotowując się do lekcji lub do sprawdzianu. Medium może być również wykorzystane przez uczniów nieobecnych na lekcji jako uzupełnienie luk kompetencyjnych.

Materiały pomocnicze:

1. Proponuje film przedstawiający: jak przygotować kolumnę chromatograficzną?
Inspiracja w poniższym linku: https://www.youtube.com/watch?v=wfWdS8_Tqk

2. Polecenia podsumowujące (nauczyciel przed lekcją zapisuje je na niewielkich kartkach):

- Na czym polega chromatografia kolumnowa?
- Co to jest elucja?
- Jaką rolę pełni eluent?
- Co to jest faza stała i faza ruchoma?

3. Doświadczenie

Szkło i sprzęt laboratoryjny: szalki Petriego, zlewki.

Odczynniki chemiczne: długie kawałki kredy białej, flamaster czarny/brązowy/niebieski/czerwony, woda.

Instrukcja wykonania:

- Na długim kawałku kredy do pisania, w odległości ok. 1,5 cm od podstawy, zaznacz czarnym lub brązowym flamastrem linię równoległą do podstawy. Ponieważ kawałek kredy ma cztery boczne ściany, można równocześnie wypróbować cztery różnokolorowe flamastry.
- Na szalce Petriego wlej kilkumilimetrową warstwę wody i postaw na to „kolumnę chromatograficzną”.
- Obserwuj zmiany. (Kreda szybko nasiąka wodą, woda rozwija ku górze chromatogram, na którym pojawiają się barwne pasma utworzone przez barwniki, wchodzące w skład pozornie jednobarwnego flamastra.)

4. Karty charakterystyk substancji.

5. Karta pracy ucznia:

Plik o rozmiarze 53.53 KB w języku polskim