

Esperienza 1

Cromatografia su strato sottile di blu di metilene e 9-fluorenone

Scopo dell'esperienza

Applicare i principi di base della separazione cromatografica.

L'obiettivo specifico è testare diversi eluenti per l'analisi TLC di blu di metilene e 9-fluorenone e individuare l'eluente che fornisce un R_f ottimale (0.2 – 0.4).

Minime note di sicurezza:

Indossare sempre gli occhiali.

Maneggiare i solventi sotto cappa. Disporre i solventi esausti negli appositi recipienti, prima sotto cappa e poi nei bidoni di recupero. Disporre le lastre usate negli appositi bidoni, evitando di spezzettare ulteriormente la silice (è irritante).

Prima di iniziare l'esperienza, annotare nel quaderno di laboratorio le frasi H e P relative alle sostanze che verranno usate. Nelle esperienze successive annotare solo le sostanze nuove.

Risorse aggiuntive per un'introduzione all'argomento

Siete incoraggiati a leggere e guardare qualche video/immagine online prima di entrare in laboratorio. Aiuta a rendersi conto di quello che si farà e alcune immagini comunicano molto meglio di molte parole. Parole chiave: "Thin layer chromatography" su youtube o Wikipedia. chem.libretexts.org è una buona risorsa online.

Ci possono essere delle piccole variazioni rispetto a come faremo in pratica nel nostro laboratorio, è normale che sia così e non preoccupatevi.

Minima introduzione

La cromatografia su strato sottile su silice sfrutta la diffusione per capillarità di un solvente lungo una lastrina di silice. La silice è stazionaria ed è polare. Il solvente (o miscela di solventi) è meno polare della silice.

I composti apolari hanno più affinità per il solvente e risalgono la lastrina rapidamente, seguendo il fronte del solvente; I composti più polari invece hanno più affinità per la superficie solida polare e scendono più lentamente, o addirittura non scendono.

Considerando diverse miscele di solventi, aumentare la polarità del solvente farà scorrere il composto di più, diminuire la polarità lo farà scorrere di meno.

Tipici eluenti a crescente polarità sono:

Etere di petrolio

Miscela etere di petrolio/acetate di etile

Diclorometano

Miscela diclorometano/metanolo (max 10% MeOH)

Se il composto è particolarmente polare si può aggiungere dell'acido acetico alla miscela

Materiali e reagenti

- Lastrine di silice per TLC
- Piccolo becker (o provetta da saggio)
- Capillari per TLC (o pipette Pasteur)
- Camera di eluizione (o barattolo)
- Cilindro graduato

- Blu di metilene
- 9-fluorenone

- Metanolo
- Etanolo
- Acetone
- Diclorometano
- Acetato di Etile
- Etere di petrolio
- Acido acetico glaciale

(varie: matita, spatola)

Procedura:

- 1) Trasferire una punta di spatola di blu di metilene in un becker o provetta e aggiungere un paio di mL di etanolo;
- 2) Tagliare una lastrina TLC da una lastra più grande. Segnare con una matita la linea di base, a circa 1 cm dal fondo. Fare delle tacche lungo la linea di base, in corrispondenza di dove si depositeranno e macchie, lasciando almeno 0.5-1 cm di spazio dai bordi e fra diverse macchie (vedi figura);
- 3) Scegliere l'eluente e riempire il fondo della camera di eluizione con il solvente prescelto. Il livello del solvente deve essere più basso della linea di base delle lastrine TLC. Chiudere la camera di eluizione e lasciare che il solvente saturi l'ambiente (vedi figura);
- 4) Intingere un capillare o una pipetta Pasteur nella soluzione del compost da analizzare e depositare il liquido in corrispondenza di una tacca preparata sulla lastrina TLC. Basta una leggera pressione, mettendo a contatto il capillare con la superficie. Con la matita, segnare sotto la macchia cosa si è depositato; far evaporare il solvente, sventolando leggermente la lastrina. Ripetere l'operazione per ogni macchia da depositare;
- 5) Inserire la lastrina nella camera di eluizione e aspettare che il solvente risalga per capillarità. Quando il fronte del solvente ha risalito circa l'80% della lastrina si può estrarre la lastrina e segnare immediatamente il livello del fronte del solvente. Asciugare la lastrina e segnare con la matita le macchie visibili;

Nel quaderno di laboratorio disegnare ogni lastrina sviluppata e calcolare gli R_f di ogni macchia.

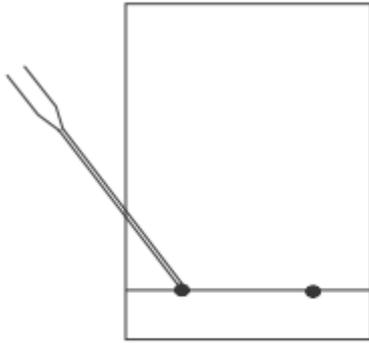


Figure 1: Spotting a TLC plate

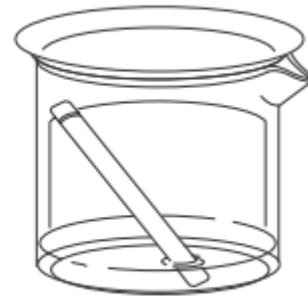


Figure 2: Developing Chamber

Una volta ottenuta una macchia che si sposta a sufficienza, ma non corre con il fronte del solvente (indicativamente R_f del più polare tra 0.2 e 0.8), sviluppare una lastrina con tre macchie: una con la soluzione madre, una facendo tre deposizioni sovrapposte e una terza diluendo la soluzione madre, per esempio aggiungendo qualche goccia di soluzione madre a un paio di mL di solvente.

Provare diversi solventi, partendo dal diclorometano. Provare miscele a piacere, con l'obiettivo di portare l' R_f tra 0.2 e 0.4, un range ottimale per le separazioni cromatografiche su colonna.

Ripetere l'investigazione usando il 9-fluorenone, sciogliendolo in diclorometano. Partire dall'etere di petrolio e provare diverse miscele fino ad ottenere un R_f tra 0.2 e 0.4. Non serve ripetere l'esperimento a diverse concentrazioni.