

Ćwiczenia laboratoryjne Z Chemii Organicznej

Ochrona Środowiska

Ćwiczenie opracowane na podstawie :

- **M. Burgiel, B. Kawalek, S. Lis, M. Jamrozik, K. Ostrowska, „Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Organicznej”**
Wydawnictwo Uniwersytetu Jagiellońskiego 1998
- **Czarny, B. Kawalek, A. Kolasa, P. Milart, B. Rys, J. Wilamowski**
„Wprowadzenie do ćwiczeń laboratoryjnych z chemii organicznej”,
CHLASTS project, Chemical Laboratory Safety Training System, Education and
Culture Leonardo da Vinci, Fundacja Rozwoju Uniwersytetu Gdańskiego, 2005
- **P. Milart, „Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej dla studentów
biofizyki, inżynierii materiałowej, biologii z geografią oraz biologii (kurs
podstawowy)”**
oraz
- **materiałów do ćwiczeń laboratoryjnych z chemii organicznej wykorzystywanych
w Zakładzie Chemii Organicznej Wydziału Chemii UJ**

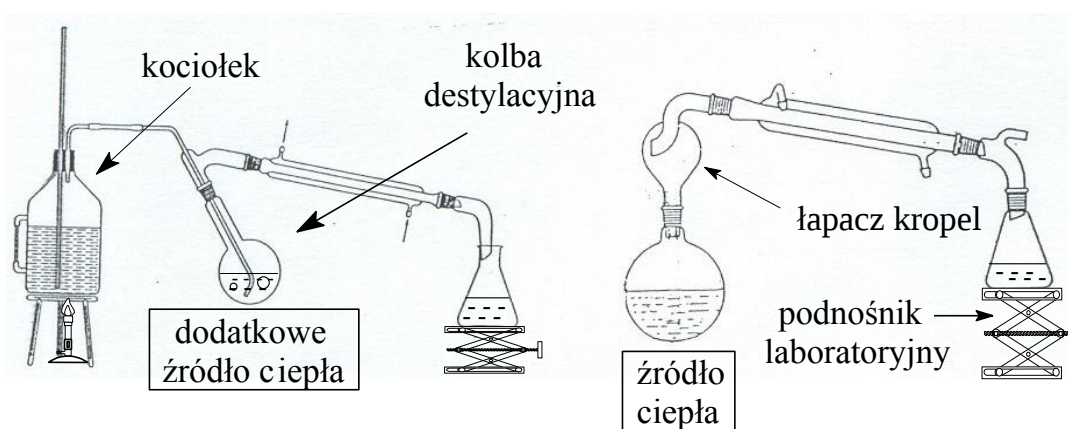
Rysunki w rozdziałach *Ekstrakcja* oraz *Chromatografia* zostały częściowo zaczerpnięte z opracowania:

P. Kreitmeier, „Einführung in die apparativen Methoden in der Organischen Chemie, Ein
Tutorial zum Organischen Praktikum als Hypertextsystem“,
Universität Regensburg
(<http://www-oc.chemie.uni-regensburg.de/OCP/methoden/methoden.PDF>)

Destylacja z parą wodną

Piotr Milart

Destylacja z parą wodną jest wygodną metodą oczyszczania substancji stałych i ciekłych, nie mieszających się z wodą, lotnych zaś z parą wodną. Opiera się ona na prawie *Daltona*, które mówi, że całkowita prężność pary nad mieszaniną niejednorodną stanowi sumę prężności par składników mieszaniny: $p = p_1 + p_2 + \dots + p_n$, niezależnie od ilościowego stosunku składników. Z tego wynika, że dopóki istnieją obie fazy ciekłe, destylat będzie miał stały skład, a temperatura wrzenia będzie niższa niż każdego ze składników osobno. Stosuje się więc tę metodę do destylacji cieczy lub ciał stałych (niskotopliwych) o wysokich temperaturach wrzenia lub do wydzielania lotnego z parą wodną składnika ze złożonych mieszanin. Przykładem takiego zastosowania może być wyodrębnianie olejków eterycznych z materiałów roślinnych. Jeśli destyluje się z parą wodną znaczne ilości substancji, to parę wodną wytwarza się i doprowadza do układu z kociołką z podgrzewaną wodą (patrz poniższy rysunek po lewej stronie), natomiast przy niewielkiej ilości destylowanej substancji wystarczy dodać do kolby z destylowaną substancją wystarczającą ilość wody i energicznie ogrzewając, prowadzić destylację poprzez łapacz kropel, co przedstawiono poniżej po prawej stronie.



Zestawy do destylacji z parą wodną

Minusem destylacji z parą wodną jest konieczność oddzielenia właściwego destylatu od wody, co w przypadku ciał stałych jest proste (odsączenie i wysuszenie) natomiast w przypadku cieczy wymaga dość pracochłonnej ekstrakcji.

Destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem służy do oczyszczania lub rozdzielania cieczy o bardzo wysokich temperaturach wrzenia (znacznie powyżej 200 °C) lub takich, które ulegają znacznemu rozkładowi przed osiągnięciem temperatury wrzenia pod ciśnieniem atmosferycznym. Poprawne i bezpieczne wykonanie „klasycznej” destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem wymaga dużego doświadczenia w pracy laboratoryjnej. Odmianą klasycznej wersji destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem jest **destylacja przy pomocy wyparki obrotowej (rotacyjnej)**. Służy ona najczęściej do szybkiego usuwania rozpuszczalnika z roztworów związków organicznych (np. po ekstrakcji rozpuszczalnikiem organicznym z fazy wodnej). Odparowanie przeprowadza się zazwyczaj pod zmniejszonym ciśnieniem uzyskanym przy pomocy pompki wodnej lub pompy membranowej. Źródłem ciepła jest łaźnia wodna z regulacją temperatury. W czasie odparowywania cieczy kolba cały czas obraca się wzdłuż swojej osi, co zapobiega przegrzewaniu się zawartości kolby (nie są konieczne kamyczki wrzenne) oraz zwiększa powierzchnię parowania. Pary cieczy są ochładzane przez bardzo sprawną chłodnicę spiralną. Mimo to, w przypadku usuwania rozpuszczalników o bardzo niskiej temperaturze wrzenia (np. eter dietylowy lub chlorek metylenu), nie zaleca się stosować obniżonego ciśnienia. Chodzi o to, aby uniknąć wciągania par rozpuszczalnika do pompy. Wówczas jednak należy pamiętać, aby kran na wyparce pozostał otwarty. Obsługa wyparki jest bardzo prosta. Kolbę destylacyjną nakłada się na szlif szklanej rury wyparki i dokładnie przymocowuje przy pomocy specjalnej spinki. Uruchamia się silnik i wtedy kolba zaczyna wirować z zadaną prędkością. W razie potrzeby włącza się pompę i przy pomocy kranu umieszczonego na wyparce reguluje się ciśnienie wewnątrz urządzenia. Szybkość destylacji kontroluje się przez dobór właściwej temperatury łaźni wodnej, głębokości zanurzenia kolby destylacyjnej w łaźni oraz stopnia obniżenia ciśnienia. Należy uważać, aby zawartość kolby nie była przerzucana do chłodnicy i odbieralnika. Po zakończeniu destylacji trzeba w pierwszej kolejności otworzyć delikatnie kran na wyparce w celu likwidacji podciśnienia. Następnie można wyłączyć pompę, zatrzymać silnik wyparki, wyłączyć dopływ wody, unieść kolbę ponad

poziom wody w łaźni wodnej i zdjąć kolbę ze szlifury rury wyparki. Z odbieralnika należy usunąć destylat. Jeżeli w czasie destylacji wyparka uległa zabrudzeniu, to trzeba ją wymyć, na przykład przez przedestylowanie większej ilości acetonu technicznego.

Ekstrakcja (z łaciny: *extraho* = wyciągam) jest to metoda wyodrębniania z mieszaniny ciał stałych lub cieczy jakiegoś składnika przy pomocy rozpuszczalnika tak dobranego, aby rozpuszczał przede wszystkim żądany związek. Chemicy stosują tę metodę do otrzymania związków naturalnych z materiału roślinnego (liści, kory itp.). Wszyscy korzystamy z tej metody np. przy parzeniu kawy.

W syntezie organicznej produkt reakcji otrzymywany jest często wraz z innymi związkami w postaci roztworu lub zawiesiny w wodzie. Podczas wytrząsania takiej mieszaniny z nie mieszającym się z wodą rozpuszczalnikiem, produkt reakcji ulega ekstrakcji i może być następnie odzyskany przez odparowanie rozpuszczalnika. Ekstrakcja związku z jednej fazy ciekłej do drugiej jest procesem ustalania się równowagi zależnym od rozpuszczalności związku w obu rozpuszczalnikach. Stosunek stężenia w jednym rozpuszczalniku do stężenia w drugim nosi nazwę współczynnika podziału i jest wielkością stałą w danej temperaturze, charakterystyczną dla danej substancji i określonej pary rozpuszczalników. Prawo to zwane prawem *Nernsta* wyraża się następującym wzorem:

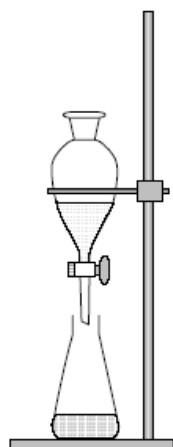
$$\frac{C_A}{C_B} = \text{constans} = K$$

gdzie: C_A i C_B stanowią stężenia substancji w warstwach A i B,
K - współczynnik podziału

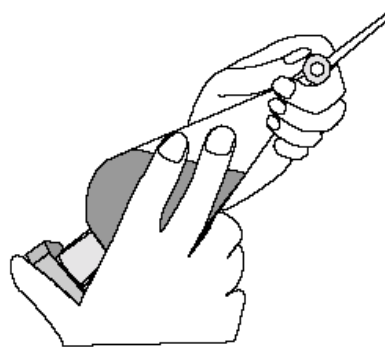
Można przyjąć, że w przybliżeniu współczynnik podziału jest równy stosunkowi rozpuszczalności danej substancji w obu rozpuszczalnikach. Związki organiczne są zwykle lepiej rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych niż w wodzie i dlatego mogą one być ekstrahowane z roztworów wodnych. Jeśli do roztworu wodnego doda się elektrolitu, np. chlorku sodu, to rozpuszczalność substancji organicznej maleje, inaczej mówiąc, substancja ulega wysalaniu. Czynniki te pomagają wyekstrahować związki organiczne.

Do ekstrakcji i rozdzielania warstw nie mieszających się ze sobą cieczy używa się rozdzielacza. Rozdzielacz umieszcza się na dogodnej wysokości w kółku na statywie. Przed użyciem zawsze należy sprawdzić, czy kran obraca się swobodnie. Wszystkie szlifowane powierzchnie smaruje się bardzo cienką warstwą specjalnego smaru. Rozdzielacza nie można napełniać więcej niż do ok. 3/4 wysokości. Należy sprawdzić, czy dolny kran jest zamknięty, a następnie wlewać, najlepiej przez lejek, roztwór wodny i pierwszą część rozpuszczalnika. Podczas wytrząsania rozdzielacz trzyma się kranem do góry, przytrzymując kran jedną ręką, a korek drugą. Natychmiast po odwróceniu rozdzielacza należy otworzyć kran w celu wyrównania ciśnienia i usunięcia powietrza. Po krótkim czasie ostrożnego wytrząsania i kilkakrotnym otwarciu kranu należy wytrząsać energicznie przez 2-3 minut. Następnie rozdzielacz należy umieścić ponownie w kółku i pozostawić, aż warstwy dokładnie się rozdziela. Wtedy dolną warstwę wylewa się po otwarciu dolnego kranu do kolby stożkowej.

Do ekstrakcji roztworów wodnych używa się rozpuszczalników o mniejszej gęstości (np. eter dietylowy) lub większej gęstości niż woda (np. chloroform lub chlorek metylenu). W pierwszym przypadku, po spuszczeniu warstwy dolnej (wodnej), należy warstwę organiczną również wylać do kolby stożkowej. Następnie warstwę wodną przenosi się ponownie do rozdzielacza i ponownie ekstrahuje nową porcją rozpuszczalnika. W przypadku stosowania rozpuszczalnika „cięższego” od wody, roztwór wodny pozostaje w rozdzielaczu i może być wytrząsany z kolejnymi porcjami rozpuszczalnika. W każdym przypadku należy upewnić się, czy warstwa wodna znajduje się na górze, czy na dole rozdzielacza. W tym celu należy zaznaczyć na rozdzielaczu granicę faz (np. pisakiem), a następnie dodać nieco wody. Zwiększy się wówczas oczywiście objętość warstwy wodnej. Poniższe rysunki przedstawiają sposób poprawnego posługiwania się rozdzielaczem.



Zamocowanie rozdzielacza
do statywu



Poprawne trzymanie rozdzielacza
podczas ekstrakcji

Po ekstrakcji roztwór organiczny jest nasycony wodą i należy go osuszyć. Do tego celu stosuje się różne sole tworzące hydraty (np. siarczan(VI) magnezu, siarczan(VI) sodu, chlorek wapnia). Roztwór pozostawia się nad środkiem suszącym przez ok. 20 min., mieszając od czasu do czasu. Następnie odsącza się środek suszący przez fałdowany sączonek i przemywa go małą ilością rozpuszczalnika. Z kolei usuwa się rozpuszczalnik, stosując wyparkę obrotową, a pozostałość poddaje się destylacji lub krystalizacji.

Celem niniejszego ćwiczenia jest wyodrębnienie z wysuszonego i sproszkowanego materiału roślinnego olejku eterycznego: goździkowego, pomarańczowego albo anyżowego.

Olejki eteryczne wyodrębniane z materiałów roślinnych stanowią zazwyczaj złożone mieszaniny różnorodnych substancji (węglowodórów, ketonów, aldehydów, alkoholi, estrów). Niektóre rośliny wytwarzają jednak olejki eteryczne szczególnie bogate w jeden określony składnik, który warunkuje charakterystyczny aromat przypraw takich jak np. goździki, kminek, wanilia. Olejki eteryczne są wykorzystywane w przemyśle kosmetycznym, spożywczym, farmaceutycznym i innych.

Olejek goździkowy

Destylacja z parą wodną z zastosowaniem kociołka

Część doświadczalna

Odczynniki:

suszone goździki 5,0 g
chlorek metylenu 20 cm³
siarczan(VI) magnezu
płytki do TLC pokryta SiO₂
chloroform

Sprzęt laboratoryjny:

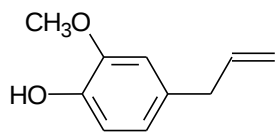
kolba okrągłodenna ze szlifem 250 cm³
kociołek do wytwarzania pary wodnej
nasadka do destylacji z parą wodną
chłodnica wodna
2 kolby stożkowe
rozdzielacz
lejek szklany
moździerz
komora chromatograficzna, kapilary

W kolbie o pojemności 250 cm³ połączonej poprzez nasadkę do destylacji z parą wodną z kociołkiem i z chłodnicą umieszcza się 5 g starannie utartych w moździerzu goździków (*Eugenia caryophyllata*) i 150 cm³ wody. Wodę w kociołku oraz zawartość kolby ogrzewa się energicznie, prowadząc destylację z parą wodną. Po zebraniu ok. 100 cm³ destylatu proces można zakończyć.

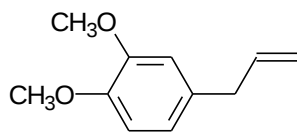
Ekstrakcja

Otrzymany destylat przenosi się do rozdzielacza i ekstrahuje dwukrotnie chlorkiem metylenu (porcjami po ok. 10 cm³). Zebrane frakcje organiczne suszy się nad bezwodnym siarczanem(VI) magnezu, a po jego odsączeniu odparowuje rozpuszczalnik na wyparce obrotowej. W kolbie pozostaje tzw. olejek goździkowy, którego głównym składnikiem jest eugenol [2-metoksy-4-(2-propenyl)fenol]. Olejek waży się i oblicza

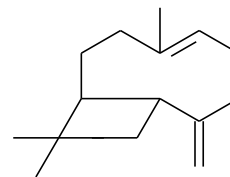
wydajność procesu. Głównym składnikiem olejku są: 70-96% eugenol, 2-17% piment i seskwiterpeny np. kariofilen¹. Czystość olejku sprawdza się przy pomocy chromatografii cienkowarstwowej (TLC).



eugenol



piment



β - kariofilen

TLC olejku goździkowego (przed wykonaniem chromatografii należy zapoznać się z materiałem zawartym we wstępie rozdziału 2 (CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA)).

Otrzymany w ćwiczeniu olejek goździkowy poddaje się próbie na obecność eugenolu z wykorzystaniem chromatografii cienkowarstwowej. Eugenol identyfikuje się stosując TLC w układzie $\text{SiO}_2/\text{CHCl}_3$. Należy nanieść na płytkę próbkę otrzymanego olejku rozpuszczonego w chloroformie (**Uwaga:** roztwór ten musi być bardzo rozcieńczony) i roztwór wzorcowy eugenolu. Położenie plamek obserwuje się pod lampą UV i zaznacza na płytce ołówkiem.

1. „Chromatografia i mikroskopowa analiza surowców roślinnych. Praktyczne uzupełnienie do europejskich farmakopei”; Egon Stahl, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1973.

Krystalizacja

Bożena Kawalek, Sławomir Lis

Stałe związki organiczne otrzymywane podczas syntezy są zazwyczaj zanieczyszczone ubocznymi produktami reakcji chemicznych. Oczyszcza się je najczęściej przez krystalizację z odpowiednio dobranego rozpuszczalnika lub mieszaniny rozpuszczalników. Krystalizacja wykorzystuje różnicę rozpuszczalności związków i zanieczyszczeń w dobranym rozpuszczalniku lub w mieszaninie rozpuszczalników. Na proces krystalizacji składa się kilka etapów:

- rozpuszczenie oczyszczanej substancji w wybranym rozpuszczalniku w temperaturze wrzenia,
- przesączenie gorącego roztworu przez sączełk fałdowany celem oddzielenia zanieczyszczeń nierozpuszczalnych lub słabo rozpuszczalnych,
- pozostawienie przesącza do oziębienia,
- oddzielenie kryształów przez odsączenie na lejku Büchnera.

W procesie krystalizacji bardzo ważną rolę odgrywa odpowiedni dobór rozpuszczalnika, który powinien spełniać następujące warunki:

- powinien posiadać dużą zdolność rozpuszczania krystalizowanej substancji na gorąco, a niewielkiej w temperaturze pokojowej lub poniżej tej temperatury,
- powinien rozpuszczać zanieczyszczenia bardzo dobrze lub w bardzo małym stopniu,
- powinien być łatwy do usunięcia, tani oraz możliwie nietoksyczny,
- rozpuszczalnik nie może reagować z oczyszczanym związkiem.

Rozpuszczalność związków organicznych zależy od względnej polarności rozpuszczalnika i substancji rozpuszczonej oraz od energii rozrywania sieci krystalicznej.

Związki najlepiej rozpuszczają się w rozpuszczalnikach o podobnej budowie. Te związki, w których główną część stanowią grupy polarne (szczególnie -OH, -NH₂, -COOH lub -CONH-) są zazwyczaj lepiej rozpuszczalne w rozpuszczalnikach o wyższej polarności, takich jak woda, alkohole czy kwas octowy, niż w węglowodorach, takich jak benzen czy heksan. I odwrotnie, te ostatnie są dobrymi rozpuszczalnikami dla związków o średniej lub małej polarności.

Kryterium czystości danego związku stanowi jego temperatura topnienia, która nie zmienia się po kolejnych krystalizacjach. Temperaturę topnienia ciała stałego oznacza się umieszczając niewielką ilość sproszkowanej substancji w cienkościennej, jednostronnie zatopionej szklanej kapilarze, przymocowanej do termometru umieszczonego w aparacie Thielego. Aparat ten, wypełniony olejem, ogrzewa się palnikiem i obserwuje kiedy w kapilarze pojawi się menisk. Niektóre substancje organiczne ulegają podczas ogrzewania rozkładowi (wydzielanie pęcherzyków gazu, zmiana barwy). Temperaturę topnienia można również oznaczać umieszczając termometr i kapilarę w tzw. kriometrze (metalowy blok z regulowanym ogrzewaniem elektrycznym). Dla dokładności oznaczenia w pobliżu temperatury topnienia szybkość ogrzewania nie powinna przekraczać 2-3° C/min. Jeszcze dokładniejsze oznaczenie temperatury topnienia można uzyskać stosując mikroskop z ogrzewaną podstawą (aparat Betiusa), na której umieszcza się kryształki substancji. Związek zanieczyszczony ma zwykle niższą temperaturę topnienia niż substancja czysta.

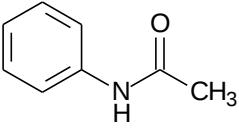
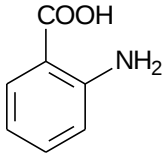
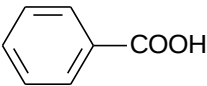
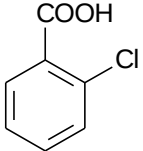
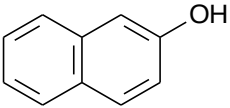
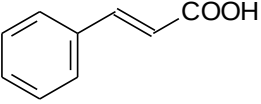
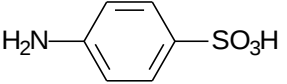
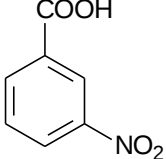
Krystalizacja z wody

Przed przystąpieniem do krystalizacji należy oznaczyć temperaturę topnienia otrzymanego związku. Następnie substancję (2,0 g) umieszcza się w kolbie Erlenmeyera o poj. 250 cm³ i dodaje niewielką ilość wody. Mieszaninę ogrzewa się do wrzenia z dodatkiem kamyczków wrzennych (ułatwiają wrzenie, zapobiegają przegrzewaniu się mieszaniny). Gdyby osad nie rozpuścił się całkowicie, dodaje się porcjami wodę doprowadzając każdorazowo mieszaninę do wrzenia aż do otrzymania klarownego roztworu. Do gorącego roztworu dodaje się ostrożnie, aby uniknąć nadmiernego pienienia, ok. 1 g węgla aktywnego i ogrzewa roztwór do wrzenia jeszcze przez kilka minut. Gorący roztwór sączy się przez fałdowany sączełk do kolby stożkowej i pozostawia do krystalizacji.

Szybkie oziębienie roztworu powoduje przesylenie roztworu i wydzielanie się dużej ilości drobnych kryształków. Kryształy takie posiadają dużo większą powierzchnię, w porównaniu z grubokrystalicznym osadem, a co za tym idzie wykazują większą adsorpcję zanieczyszczeń na swojej powierzchni. Wskazane jest więc powolne chłodzenie roztworu w celu otrzymania dużych kryształów. Jeżeli wydzielanie kryształów mimo oziębienia roztworu zachodzi bardzo trudno, przyspiesza się krystalizację przez dodawanie zarodków krystalizacji w postaci czystego związku lub pociera się ścianki naczynia szklaną pałeczką.

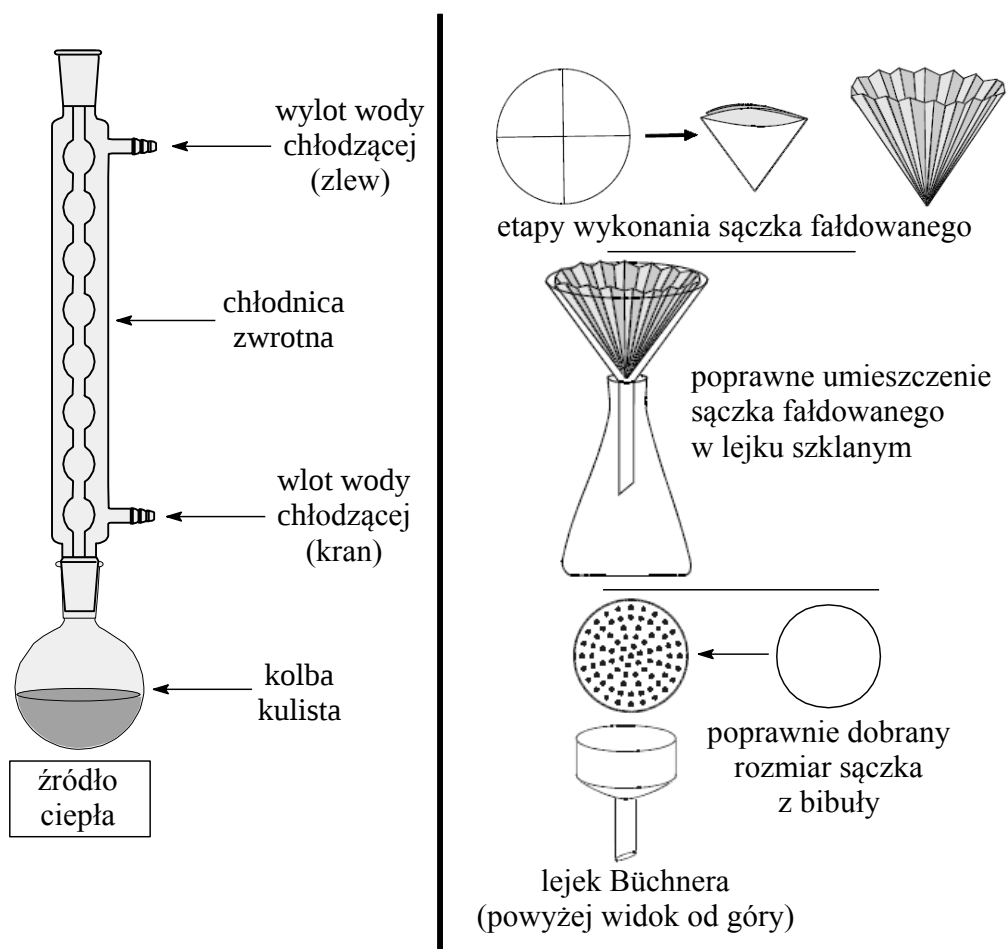
Wykryształizowany związek oddziela się od roztworu przez odsączenie pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera. Osad przemywa się jeszcze czystym, ochłodzonym rozpuszczalnikiem a następnie przenosi się go na bibułę lub szkiełko zegarkowe i pozostawia do wysuszenia. Wysuszony osad waży się i oblicza wydajność krystalizacji. Oznacza się temperaturę topnienia związku i porównuje z temperaturą topnienia związku przed krystalizacją.

Związki do krystalizacji z wody:

Nazwa	Wzór strukturalny	Temperatura topnienia (t.t.)
acetanilid		t.t. = 114 °C
kw酸 antranilowy		t.t. = 144 - 6 °C
kw酸 benzoesowy		t.t. = 122 °C
kw酸 o-chlorobenzoesowy		t.t. = 139 °C
2-naftol		t.t. = 123 °C
kw酸 trans-cynamonowy		t.t. = 131-136 °C
kw酸 sulfanilowy		t.t. = 288 °C rozkład
kw酸 m-nitrobenzoesowy		t.t. = 141 °C

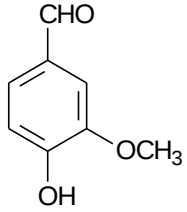
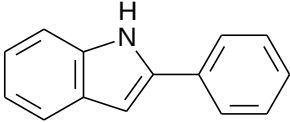
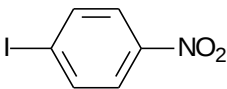
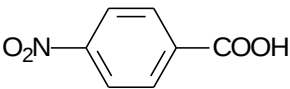
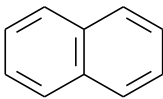
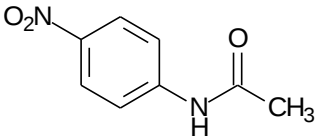
Krystalizacja z rozpuszczalnika palnego (etanolu)

Okolo 2,0 g substancji umieszcza się w kolbie okrągłodennej o pojemności 100 cm³, dodaje się niewielką ilość rozpuszczalnika oraz kamyki wrzenne. Kolbę zaopatruje się w chłodnicę zwrotną i ogrzewa do wrzenia na płaszczu grzejnym, aż do rozpuszczenia osadu. Następnie gorący roztwór sący się przez fałdowany sącdek i pozostawia do krystalizacji. Osad, po odsączeniu na lejku Büchnera, suszy się i waży. Oblicza się wydajność procesu krystalizacji i oznacza temperaturę topnienia substancji.



Związki do krystalizacji z etanolu:

Nazwa	Wzór strukturalny	Temperatura topnienia (t.t.)
benzanilid	<chem>CC(=O)Nc1ccccc1</chem>	t.t. = 163 °C
benzoesan 2-naftyłu	<chem>O=C(Oc1cccc2ccccc12)c3ccccc3</chem>	t.t. = 110 °C
benzoina	<chem>O=C(Oc1ccccc1)c2ccccc2</chem>	t.t. = 137 °C
bifenyl	<chem>c1ccccc1-c2ccccc2</chem>	t.t. = 70 °C

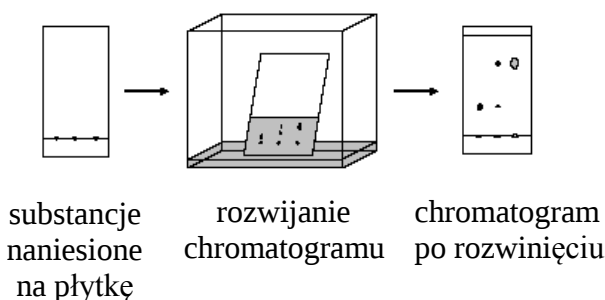
wanilina		t.t. = 82 °C
2-fenyloindol		t.t. = 188-9 °C
<i>p</i> -jodonitrobenzen		t.t. = 171 °C
kwasy <i>p</i> -nitrobenzoesowy		t.t. = 240 °C
naftalen		t.t. = 80 °C
<i>p</i> -nitroacetanilid		t.t. = 214 °C

Chromatografia cienkowarstwowa

Bożena Kawalek

Chromatografia jest metodą rozdzielania polegającą na zróżnicowanym podziale składników mieszaniny pomiędzy dużą objętościowo fazę ruchomą (ciecz lub gaz) i fazę stacjonarną (ciało stałe lub ciecz). W wyniku kombinacji tych faz opracowano odpowiednie metody chromatograficzne.

W chromatografii cienkowarstwowej (TLC - Thin Layer Chromatography) fazę stacjonarną stanowi cienka warstwa adsorbenta (tlenek glinu, żel krzemionkowy, celuloza) naniesiona na płytkę szklaną, lub aluminiową folię. Wymienione materiały mają silnie rozwiniętą powierzchnię, na której w drodze kolejnych adsorpcji i desorpcji, następuje wymiana cząsteczek między ciałem stałym, a cieczą przepływającą nad powierzchnią ciała stałego. Niekiedy wymiana między fazami może polegać na podziale między ciekłą fazą organiczną, a wodą, która w niewielkich ilościach znajduje się na nośniku. Sposób postępowania w analitycznej chromatografii cienkowarstwowej jest prosty. Na powierzchnię małej płytki pokrytej cienką warstwą adsorbenta nanosi się kapilarą kroplę badanej mieszaniny w odległości ok. 1 cm od brzegu płytki, następnie płytkę zanurza się tym końcem w komorze chromatograficznej - zamkniętym naczyniu wyłożonym bibułą, zawierającym na dnie eluent. Rozpuszczalnik wskutek działania sił kapilarnych w warstwie adsorbenta, podnosi się w górę płytki a wraz z nim wędrują na różną wysokość składniki mieszaniny. Jeśli rozdział dotyczy substancji barwnych, ich plamki na chromatogramie są łatwo widoczne. W przypadku substancji bezbarwnych płytkę z rozwiniętym chromatogramem poddaje się działaniu odpowiedniego wywoływacza np. par jodu.

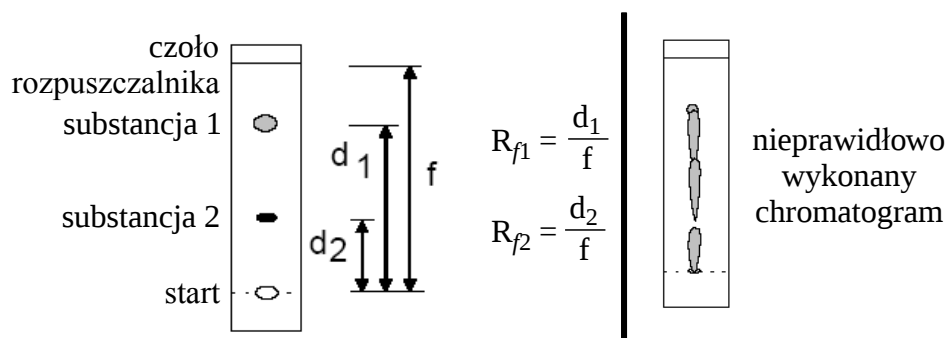


Suchą płytkę umieszcza się w zamkniętym naczyniu zawierającym na dnie kryształki jodu. Na płytce pojawiają się brązowe plamy składników mieszaniny, które należy zaznaczyć tuż po wyjęciu płytki, gdyż wskutek parowania jodu, plamy znikają na powietrzu.

Inny sposób wywołania chromatogramu polega na spryskaniu płytki stężonym kwasem siarkowym, który powoduje zwęglenie substancji organicznych. Pozycje związków bezbarwnych, fluoryzujących pod wpływem promieniowania nadfioletowego, można określić umieszczając płytkę w świetle odpowiedniej lampy.

Wielkością charakteryzującą położenie plamki na chromatogramie jest współczynnik R_f obliczany następująco:

$$R_f = \frac{\text{odległość przebyta przez substancję}}{\text{odległość przebyta przez czoło rozpuszczalnika}}$$



Na współczynnik R_f mają wpływ: rodzaj eluenta, aktywność i struktura adsorbenta, nasycenie komory parami rozpuszczalnika, temperatura. Jeśli więc stosujemy chromatografię cienkowarstwową w celu identyfikacji związku, należy nanieść na tę samą płytkę substancję wzorcową.

Chromatografię cienkowarstwową stosuje się ponadto do określania ilości składników mieszaniny, kontroli czystości związku oraz jako próbę wstępną przy doborze warunków do chromatografii kolumnowej.

TLC barwników roślinnych

Celem ćwiczenia jest potwierdzenie przydatności chromatografii cienkowarstwowej do rozdzielenia barwników roślinnych zawartych w liściach pietruszki.

Barwniki roślinne odgrywają poważną rolę w metabolizmie organizmów żywych. Do najbardziej rozpowszechnionych należą związki z grupy chlorofilu i karotenoidów, biorące udział między innymi w procesie fotosyntezy.

Chlorofil jest magnezoporfiryną zawierającą układ złożony z czterech pierścieni pirolowych połączonych wiązaniami α -metinowymi. Chlorofil *a* barwy żółto-zielonej różni się chemicznie od chlorofilu *b* tym, że w miejsce jednej grupy metylowej w pozycji C_3 chlorofilu *a* wchodzi grupa aldehydowa. Chlorofil *a* i *b* mają po dwa kwasowe łańcuchy boczne, przy czym jeden z nich zestryfikowany jest alkoholem metylowym, a drugi tworzy ester z fitolem ($C_{20}H_{39}OH$). Fitol jest alkoholem o długim łańcuchu, zbudowanym z czterech jednostek izoprenowych. Charakterystyczną cechą fizyczną chlorofilu jest ich silna czerwona fluorescencja.

Karotenoidy tworzą grupę około 100 naturalnych barwników światła roślinnego, żółtych, pomarańczowych i czerwonych. Wspólną ich cechą jest rozpuszczalność w tłuszczach i w rozpuszczalnikach tłuszczowych. Są to związki wysoko nienasycone posiadające 40 atomów węgla, zbudowane z ośmiu połączonych ze sobą reszt izoprenoidowych. Wszystkie karotenoidy posiadają układ sprzężonych wiązań podwójnych w łańcuchu węglowym, które są skłonne do tworzenia izomerów geometrycznych *cis* i *trans*.

Przygotowanie wyciągu z liści pietruszki

Około 20.0 g liści pietruszki wsypać do moździerza i uciera się z 15 cm³ mieszaniny aceton - eter naftowy (1:1) przez około 5 min. Ekstrakt przesącza się przez sączek fałdowany. W przypadku pojawienia się warstwy wodnej, ekstrakt należy przelać do małego rozdzielacza i oddzielić warstwę organiczną. Ciemnozieloną warstwę organiczną suszy się nad siarczanem magnezu. Po oddzieleniu środka suszącego odparowuje się mieszaninę do małej objętości (około 2 cm³).

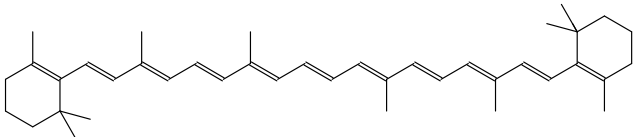
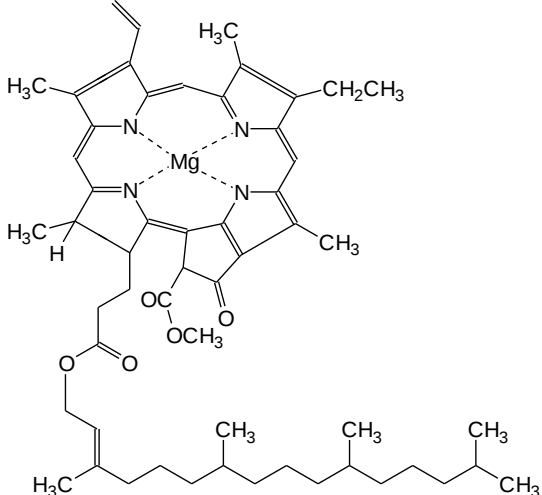
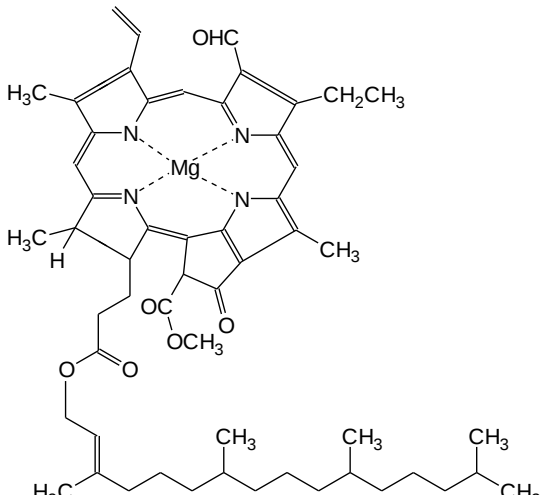
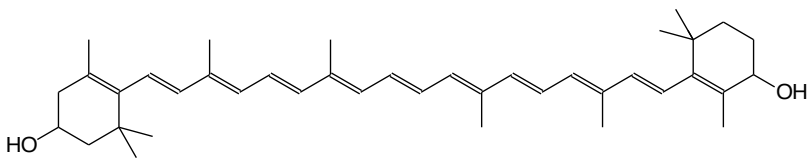
Wykonanie oznaczenia

Na gotową płytkę o wymiarach szkiełka mikroskopowego pokrytą żelem krzemionkowym nanieść punktowo kapilarą 3 plamki w odległości ok. 0,5 cm od brzegu i ok. 1 cm od dołu płytki. Przygotować komorę do rozwijania (zamknięty słoik wyłożony bibułą) zawierającą eluent, czyli eter naftowy - alkohol etylowy bezwodny - toluen (40:4,5:15) do wysokości 0,5 cm. Następnie umieścić płytkę w komorze i rozwinąć chromatogram. Gdy czoło rozpuszczalnika znajdzie się w odległości 1 cm od górnej krawędzi płytki, należy ją wyjąć, zaznaczyć czoło rozpuszczalnika i po wysuszeniu obliczyć R_f dla poszczególnych barwnych plamek.

R_f barwników roślinnych dla układu eter naftowy - alkohol etylowy bezw. - toluen (40:4,5:15) wynoszą odpowiednio:

karoten	0,88
chlorofil <i>a</i>	0,62
chlorofil <i>b</i>	0,58
ksantofile	0,00-0,47

Na chromatogramie mogą pojawić się barwne plamy produktów degradacji chlorofilu.

Nazwa	Wzór strukturalny
β - β -karoten	
Chlorofil <i>a</i>	
Chlorofil <i>b</i>	
Ksantofil Luteina	

Chromatografia kolumnowa

Bożena Kawalek

W chromatografii kolumnowej podział między stały adsorbent i rozpuszczalnik pozwala na rozdzielenie i wyodrębnienie składników mieszaniny. Adsorbent umieszcza się w pionowej kolumnie zaopatrzonej w kran. Po rozpuszczeniu próbki w małej ilości roztworu i zaadsorbowaniu jej na górze kolumny, przez kolumnę przepuszcza się rozpuszczalnik. W tym czasie chromatogram rozwija się na pasma zawierające poszczególne związki. Następnie pasma te wymywa się kolejno dalszą ilością rozpuszczalnika.

Adsorbenty stosowane w chromatografii muszą spełniać pewne wymagania. A mianowicie: muszą wykazywać odpowiednią selektywność i aktywność oraz nie mogą reagować z substancjami rozdzielanymi. Ogólnie można je podzielić na dwie grupy: polarne i niepolarne. Adsorbenty polarne wykazują zmiany aktywności w zależności od zawartości w nich wody. Są to przede wszystkim tlenek glinu i żel krzemionkowy. Poza tym są używane tlenki, siarczany i fosforany metali ziem alkalicznych. Cechą adsorbentów niepolarnych (węgiel aktywny, celuloza, skrobia) jest silne wiązanie rozpuszczalników węglowodorowych.

Na adsorbentach polarnych dobrze adsorbują się związki o charakterze polarnym, natomiast w przypadku adsorbentów niepolarnych adsorpcja związków zależy od wielkości cząsteczek i od długości łańcuchów węglowych. Na tej podstawie można sformułować regułę, że związki chemiczne adsorbują się tym łatwiej na adsorbencie, im bardziej zbliżona jest ich wzajemna polarność.

Dla uzyskania dobrego rozdziału mieszaniny związków obok właściwego adsorbenta bardzo ważny jest dobór odpowiedniego eluenta. Zaadsorbowana substancja może zostać wyparta z adsorbenta przez rozpuszczalnik tylko wtedy, gdy wykazuje on większe od niej powinowactwo do tego adsorbenta. Rozpuszczalniki można zestawiać w szereg eluotropowy według ich wzrastającej polarności a co za tym idzie zdolności eluowania adsorbowanej substancji z powierzchni adsorbenta.

Szereg eluotropowy rozpuszczalników wg Trapego

1. eter naftowy	9. eter dietylowy
2. cykloheksan	10. octan etylu
3. tetrachlorek węgla	11. aceton
4. trichloroetylen	12. n-propanol
5. toluen	13. etanol
6. benzen	14. metanol
7. dichlorometan	15. woda
8. chloroform	16. pirydyna

Kolejność z jaką składniki mieszaniny są wymywane z kolumny zależy od ich względnych polarności. Tak więc w przypadku mieszaniny składającej się na przykład z węglowodoru i ketonu osiąga się ich rozdział dzięki temu, że bardziej polarny keton silniej adsorbuje się na powierzchni adsorbenta, w związku z czym węglowódor można wyeluować niepolarnym rozpuszczalnikiem; następnie eluuje się keton zmieniając rozpuszczalnik na polarny. Często stosuje się jako eluent mieszaniny dwóch lub więcej rozpuszczalników.

Proces rozwijania chromatogramu trwa do momentu powstania w kolumnie wyraźnych pasm. W przypadku rozdziału substancji barwnych obserwacja jest prosta, natomiast gdy rozdzielane substancje są bezbarwne, stosuje się obserwację kolumny w świetle ultrafioletowym bądź bada wyciek z kolumny. W tym celu zbiera się stosunkowo małe frakcje i określa się ich zawartość metodą chromatografii cienkowsarstowej lub po odparowaniu rozpuszczalnika analizuje pozostałość (temp. topnienia, analiza widmowa).

Rozdział mieszaniny barwników roślinnych za pomocą chromatografii kolumnowej

Przygotowanie roztworów:

- eter naftowy-aceton (9:1) 60 cm³
- eter naftowy-aceton (7:3) 20 cm³
- aceton 20 cm³

Przygotowanie kolumny

Warunkiem uzyskania dobrych wyników chromatografii jest jednorodne wypełnienie kolumny adsorbentem. W nierówno wypełnionej kolumnie tworzą się szczeliny i kanaliki, co prowadzi do deformacji pasm adsorpcji.

Jeżeli kolumna nie posiada krążka ze szkła porowatego umieszcza się na dnie niewielką ilość waty i jednocentymetrową warstwę piasku. W zlewce o poj. 10 cm³ sporządza się papkę z 4.0 g żelu krzemionkowego i mieszaniny rozpuszczalników eter naftowy-aceton (9:1) 6 cm³. Papkę wlewa się przez lejek do kolumny. Po odczekaniu aż adsorbent osiadzie, spuszcza się dołem kolumny nadmiar rozpuszczalnika. Po osadzeniu się adsorbentu ostukuje się delikatnie kolumnę aż ułoży się on w jednolitą, dość zwartą warstwę. Zarówno podczas napełniania kolumny, jak i w czasie rozwijania chromatogramu powierzchnia adsorbentu musi być zawsze przykryta rozpuszczalnikiem. Wysuszenie wierzchniej części kolumny powoduje powstanie w niej kanalików, co znacznie zmniejsza sprawność kolumny. Po naniesieniu adsorbentu nasypuje się na wierzch cienką warstwę piasku i spuszcza rozpuszczalnik z kolumny do wysokości 0.5 cm nad powierzchnią piasku.

Rozwijanie chromatogramu

Ekstrakt mieszaniny barwników roślinnych (2 cm³) wlewa się do kolumny, tak aby nie zaburzyć powierzchni adsorbentu. Następnie otwiera się kran i czeka, aż próbka zostanie całkowicie zaadsorbowana. Po czym nalewa się eluent eter naftowy-aceton (9:1) 1 cm³ do kolumny i ponownie czeka się, aż eluent zostanie zaadsorbowany. Czynność powtarza się aż do otrzymania bezbarwnej klarownej warstwy eluentu nad powierzchnią adsorbentu. Następnie dodaje się małymi porcjami eluent zbierając oddzielnie bezbarwną i pomarańczową frakcję. Po czym zmienia się eluent na eter naftowy-aceton (7:3) 20 cm³ zbierając oddzielnie frakcje: szaro-zieloną, ciemno zieloną oraz zielono-żółtą. Po zebraniu frakcji chlorofili acetonem wymywa się ksantofile. Otrzymane frakcje poddaje się chromatografii TLC w celu identyfikacji barwników.

Destylacja

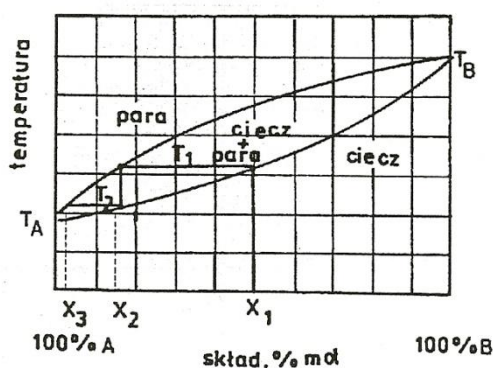
Maria Burgiel

Jest to metoda rozdzielania ciekłych układów wieloskładnikowych oparta na różnej lotności poszczególnych składników. Polega ona na odparowaniu najbardziej lotnego w danych warunkach ciśnienia i temperatury składnika, następnie na skropleniu par i zebraniu skroplonej cieczy (destylatu) w innym naczyniu. Rozróżnia się dwa zasadnicze typy destylacji, destylację prostą i destylację frakcjonowaną. W destylacji prostej, pary cieczy poddaje się skropleniu przez bezpośrednie oziębianie, co pozwala z reguły tylko na zagęszczenie składników mieszaniny w poszczególnych frakcjach destylatu. W destylacji frakcjonowanej pary z nad destylowanej cieczy pozostają w kolumnie w kontakcie z cieczą już wzbogaconą w składniki o większej lotności. W wyniku wymiany między tymi fazami następuje lepsze rozdzielanie mieszaniny.

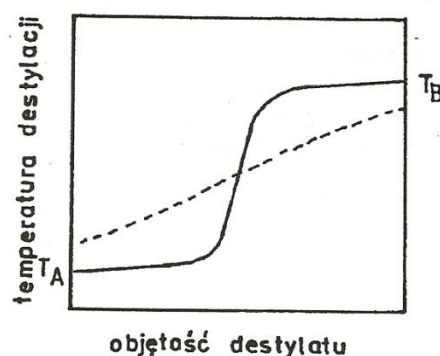
Podczas ogrzewania cieczy, prężność pary wzrasta, aż do momentu gdy staje się równa ciśnieniu atmosferycznemu i rozpoczyna się wrzenie, czyli temperatura wrzenia cieczy jest to temperatura, w której prężność par cieczy jest równa ciśnieniu atmosferycznemu w dowolnym punkcie na powierzchni fazy ciekłej.

W czasie destylacji cieczy, pary z kolby destylacyjnej podnoszą się do góry i ulegają częściowemu skropleniu, aż do osiągnięcia równowagi termicznej. Odczytywana wtedy temperatura jest temperaturą wrzenia i pozostaje stała tak długo, jak długo istnieją obie fazy ciekła i gazowa.

Gdy destylujemy dwie mieszające się w każdym stosunku cieczy, zachodzi proces, który można przedstawić następującym wykresem równowagi fazowej ciecz - para.



Rys. 1. Wykres fazowy dla układu ciecz - para



Rys. 2. Krzywa destylacji

Symbole T_A i T_B oznaczają temperatury wrzenia czystych związków A i B. Krzywe te niezależnie od temperatury i ciśnienia nie pokrywają się i skład pary w stanie równowagi różni się od składu cieczy. Gdy równomolową mieszaninę substancji A i B, której skład przedstawia punkt X_1 ogrzeje się do temperatury T_1 , powstające pary będą miały skład X_2 i będą bogatsze w niższy wrzący składnik.

Jeśli część par zostanie odprowadzona z układu, to punkt przedstawiający na wykresie skład cieczy przesunie się na prawo, to znaczy, że ze względu wartość składnika B w mieszaninie zwiększy się, a temperatura zostanie podwyższona. W wyniku dalszej destylacji mieszaniny otrzyma się destylat stopniowo bogatszy w składnik B, ale wszystkie frakcje będą zawierały oba składniki. W rezultacie, podczas destylacji prostej mieszaniny dwóch cieczy, których temperatury wrzenia różnią się mniej niż o 50°C nie uzyska się rozdzielania, a temperatura w czasie destylacji będzie stale wzrastała (linia przerywana rys. 2).

Efektywność rozdzielania cieczy drogą destylacji można zwiększyć, jeśli parę o składzie X_2

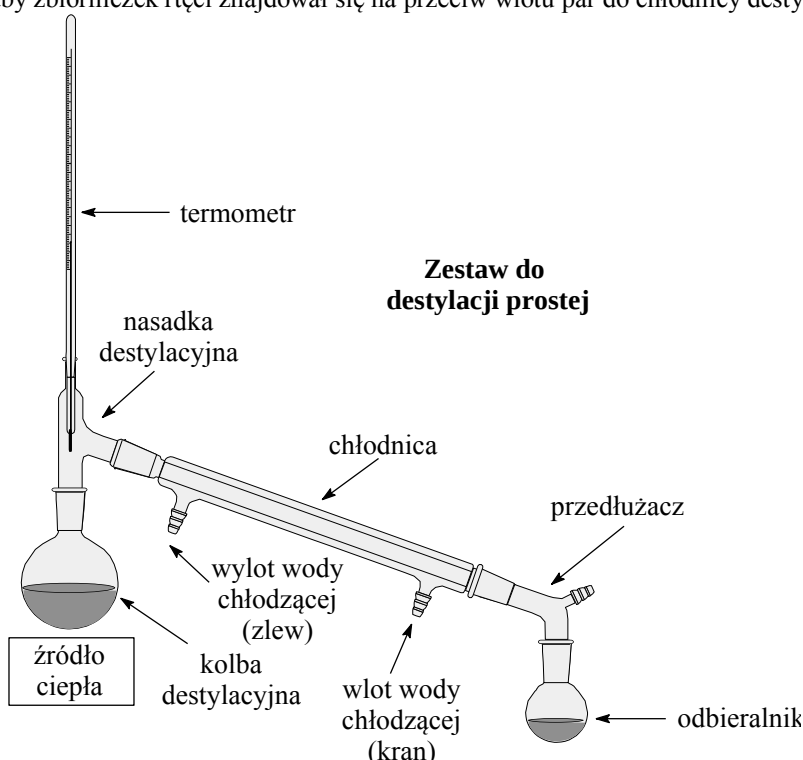
(rys. 1) skroplić, a powstałą ciecz ponownie ogrzewając doprowadzić do stanu równowagi z fazą gazową. Tym razem pary będą miały skład X_B i będą jeszcze bardziej wzbogacone w niższy wrzący składnik A. Powtarzając ten proces wielokrotnie można otrzymać końcowy destylat będący prawie czystym składnikiem A. Proces ten nazywa się destylacją frakcyjną i prowadzi się go w kolumnie destylacyjnej (deflegmatorze), w której na dużej powierzchni zachodzi wielokrotna wymiana między fazą ciekłą i gazową. Dużą powierzchnię w małej objętości uzyskuje się wypełniając kolumnę metalowymi pierścieniami, lub szklanymi kulkami, albo w deflegmatorach typu Vigreux - z naprzemiennymi wgłębieniami. Destylacja frakcjonowana prowadzona powoli na wydajnej

kolumnie przebiega w sposób przedstawiony linią ciągłą na rys. 2. Frakcje zbierane przy stałej temperaturze są praktycznie czystymi składnikami wyjściowej mieszaniny.

Aparatura do destylacji składa się z następujących elementów:

- kolby okrągłodennej,
- chłodnicy destylacyjnej,
- termometru,
- odbieralnika,
- deflegmatora (w destylacji frakcjonowanej).
- płaszcza grzejącego

Kolbę destylacyjną zawierającą 30 cm³ mieszaniny metanolu (t.w._{lit} = 64,7 °C) i 1-butanolu (t.w._{lit} = 117,7 °C) razem z kamyczkiem wrzennym umieszcza się na płytce grzewczej (płaszcz grzejny, łaźnia wodna). Montuje się chłodnicę destylacyjną. Podłącza się ją do wody w taki sposób, żeby woda wpływała niższym, a wypływała wyższym odpływem. Na końcu chłodnicy umieszcza się odbieralnik. Może to być kolba stożkowa, kolba okrągłodenna, lub butelkę ze szlifem. W zasadzie nie powinno się używać zlewki. Termometr umieszcza się w ten sposób, aby zbiorniczek rtęci znajdował się na przeciw wlotu par do chłodnicy destylacyjnej (rys. 3).



Szlify w zestawionej aparaturze można posmarować bardzo cienką warstwą smaru. Nadmiar smaru zanieczyszcza destylowaną ciecz. Istotną sprawą jest dobór odpowiedniego rozmiaru kolby destylacyjnej. Przy rozpoczęciu destylacji kolba nie powinna być napełniona więcej niż do dwóch trzecich objętości. Dodanie kamyczka wrzennego ma na celu zapewnienie równomiernego wrzenia, ułatwia bowiem powstanie pęcherzyków pary. Bez kamyczka wrzennego następuje przegrzewanie cieczy i rzucanie. Jeśli zapomnieliś o kamyczku wrzennym, a ciecz jest już gorąca i prawdopodobnie przegrzana, przed dodaniem kamyczka wrzennego trzeba ciecz ochłodzić, w przeciwnym razie może nastąpić wyrzucenie cieczy.

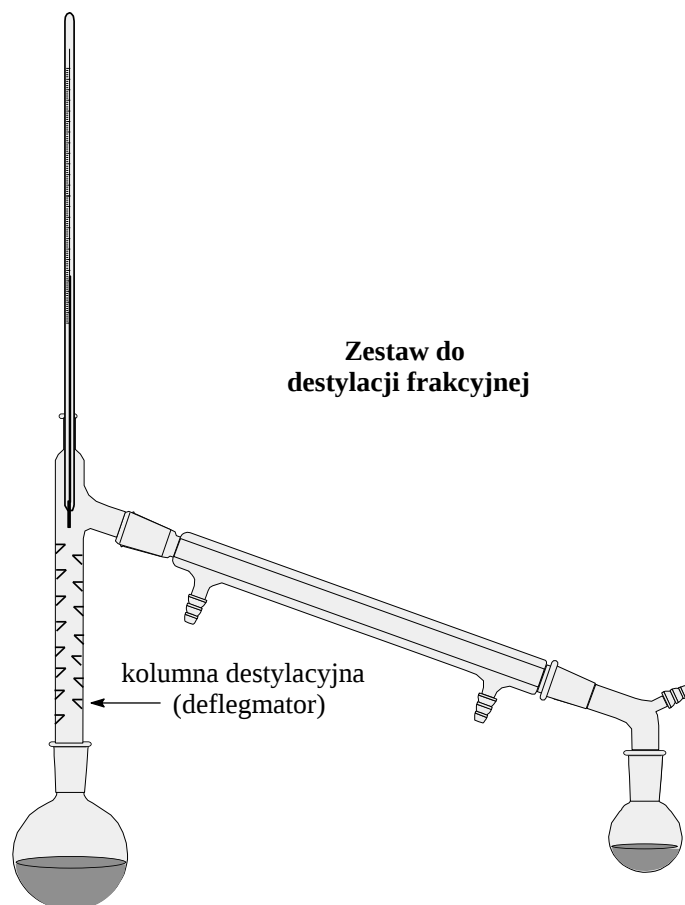
Uwaga: Kamyczki wrzenne są jednorazowe i po każdym przerwaniu wrzenia należy dodać świeży kawałek porowatej porcelany o średnicy do 4 mm.

Po rozpoczęciu wrzenia, w kolbie można zauważyć pierścień skraplającej się pary podnoszący się w kolbie i nasadce chłodnicy destylacyjnej. Termometr zaczyna wskazywać wzrost temperatury aż do chwili, gdy zacznie się destylacja.

Ogrzewanie należy uregulować tak, aby szybkość destylacji wynosiła 1 kroplę na sekundę. Przy zbyt intensywnym ogrzewaniu duża ilość destylatu przechodzi jako niżej wrzący przedgon. Jeśli destylacja jest zbyt wolna można, z powodu strat ciepła, nie zaobserwować prawdziwej temperatury wrzenia.

Uwaga: Nigdy nie należy destylować substancji "do sucha", czyli do całkowitego opróżnienia kolby destylacyjnej..

Destylację prostą prowadzi się w aparaturze przedstawionej na rys. 3, a destylację frakcjonowaną w aparaturze pokazanej na rys. 4. Ogrzewanie w czasie destylacji frakcjonowanej reguluje się tak, aby wypełnienie kolumny na całej długości było zwilżone kondensatem i aby nie tworzyły się "korki" cieczy. Dłuższe kolumny ogrzewa się zewnątrz aby uniknąć strat ciepła, lub można je owinać kocem szklanym.



Rys. 4. Zestaw do destylacji frakcyjnej z kolumną Vigreux

Ćwiczenie - destylacja prosta.

Zestawiamy aparaturę przedstawioną na rys. 3. Do kolby destylacyjnej wlewamy 30 cm^3 mieszaniny metanolu i 1-butanolu. Kolbę ogrzewamy na płaszczu grzejnym i oddestylowujemy ok. 28 cm^3 mieszaniny z szybkością $2\text{ cm}^3/\text{minutę}$. Notujemy temperaturę wrzenia na początku i temperaturę wrzenia po odebraniu każdych 2 cm^3 destylatu.

Destylacja frakcjonowana.

Montujemy aparaturę tym razem z kolumną destylacyjną i destylat z poprzedniego ćwiczenia wlewamy do kolby. Destylujemy go ponownie na kolumnie notując jak poprzednio temperaturę wrzenia po odebraniu każdych 2 cm^3 destylatu.

Na wspólnym wykresie, sporządzamy zależność temperatury wrzenia od ilości destylatu dla obu przeprowadzonych destylacji.