



## LABORATORIO DI CHIMICA ORGANICA II

Anno Accademico 2024-2025

### Esperienza #1: Cromatografia su strato sottile (TLC)

Questa esperienza si compone di più parti.

#### Scopo dell'esperienza

- Collegare la polarità di una molecola alla sua struttura.
- Confrontare la polarità di alcuni sostituenti.
- Identificare le condizioni per la separazione di due molecole.

#### Minime note di sicurezza:

Indossare sempre gli occhiali/la visiera, il camice e i guanti. Prima di iniziare l'esperienza, visionare con attenzione le schede di sicurezza ed annotare nel quaderno di laboratorio le frasi H e P relative alle sostanze che verranno usate. Si ricorda di maneggiare i solventi sempre sotto cappa e di tenere le cappe accese (interruttore grigio, si sente il rumore della ventola) con i saliscendi laterali sempre abbassati. Il saliscendi frontale va tenuto quanto più possibile abbassato (tipicamente, mentre si lavora l'altezza corretta è sopra il livello dei gomiti, così da lavorare comodamente in piedi). Si ricorda di coprire i recipienti nei tragitti tra le cappe dei solventi e la propria cappa. Disporre i solventi esausti negli appositi recipienti, prima sotto cappa e poi nei bidoni di recupero. Disporre le lastrine usate negli appositi bidoni, evitando di spezzettare ulteriormente la silice (è irritante). Trattare i composti incogniti come irritanti. Nelle esperienze successive annotare solo le sostanze nuove, riscrivendo però le frasi già incontrate. La luce della lampada UV è dannosa. Usare i guanti e puntare la lampada solo verso il bancone, mettendo sotto la lastrina. Per maneggiare le lastrine si possono usare le pinze di legno presenti in laboratorio. La soluzione di permanganato è estremamente ossidante, chiedere l'assistenza di un istruttore prima di usarla.

#### 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 la fase stazionaria ed è polare. L'eluente (un solvente o una miscela di solventi) è meno polare della silice ed è la fase mobile. 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 risalgono 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
- Acetato di etile
- Miscela etere di petrolio/acetato di etile
- Diclorometano

#### Video utili su cromatografia su strato sottile (TLC):

<https://www.youtube.com/watch?v=AGVTF488D9k>

<https://www.youtube.com/watch?v=YCqxrGtguXo>

#### Relativamente alla parte B:

In questo caso si vuole osservare anche il fluorene, che non è colorato. Per poter osservare anche composti non colorati, le lastrine TLC includono già in partenza una molecola fluorescente, che emette alla lampada UV. In corrispondenza della macchia la luminescenza è soppressa e la lastrina



## LABORATORIO DI CHIMICA ORGANICA II

Anno Accademico 2024-2025

appare scura. Se un composto è incolore e non assorbe nemmeno la luce ultravioletta, non si riesce a visualizzare alla lampada. Per aggirare questa difficoltà, una possibilità è sfruttare la sua reattività. Ad esempio, se contiene doppi legami, gruppi OH, o aldeidi, si può ossidare con una miscela di permanganato. In quel caso la lastrina viene immersa in una soluzione di permanganato e poi scaldata leggermente per favorire l'ossidazione. La lastrina rimane viola (permanganato non reagito) mentre la macchia si ingiallisce ( $MnO_2$ ).

### 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
  
- Isatina
- 5-metilisatina
- 5-nitroisatina
- Fluorene
- Fluorenone
- Miscela di fluorene e 9-fluorenone
- Permanganato di potassio,  $KMnO_4$
- Solventi: metanolo, acetone, diclorometano, acetato di etile, etere di petrolio

### PARTE A

Procedura:

- 1) Trasferire una punta di spatola di isatina in un piccolo becker o provetta e aggiungere qualche (2-5) mL di diclorometano, la soluzione dovrebbe apparire leggermente colorata (si deve vedere attraverso facilmente). Scrivere la struttura dell'isatina sul quaderno. La molecola è planare? Se sì perché? L'isatina presenta un colore rosso acceso. Perché un composto organico può essere colorato? Come interagisce con la luce visibile? Commentare sul quaderno.
- 2) Tagliare una lastrina TLC rettangolare (circa 7 cm x 2 cm) da una lastra più grande (attenzione a ridurre gli sprechi). Segnare con una matita la linea di base orizzontale, a circa 1 cm dal fondo. Fare delle tacche con la matita lungo la linea di base, in corrispondenza di dove si depositeranno le macchie, lasciando almeno 0.5-1 cm di spazio dai bordi e fra diverse macchie (vedi figura sotto).
- 3) Scegliere l'eluente (iniziare da solventi puri, come ad esempio etere di petrolio, etil acetato e DCM per poi passare a miscele di solventi) 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. Perché? Commentare sul quaderno. Chiudere la camera di eluizione e attendere un paio di minuti per permettere al solvente di saturare l'ambiente (vedi figura sotto).
- 4) Intingere un capillare nella soluzione del composto da analizzare e depositare delicatamente 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.



## LABORATORIO DI CHIMICA ORGANICA II

Anno Accademico 2024-2025

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 lunghezza della lastrina si può estrarre la lastrina e segnare immediatamente il livello del fronte del solvente con la matita. Asciugare la lastrina e segnare con la matita le macchie visibili ad occhio nudo. Nel quaderno di laboratorio disegnare ogni lastrina sviluppata e calcolare gli  $R_f$  di ogni macchia. La misura si effettua con il righello. Si definisce  $R_f$  il rapporto tra la distanza percorsa (in centimetri) da ogni singolo componente (centro della macchia) e la distanza totale percorsa dal solvente (in centimetri, segnato con la matita). Il suo valore è sempre compreso tra zero e uno ed è un numero adimensionale che dipende, a parità di composto organico e fase stazionaria, dalla composizione dell'eluente. Cercare quindi di individuare correlazioni tra la polarità degli eluenti utilizzati e  $R_f$  dell'isatina.

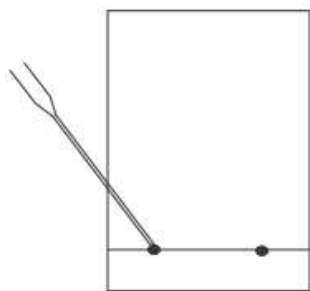


Figure 1: Spotting a TLC plate



Figure 2: Developing Chamber

6) individuare un eluente che dia per l'isatina un  $R_f$  tra 0.2 e 0.5 (un range ottimale per le separazioni cromatografiche su colonna; confermare con il docente o un tutor che la concentrazione sia appropriata, poi proseguire).

7) individuare un eluente che dia per l'isatina un  $R_f$  tra 0.5 e 0.8.

8) sviluppare una lastrina con tre macchie: una con la soluzione madre, una facendo tre deposizioni sovrapposte e una terza diluendo la soluzione madre di isatina preparata in precedenza, per esempio aggiungendo qualche goccia di soluzione madre a un paio di mL di solvente. Cosa si osserva? Perché? Commentare sul quaderno.

9) sviluppare una lastrina depositando: 5-metilisatina da sola (macchia 1), 5-nitroisatina da sola (macchia 3) e sia 5-metilisatina che 5-nitroisatina (deposizioni sovrapposte, macchia 2). Scrivere sul quaderno la struttura della 5-metilisatina e della 5-nitroisatina. Commentare sul quaderno la struttura tridimensionale di queste molecole. Individuare il solvente adatto, in modo da separare le due molecole e valutare quale tra i due composti è il più polare.

10) Ossidare la lastrina nella soluzione di permanganato e annotare cosa si osserva. Trovare un razionale a quanto osservato e scriverlo sul quaderno.

11) Trovare dei trends tra la polarità dell'eluente utilizzato e lo  $R_f$  di 5-metilisatina e 5-nitroisatina.



## LABORATORIO DI CHIMICA ORGANICA II

Anno Accademico 2024-2025

### PARTE B

Procedura:

- 1) Preparare una soluzione in diclorometano di fluorene e una soluzione di fluorenone, sempre in diclorometano. Scrivere le strutture di fluorene e fluorenone sul quaderno. Commentare sul quaderno la struttura tridimensionale di queste molecole. Di che colore sono le soluzioni? Perché?
- 2) Individuare un eluente che permetta di distinguere i due composti (ossia avere due  $R_f$  diversi e distinti). Per fare questo, si suggerisce di depositare i due composti separatamente sulla stessa lastrina, assieme ad una terza macchia ottenuta depositando sia il fluorene che il fluorenone nella stessa posizione. Cosa si vede ad occhio nudo? Annotare sul quaderno.
- 3) Successivamente, osservare sempre le lastre sotto la lampada UV e segnare con la matita le macchie osservate. Annotare sul quaderno quando osservato.
- 4) Ossidare la lastrina nella soluzione di permanganato e indicare nel quaderno cosa si osserva.
- 5) Nel quaderno di laboratorio disegnare ogni lastrina sviluppata e calcolare gli  $R_f$  di ogni macchia.
- 6) Trovare dei trends tra la polarità dell'eluente utilizzato e lo  $R_f$  di fluorene e fluorenone.

### PARTE C

Le lastre TLC in dotazione al laboratorio sono costituite da silice mescolata ad un indicatore fluorescente (a 254 nm) e depositata su un supporto di alluminio. Questo strato di alluminio ha uno spessore superiore a quello dell'alluminio ("foglio di alluminio") che si impiega normalmente per uso alimentare, e questo serve a sostenere la lastrina TLC. Proporre un modo per misurare in maniera semplice lo spessore di un foglio di alluminio per uso alimentare (sarà in dotazione) avendo a disposizione una bilancia di precisione ( $d_{Al} = 2.70 \text{ g/cm}^3$ ). Ripetere la determinazione tre volte al fine di valutare la riproducibilità della misura fornendo al valore calcolato una deviazione standard.

### PARTE D

Valutazione della natura chimica dei composti presenti in una miscela incognita mediante analisi TLC. Verrà fornita una polvere contenente tre composti organici - possibili composti: isatina, 5-metilisinatina, 5-nitroisinatina, fluorene, fluorenone - che dovrà essere analizzata utilizzando le conoscenze acquisite nei precedenti punti mediante analisi TLC.