

Esperienza 1

Cromatografia su Strato Sottile

Questa esperienza si compone di più parti. Non è necessario fare tutto durante la prima giornata.

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.

Preparazione

Leggere le note sulla cromatografia, leggere il capitolo 2.2 di "Organic Chemistry lab Techniques" (Nicols).

Materiale disponibile/reperibile via moodle o all'indirizzo:

[https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_Lab_Techniques_\(Nichols\)](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Organic_Chemistry/Book%3A_Organic_Chemistry_Lab_Techniques_(Nichols)).

Minime note di sicurezza

Indossare sempre gli occhiali/la visiera/mascherina.

Maneggiare i solventi sotto 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).

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, 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 scorrono.

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

Miscele etere di petrolio/acetate di etile

Diclorometano

Miscele diclorometano/metanolo (max 10% v/v di MeOH, perché la silice può venire rimossa in metanolo)

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 lastre TLC includono già in partenza una molecola fluorescente, che emette alla lampada UV. In corrispondenza della macchia la luminescenza è soppressa e la lastra 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 lastra viene immersa in una soluzione di permanganato e poi scaldata leggermente per favorire l'ossidazione. La lastra 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
 - Composti incogniti
 - Permanganato di potassio, KMnO_4
 - Solventi (Metanolo, Acetone, Diclorometano, Acetato di Etile, Etere di petrolio)
- (varie: matita, spatola)

Trattare i composti incogniti come irritanti

Procedure

Parte A

- 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).
- 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 le macchie, lasciando almeno 0.5-1 cm di spazio dai bordi e fra diverse macchie (vedi figura).
- 3) Scegliere l'eluente (iniziare da solventi puri, come ad esempio etere di petrolio, etil acetato e DCM) 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 attendere un paio di minuti per permettere al solvente di saturare l'ambiente (vedi figura).
- 4) Intingere un capillare nella soluzione del composto 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.

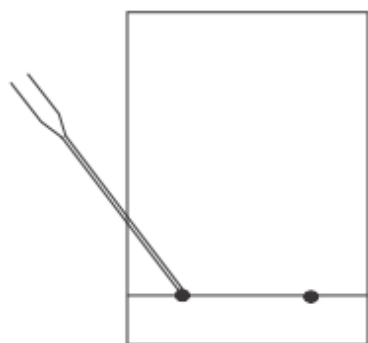


Figure 1: Spotting a TLC plate

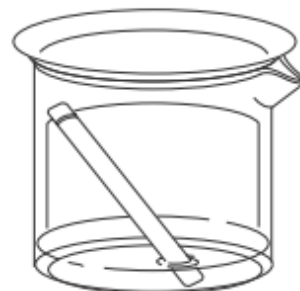


Figure 2: Developing Chamber

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, per esempio aggiungendo qualche goccia di soluzione madre a un paio di mL di solvente. Cosa si osserva?

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). 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.

Parte B

1) Preparare una soluzione in diclorometano di fluorene e una soluzione di fluorenone, sempre in diclorometano.

2) Individuare un eluente che permetta di distinguere i due composti (dare R_f diversi). 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.

3) Osservare sempre le lastre sotto la lampada UV e segnare con la matita le macchie osservate.

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.

Parte C

a) Utilizzando le competenze acquisite nei punti A e B, svolgere la cromatografia su strato sottile dei 3 campioni incogniti (ciascuno contenente 3 molecole diverse mescolate) e identificare i costituenti di ciascun mix incognito.

b) 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 e la tavola periodica degli elementi.