



ΟΡΓΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ

Εργαστηριακές Ασκήσεις

Δημήτρης Π. Μακρής *PhD DIC*
Αναπληρωτής Καθηγητής



Πανεπιστήμιο
Θεσσαλίας

Καρδίτσα, 2022

Περιεχόμενα

Άσκηση 1^η: Ανίχνευση λειτουργικών ομάδων	4
1.1 Εισαγωγή	4
1.2 Υλικά και μέθοδοι	4
1.2.1 Αντιδραστήρια	4
1.2.2 Δοκιμή για αλκοόλες	4
1.2.3 Δοκιμή για φαινόλες	5
1.2.4 Δοκιμή για αλδεΐδες	5
1.2.5 Δοκιμή για αμίνες	5
1.3 Αποτελέσματα και συζήτηση	6
1.4 Συμπεράσματα	6
Βιβλιογραφία	6
Άσκηση 2^η : Εκχύλιση υγρού – υγρού (απομόνωση καφεΐνης από στιγμιαίο καφέ)	7
2.1 Εισαγωγή	7
2.2 Υλικά και μέθοδοι	10
2.2.1 Αντιδραστήρια	10
2.2.2 Διαδικασία εκχύλισης	11
2.3 Αποτελέσματα και συζήτηση	11
2.4 Συμπεράσματα	11
Βιβλιογραφία	11
Άσκηση 3^η: Εκχύλιση στερεού - υγρού	12
3.1 Εισαγωγή	12
3.2 Υλικά και μέθοδοι	13
3.2.1 Διαδικασία	13
3.3 Αποτελέσματα και συζήτηση	14
3.4 Συμπεράσματα	14
Βιβλιογραφία	14
Άσκηση 4^η: Απόσταξη (απλή)	15
4.1 Εισαγωγή	15
4.2 Υλικά και μέθοδοι	16

4.2.1 Διαδικασία	16
4.3 Αποτελέσματα και συζήτηση	16
4.4 Συμπεράσματα	16
Βιβλιογραφία	17
Άσκηση 5^η: Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας	18
5.1 Εισαγωγή	18
5.1.1 Χρωματογραφικές τεχνικές	18
5.1.2 Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (TLC)	18
5.1.3 Πειραματική εφαρμογή	20
5.2 Υλικά και μέθοδοι	21
5.2.1 Προετοιμασία δείγματος	21
5.2.2 Χρωματογραφική ανάλυση	22
5.3 Αποτελέσματα και συζήτηση	22
5.4 Συμπεράσματα	22
Βιβλιογραφία	23

ΑΣΚΗΣΗ 1^η

Ανίχνευση λειτουργικών ομάδων

1.1 | Εισαγωγή

Στην Οργανική Χημεία υπάρχουν πολλές αντιδράσεις μέσω των οποίων μπορούν να χαρακτηριστούν οι διάφορες λειτουργικές ομάδες των μορίων. Είναι λοιπόν δυνατόν να χαρακτηριστεί σχεδόν οποιαδήποτε λειτουργική ομάδα που μπορεί να υπάρχει σε κάποιο μόριο. Σε ορισμένες περιπτώσεις, διαφορετικές λειτουργικές ομάδες μπορεί να δώσουν την ίδια αντίδραση, έτσι ώστε ν' απαιτείται άλλη επιπρόσθετη αντίδραση για να διαπιστωθεί η ύπαρξη μιας συγκεκριμένης ομάδας. Σε άλλες περιπτώσεις, μια πολυλειτουργική ένωση μπορεί να δώσει διαφορετικές αντιδράσεις για την κάθε ομάδα που περιέχει ξεχωριστά.

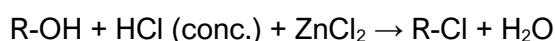
1.2 | Υλικά και μέθοδοι

1.2.1 Αντιδραστήρια

Χλωριούχος ψευδάργυρος ($ZnCl_2$), πυκνό HCl , χλωριούχος τρισθενής σίδηρος ($FeCl_3$), θειικός δισθενής χαλκός ($CuSO_4$), τρυγικό κάλιο-νάτριο.

1.2.2 Δοκιμή για αλκοόλες

Lucas test [$ZnCl_2/HCl$ (πυκνό)]. Οι τριτοταγείς αλκοόλες αντιδρούν εύκολα με $ZnCl_2/HCl$ (conc.) για να δώσουν αλκυλ χλωρίδια που είναι αδιάλυτα στο νερό, ενώ οι δευτεροταγείς αλκοόλες αντιδρούν αργά και οι πρωτοταγείς είναι πρακτικά αδρανείς. Η δοκιμή αυτή δεν είναι αξιόπιστη για αρυλ αλκοόλες ή για αλκοόλες αδιάλυτες στο νερό.



Το αντιδραστήριο παρασκευάζεται διαλύοντας 16 g άνυδρου $ZnCl_2$ σε 10 mL πυκνού HCl , και ψύχοντας το μίγμα για να μην υπάρξει απώλεια HCl . Η φιάλη που φέρει το αντιδραστήριο πωματίζεται, επειδή ο $ZnCl_2$ είναι ισχυρά υγροσκοπικός και χάνει την αποτελεσματικότητά του. Η δοκιμή διεξάγεται με την προσθήκη 3 - 4 σταγόνων αλκοόλης σε 2 mL αντιδραστηρίου Lucas, σ' έναν μικρό δοκιμαστικό σωλήνα. Ο σωλήνας σφραγίζεται, ανακινείται καλά για 15 s, και παραμένει σε θερμοκρασία δωματίου.

Ανάλογα με τ' αποτελέσματα, μπορεί να γίνει η εξής κατηγοριοποίηση:

- Οι τριτοταγείς αλκοόλες (αλλυλικές και βενζυλικές), αντιδρούν σχεδόν ακαριαία σχηματίζοντας δύο διακριτές φάσεις (υδατική και αλκυλ χλωρίδιο).
- Οι δευτεροταγείς αλκοόλες παράγουν μετά από μερικά λεπτά ένα ιριδίζον διάλυμα, λόγω του σχηματισμού αδιάλυτου χλωριδίου.
- Οι πρωτοταγείς αλκοόλες με λιγότερους από 6 άνθρακες διαλύονται ενώ αυτές με περισσότερους από 6 άνθρακες δεν διαλύονται, και η υδατική φάση παραμένει διαυγής.

1.2.3 Δοκιμή για φαινόλες

Ferric chloride test (FeCl_3). Οι περισσότερες φαινόλες δίνουν έντονα έγχρωμα διαλύματα μ' αυτό το αντιδραστήριο (κυανά, πράσινα, ιώδη, κτλ). Αν το χρώμα είναι ανοιχτό κίτρινο, το ίδιο με το χρώμα του διαλύματος FeCl_3 , η αντίδραση θεωρείται αρνητική.

Μερικές φαινόλες δεν δίνουν χαρακτηριστικό χρώμα, όπως π.χ. η υδροκινόνη, επειδή οξειδώνεται σε κινόνη, και το αντιδραστήριο δεν παράγει χρώμα. Τα οξέα, εκτός από τα φαινολικά, δεν αντιδρούν, αν και μερικά μπορεί να δώσουν κιτρινωπά διαλύματα ή ίζημα.

Είναι σημαντικό να επισημανθεί ότι η απουσία ανάπτυξης χρώματος δεν σημαίνει απαραίτητα αρνητικό αποτέλεσμα. Επίσης, η ανάπτυξη χρώματος δεν είναι απαραίτητα θετικό αποτέλεσμα για φαινόλες, επειδή και άλλες ομάδες μπορούν να προκαλέσουν αλλαγή χρώματος, όπως αλφατικά και αρωματικά καρβοξυλικά οξέα, ενόλες, οξίμες, υδροξαμικά οξέα και σουλφινικά οξέα.

Η δοκιμή πραγματοποιείται με την προσθήκη αρκετών σταγόνων διαλύματος FeCl_3 2.5% (σύγκριση χρώματος με δείγμα ελέγχου) σε 1 mL αραιού διαλύματος της προς εξέταση ουσίας. Το χρώμα που θα παραχθεί μπορεί να είναι παροδικό, γι' αυτό απαιτείται καταγραφή του αποτελέσματος. Αν η προς εξέταση ουσία δεν είναι υδατοδιαλυτή, είναι απαραίτητη η χρήση αλκοολικών διαλυμάτων αντί υδατικών.

1.2.4 Δοκιμή για αλδεΐδες

Διάλυμα Fehling. Το αντιδραστήριο παρασκευάζεται πριν την χρήση με ανάμιξη ίσων όγκων διαλύματος Fehling A (διάλυμα χαλκού) με το Fehling B (αλκαλικό διάλυμα τρυγικού καλίου-νατρίου). Το τρυγικό άλας σχηματίζει σύμπλοκο με τον χαλκό, το οποίο ανάγεται από τις αλδεΐδες. Αν η αντίδραση είναι θετική, σχηματίζεται ερυθρό ίζημα Cu_2O .



Παρασκευάζονται δύο διαλύματα:

- Fehling A. Διαλύονται 34.64 g θεικού χαλκού σε 500 mL νερού.
- Fehling B: Διαλύονται 17.6 g τρυγικού καλίου-νατρίου και 7.7 g NaOH σε 50 mL νερού.

Ακριβώς πριν την χρησιμοποίηση του αντιδραστηρίου, αναμιγνύονται 3 mL από το κάθε διάλυμα. Προστίθενται μερικές σταγόνες διαλύματος της υπό εξέταση ουσίας σ' αυτό το μίγμα, και ακολουθεί θέρμανση για 2 min σε υδατόλουτρο. Η εμφάνιση καστανέρυθρου ιζήματος υποδεικνύει ότι η δοκιμή είναι θετική.

1.2.5 Δοκιμή για αμίνες

Cupric ion test. Γίνεται προσθήκη 10 mg ή μιας μικρής σταγόνας διαλύματος της προς εξέταση ουσίας σε 0.5 mL διαλύματος 10% θεικού χαλκού. Η εμφάνιση χρώματος ή ιζήματος (κυανού ή κυανού-πράσινου) είναι ενδεικτικό της παρουσίας αμίνης.

1.3 | Αποτελέσματα και συζήτηση

Τα αποτελέσματα της εξέτασης των δειγμάτων καταγράφονται συγκεντρωτικά με την μορφή πίνακα, ως εξής:

Πίνακας 1: Αποτελέσματα εξέτασης δειγμάτων για την παρουσία λειτουργικών ομάδων.

Δείγμα	Δοκιμές			
	Αλκοόλες	Φαινόλες	Αλδεΐδες	Αμίνες
A				
B				
Γ				
Δ				

Η παρουσία μιας ομάδας σ' ένα δείγμα δύναται να αποδοθεί με «+» και η απουσία με «-». Επίσης, σε περίπτωση εμφάνισης έντονου χρώματος, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η διαβάθμιση «++» ή «+++».

1.4 | Συμπεράσματα

Καταγράφονται τα συμπεράσματα με βάση τα αποτελέσματα των αναλύσεων.

Βιβλιογραφία

Isac-García J., Dobado J.A., Calvo-Flores F.G, Martínez-García H., **2016**. Chapter 6: Functional-Group Analysis. In **“Experimental Organic Chemistry: Laboratory Manual”**, Elsevier, London, U.K.

ΑΣΚΗΣΗ 2^η: Εκχύλιση υγρού – υγρού

Απομόνωση καφεΐνης από στιγμιαίο καφέ

2.1 Εισαγωγή

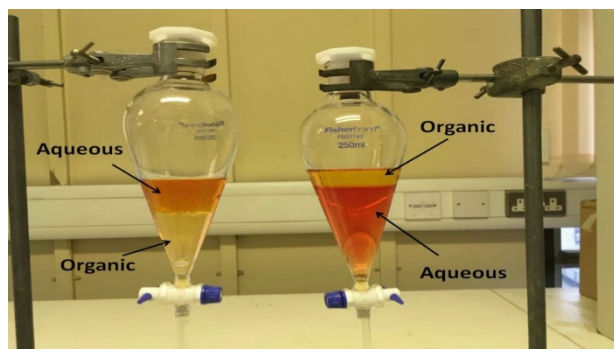
Η εκχύλιση υγρού-υγρού (liquid-liquid extraction) είναι μια από τις πιο κοινές βασικές εργαστηριακές διεργασίες στην Οργανική Χημεία, και επιτρέπει την απομόνωση και τον καθαρισμό χημικών ουσιών ή ομάδων ουσιών από δείγματα με πολύπλοκη σύσταση. Η εκχύλιση μπορεί να οριστεί ως η μεταφορά μιας ουσίας X από μια υγρή φάση A σε μια άλλη υγρή φάση B. Αμφότεροι οι διαλύτες πρέπει να είναι μη-αναμίξιμοι, έτσι ώστε να σχηματίζουν δύο διακριτές φάσεις. Η κατανομή της ουσίας X μεταξύ των φάσεων A και B δίνεται από την εξίσωση Nernst:

$$K_D = \frac{C_{B(X)}}{C_{A(X)}}$$

Όπου $C_{B(X)}$ και $C_{A(X)}$ είναι οι συγκεντρώσεις της ουσίας X στην B και A φάση αντίστοιχα, και K_D είναι ο συντελεστής κατανομής (partition coefficient), ο οποίος εξαρτάται από την θερμοκρασία.

Αυτή η διεργασία πραγματοποιείται τυπικά μεταξύ ενός υδατικού διαλύματος (υδατική φάση) και ενός διαλύτη μη-αναμίξιμου με το νερό (οργανική φάση), με την βοήθεια μιας διαχωριστικής χοάνης. Η σχετική θέση των δύο φάσεων (άνω, κάτω) εξαρτάται από την σχέση των πυκνοτήτων. Οι χλωριωμένοι διαλύτες (CH_2Cl_2 , CHCl_3 , CCl_4 , κτλ.) παραμένουν πάντα στην κάτω φάση, καθώς είναι πυκνότεροι του νερού. Εντούτοις, άλλοι οργανικοί διαλύτες έχουν χαμηλότερη πυκνότητα από το νερό (διαιθυλαιθέρας, οξικός αιθυλεστέρας, τολουένιο, εξάνιο, κτλ.) και επομένως παραμένουν στην άνω φάση. Διαλύτες που είναι αναμίξιμοι με το νερό (π.χ. μεθανόλη, αιθανόλη) δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν γι' αυτήν την διεργασία.

Η εκχύλιση υγρού-υγρού διεξάγεται σε εργαστηριακή κλίμακα με διαχωριστικής χοάνη, η οποία είναι ένας κωνικός ή απιοειδής περιέκτης με συμρισμένο πώμα στο πάνω μέρος και μια βαλβίδα που συνδέει τον περιέκτη με σωλήνα εξόδου με λοξή κατάληξη (**Εικόνα 2.1**).



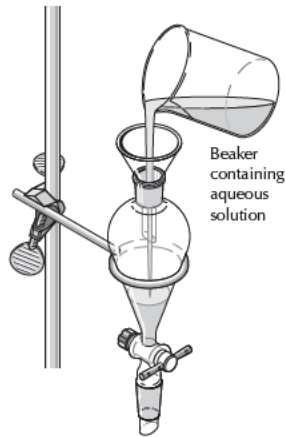
Εικόνα 2.1: Διαχωριστικές χοάνες που περιέχουν την υδατική και την οργανική φάση.

Για μια επιτυχημένη εκχύλιση, είναι απαραίτητα τα παρακάτω βήματα (**Εικόνα 2.2**):

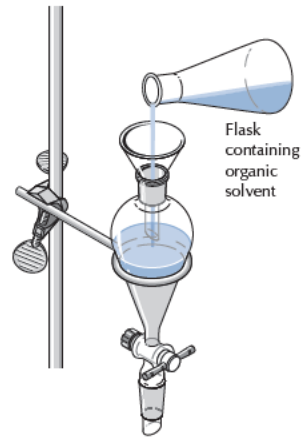
- Η διαχωριστική χοάνη τοποθετείται σε υποστηρικτικό μέσο (stand) με δακτύλιο, και στο κάτω μέρος τοποθετείται συλλέκτης.
- Το ύψος της χοάνης ρυθμίζεται έτσι ώστε η λοξή κατάληξη του σωλήνα εξόδου να βρίσκεται μερικά εκατοστά πάνω από τον συλλέκτη.
- Ελέγχεται η βαλβίδα στο κάτω μέρος της χοάνης, έτσι ώστε να είναι κλειστή πριν την εισαγωγή υγρού στην χοάνη από το πάνω μέρος.
- Με την βοήθεια κολονάτης χοάνης (χωνιού), τα δύο μη-αναμίξιμα υγρά εισάγονται στην διαχωριστική χοάνη.
- Ελέγχεται το πώμα στο πάνω μέρος να είναι ερμητικά κλειστό.
- Η χοάνη αφαιρείται από τον υποστηρικτικό δακτύλιο, τοποθετείται κατάλληλα στα χέρια, και ανακινείται έντονα.
- Είναι σημαντικό να ανοίγεται περιστασιακά η βαλβίδα της χοάνης, έτσι ώστε να εκτονώνεται η πίεση που δημιουργείται από την τάση ατμών του πτητικού (οργανικού) διαλύτη.
- Μετά από επαρκή ανακίνηση, η χοάνη τοποθετείται πίσω στον υποστηρικτικό δακτύλιο, και αφαιρείται το πώμα από το πάνω μέρος.
- Αφήνεται να παρέλθει ορισμένος χρόνος, έως ότου οι δύο φάσεις διαχωριστούν πλήρως.
- Ακολούθως, η κάτω φάση λαμβάνεται ανοίγοντας την βαλβίδα στο κάτω μέρος της χοάνης.
- Τελικά, η πάνω φάση εκχύνεται από το πάνω άνοιγμα της χοάνης.

Μερικές φορές ο διαχωρισμός μεταξύ των δύο φάσεων παρουσιάζει δυσκολίες, όπως ο σχηματισμός διεπιφάνειας, αφρισμός και δημιουργία γαλακτωμάτων. Γι' αυτά τα προβλήματα, δεν υπάρχει συγκεκριμένη αντιμετώπιση. Τις περισσότερες φορές, η ενδεδειγμένη λύση είναι η πάροδος κάποιου χρονικού διαστήματος, έτσι ώστε να επέλθει πλήρης διαχωρισμός.

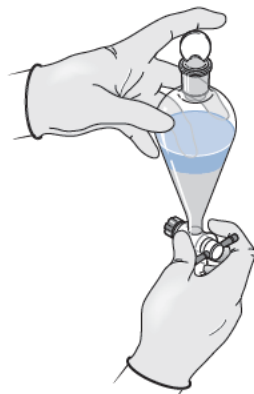
Μετά την εκχύλιση, η υδατική φάση είναι κορεσμένη με τον διαλύτη και ο διαλύτης με νερό. Το νερό πρέπει ν' αφαιρεθεί από την οργανική φάση, έτσι ώστε να παραληφθεί πλήρως καθαρό εκχύλισμα. Η συνήθης πρακτική για την αφαίρεση της υγρασίας είναι η κατεργασία της οργανικής φάσης με έναν αποξηραντικό (αφυγραντικό) παράγοντα. Οι αφυγραντές είναι άνυδρα ανόργανα άλατα που δεσμεύουν το νερό, έως ότου καταστούν ένυδρα. Τα πλέον κοινά άλατα παρατίθενται στον **Πίνακα 2.1**.



1. Add aqueous solution.



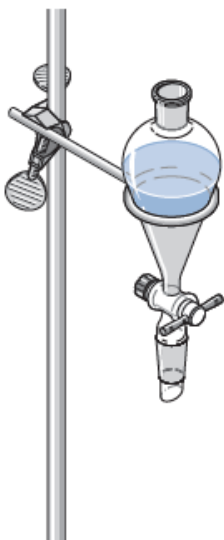
2. Add organic solvent.



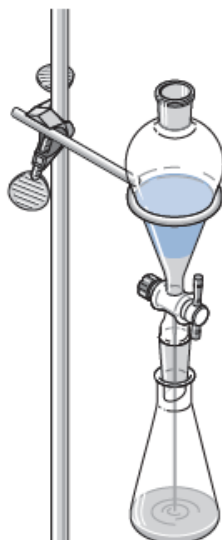
3. Insert stopper and hold stopper with your finger.



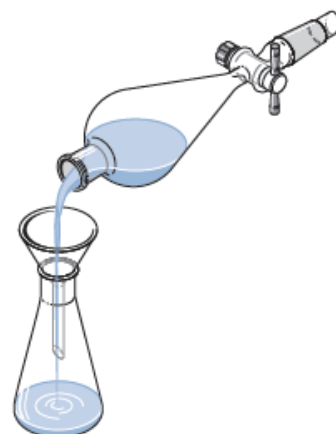
4. Invert funnel and immediately open stopcock to release pressure, close the stopcock, and mix the layers by shaking the funnel.



5. Use a ring stand to hold separatory funnel until layers separate.



6. Draw off bottom layer.



7. Pour off top layer.

Εικόνα 2.2: Βήματα της διαδικασίας εκχύλισης υγρού – υγρού.

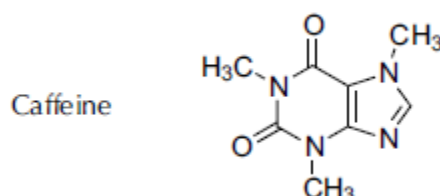
Πίνακας 2.1: Κοινές αφυγραντικές ουσίες.

Compound (anhydrous)	Capacity	Drying speed	Drying applications
CaCl ₂	High	Medium	Drying of hydrocarbons
CaSO ₄ (Drierite [®])	Low	Fast	General purposes
MgSO ₄	High	Fast	Not applicable to very sensitive acid compounds
K ₂ CO ₃	Medium	Medium	Not in acid compounds
Na ₂ SO ₄	High	Slow	General purposes

Για την ξήρανση ενός διαλύτη, το αφυγραντικό αφήνεται σ' επαφή με το υγρό σε μια κωνική φιάλη, και μετά από μερικά λεπτά διαχωρίζεται με διήθηση.

Ο σκοπός της άσκησης είναι η απομόνωση καφεΐνης από στιγμιαίο καφέ εμπορίου, χρησιμοποιώντας μικροεκχύλιση υγρού-υγρού. Η καφεΐνη είναι ένα αλκαλοειδές της οικογένειας της ξανθίνης. Σε καθαρή μορφή είναι ένα λευκό, άοσμο στερεό, μερικώς διαλυτό στο νερό (100 mM).

Η καφεΐνη έχει διεγερτική δράση και ανευρίσκεται σε προϊόντα φυτικής προέλευσης, όπως ο καφές και το τσάι. Ο στιγμιαίος καφές (διαλυτός καφές) είναι ένα δημοφιλές προϊόν, το οποίο παράγεται με αφέψηση και λυοφιλίωση. Σύμφωνα με τις εταιρίες εμπορίας, ο στιγμιαίος καφές περιέχει μεταξύ 55 και 62 mg καφεΐνης ανά φλυτζάνι, που περιέχει μια κουταλιά προϊόντος.



Εικόνα 2.1: Χημική δομή καφεΐνης.

Ο σκοπός της άσκησης είναι η παραλαβή καφεΐνης από εμπορικό διαλυτό καφέ, μέσω εκχύλισης με οργανικό διαλύτη και φυγοκεντρικό διαχωρισμό.

2.2 | Υλικά και μέθοδοι

2.2.1 Αντιδραστήρια

Εμπορικά διαθέσιμος στιγμιαίος καφές, ανθρακικό νάτριο, διχλωρομεθάνιο, άνυδρο θειικό νάτριο.

2.2.2 Διαδικασία εκχύλισης

Τοποθετούνται 2 g ανθρακικού νατρίου και 2 g στιγμιαίου καφέ σε ποτήρι ζέσεως των 25 mL. Προστίθεται θερμό απιονισμένο νερό (9 mL), το μίγμα αναδεύεται και θερμαίνεται μέχρι βρασμού. Ακολούθως, ψύχεται σε θερμοκρασία δωματίου. Κατόπιν, το μίγμα μεταφέρεται σε σωλήνα φυγοκέντρησης των 15 mL, και προστίθενται 2 mL CH_2Cl_2

Ο σωλήνας πωματίζεται, ανακινείται έντονα για 1 min, και φυγοκεντρείται για 90 s. Ο διαχωρισμός της κιτρινωπής οργανικής φάσης από την υδατική γίνεται με πιπέτα Pasteur. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται ακόμα 2 φορές. Οι οργανικές φάσεις συνδυάζονται και ξηραίνονται με άνυδρο θειικό νάτριο.

Ακολουθεί διήθηση και έκπλυση του αφυγραντικού που συγκρατείται στον ηθμό με 3 mL διαλύτη, ο οποίος αναμιγνύεται με την οργανική φάση που παραλήφθηκε. Το διάλυμα μεταφέρεται σε προζυγισμένη φιάλη, ο οργανικός διαλύτης αφαιρείται με εξάτμιση υπό κενό, και η φιάλη επαναζυγίζεται για τον υπολογισμό του βάρους της καφεΐνης.

2.3 | Αποτελέσματα και συζήτηση

Συγκρίνονται τ' αποτελέσματα μ' αυτά της βιβλιογραφίας ή τις πληροφορίες που παρέχει ο κατασκευαστής και γίνεται συζήτηση για τυχόν σημαντικές αποκλίσεις.

2.4 | Συμπεράσματα

Αναφέρονται τα συμπεράσματα σχετικά με την διαδικασία και τ' αποτελέσματα.

Βιβλιογραφία

Isac-García J., Dobado J.A., Calvo-Flores F.G, Martínez-García H., **2016**. Chapter 7: Basic Operation Experiments. In “**Experimental Organic Chemistry: Laboratory Manual**”, Elsevier, London, U.K.

ΑΣΚΗΣΗ 3^η | Εκχύλιση στερεού-υγρού (Soxhlet)

Παραλαβή ελαίου από ξηρούς καρπούς εμπορίου

3.1 | Εισαγωγή

Η εκχύλιση στερεού-υγρού χρησιμοποιείται για την απομόνωση ουσιών που βρίσκονται σε στερεό υλικό, με χρήση ενός υγρού διαλύτη, και εφαρμόζεται ευρέως στην Χημεία Φυσικών Προϊόντων. Υπάρχουν πολλές μεθοδολογίες εκχύλισης στερεού-υγρού, όπως η εκχύλιση με εμβροχή (maceration), με εξίκμαση (percolation), με έγχυση (infusion), με αναρροή (reflux), με αφέψηση (decoction), η εν θερμώ εκχύλιση (digestion) και η εκχύλιση Soxhlet.

Η συσκευή Soxhlet είναι σχεδιασμένη ώστε, μέσω συνεχούς εκχύλισης, μια ουσία (ή μια ομάδα ουσιών) μέσα σ' ένα στερεό, να μπορεί να εκχυλιστεί με πολύ αποτελεσματικό τρόπο. Με την συσκευή Soxhlet, πραγματοποιούνται αυτόματα (συνεχώς) πολλαπλές εκχυλίσεις χρησιμοποιώντας τον ίδιο διαλύτη, ο οποίος εξατμίζεται και συμπυκνώνεται μέσω μιας ανακύκλωσης στην συσκευή.

Η συσκευή Soxhlet αποτελείται από τα κάτωθι μέρη (**Εικόνα 3.1**):

- Συμπυκνωτής αναρροής που ψύχεται με νερό.
- Το φυσίγγιο Soxhlet, στο οποίο τοποθετείται το προς εκχύλιση στερεό
- Η στήλη εκχύλισης Soxhlet, όπου τοποθετείται το φυσίγγιο με το προς εκχύλιση στερεό και φέρει σιφώνιο, μέσω του οποίου ο διαλύτης επιστρέφει μετά την εκχύλιση στην φιάλη.
- Σφαιρική φιάλη με μέγεθος 3 – 4 φορές το μέγεθος της στήλης εκχύλισης.

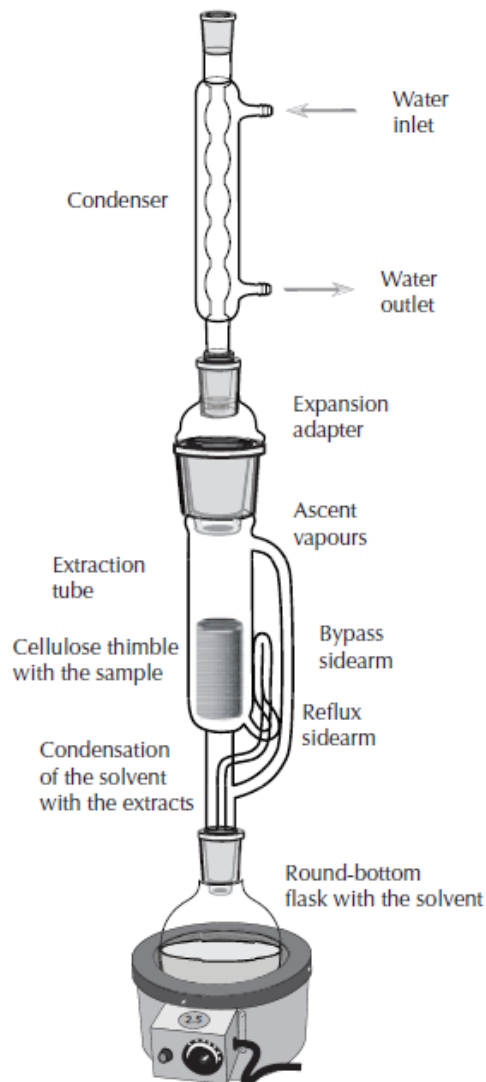
Το προς εκχύλιση στερεό τοποθετείται στο φυσίγγιο, το κατασκευάζεται είναι από διηθητικό χαρτί. Ακολούθως, το φυσίγγιο εισάγεται στην στήλη εκχύλισης. Η σφαιρική φιάλη πληρώνεται με διαλύτη έως το μισό του όγκου της, προστίθενται κόκκοι πορσελάνης προς υποβοήθηση του βρασμού, και ξεκινάει η θέρμανση.

Θερμαινόμενος ο διαλύτης εξατμίζεται και οι ατμοί ανέρχονται μέσω της στήλης εκχύλισης στο τμήμα που ψύχεται από το νερό. Εκεί οι ατμοί συμπυκνώνονται και εισέρχονται στάγδην στην στήλη εκχύλισης όπου βρίσκεται το φυσίγγιο με το προς εκχύλιση στερεό υλικό. Οι εκχυλισίμη ουσία (ή ουσίες) διαλύονται τότε στον διαλύτη.

Μέσω του σιφωνίου, όταν η στήλη πληρωθεί με επαρκή ποσότητα διαλύτη, ο διαλύτης που περιέχει τις διαλυμένες ουσίες εισέρχεται στην σφαιρική φιάλη όπου τοποθετήθηκε εξ αρχής. Εκεί επαναθερμαίνεται, εξατμίζεται πάλι και η διαδικασία επαναλαμβάνεται, έως ότου θεωρηθεί ότι ολοκληρώθηκε.

Σκοπός της άσκησης είναι η παραλαβή ελαίου από φυτικό υλικό (φυστίκια εμπορίου). Τα φυτικά έλαια αποτελούνται σχεδόν κατά 99% από τριακυλγλυκερόλες (τριγλυκερίδια). Είναι ουσίες-κλειδιά για την ανθρώπινη διατροφή, αλλά χρησιμοποιούνται και για άλλους σκοπούς, όπως π.χ. παραγωγή βιοντίζελ, λιπαντικά, καλλυντικά, σαπούνια κτλ.

Η παραλαβή ελαίου από ένα φυτικό υλικό επιτρέπει την μέτρηση της περιεκτικότητας, αλλά και την περαιτέρω εξέταση του ελαίου, για τον έλεγχο ποιότητας. Σ' αυτό το πείραμα, έλαιο από ξηρούς καρπούς παραλαμβάνεται μέσω συνεχούς εκχύλισης Soxhlet, με διαλύτη πετρελαϊκό αιθέρα.



Εικόνα 3.1: Συσκευή εκχύλισης Soxhlet.

3.2 | Υλικά και μέθοδοι

Συσκευή Soxhlet, εμπορικά διαθέσιμοι συσκευασμένοι ξηροί καρποί, πετρελαϊκός αιθέρας.

3.2.1 Διαδικασία

Ζυγίζονται 20 g ξηρών καρπών. Με χρήση ιγδίου, τα φιστίκια συνθλίβονται για να σχηματίσουν ένα όσο το δυνατόν ομοιογενές υλικό. Επίσης, κατασκευάζεται φυσίγγιο από διηθητικό χαρτί και τοποθετείται στο εσωτερικό το προς εκχύλιση υλικό. Στην προζυγισμένη σφαιρική φιάλη της συσκευής Soxhlet μεταφέρονται 250 mL πετρελαϊκού αιθέρα και το φυσίγγιο τοποθετείται στην στήλη εκχύλισης. Τοποθετείται τέλος και ο κάθετος ψυκτήρας και εκτελούνται 2 – 3 κύκλοι εκχύλισης.

Μετά το πέρας της εκχύλισης, ο διαλύτης αφήνεται να εξατμισθεί υπό ήπια θέρμανση μέσα στον απαγωγό, και η σφαιρική φιάλη ζυγίζεται αφότου επανέλθει σε θερμοκρασία

περιβάλλοντος. Η διαφορά βάρους (φιάλη + έλαιο) – φιάλη θα μας δώσει το βάρος του καθαρού ελαίου.

3.3 | Αποτελέσματα και συζήτηση

Υπολογίζεται η λιποπεριεκτικότητα του ελαίου συγκεκριμένου ξηρού καρπού και γίνεται σύγκριση με βιβλιογραφικές πηγές.

3.4 | Συμπεράσματα

Αποτελεσματικότητα της διεργασίας

Βιβλιογραφία

Isac-García J., Dobado J.A., Calvo-Flores F.G, Martínez-García H., **2016**. Chapter 7: Basic Operation Experiments. In “**Experimental Organic Chemistry: Laboratory Manual**”, Elsevier, London, U.K.

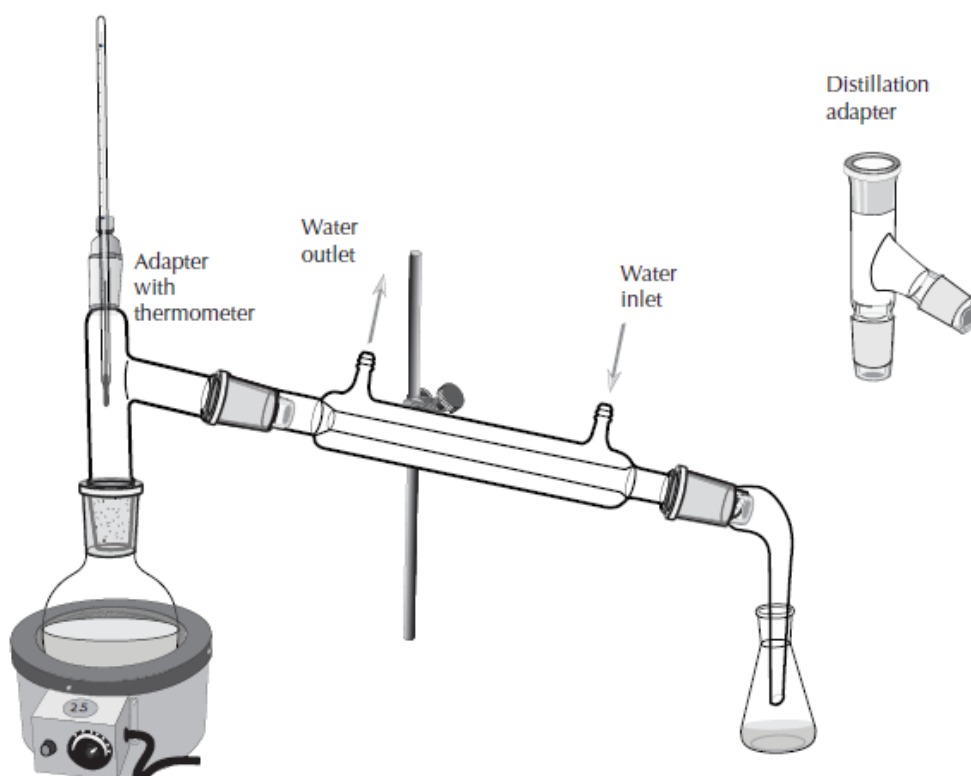
ΑΣΚΗΣΗ 4^η: Απόσταξη (απλή)

Απομόνωση αιθανόλης από οίνο

4.1 | Εισαγωγή

Η απλή απόσταξη είναι μια τεχνική καθαρισμού υγρών μέσω αφαίρεσης μη-πτητικών προσμίξεων ή για τον διαχωρισμό μιγμάτων μη-αναμίξιμων υγρών με διαφορά στο σημείο ζέσεως τουλάχιστον 25 °C, αλλά με σημεία ζέσεως < 150 °C σε ατμοσφαιρική πίεση.

Η διεργασία διέπεται από τον νόμο του Raoult. Η συνήθης συσκευή για την διεξαγωγή απλής απόσταξης δίνεται στην **Εικόνα 4.1**. Απαιτείται σφαιρική φιάλη με σμύρισμα, η οποία θα πρέπει να πληρώνεται κατά 50% του όγκου της, ένας προσαρμογέας απόσταξης, ένα θερμόμετρο, ένας ψυκτήρας νερού, ένας δεύτερος προσαρμογέας απόσταξης και ένα δοχείο συλλογής.



Εικόνα 4.1: Συσκευή απλής απόσταξης.

Η πηγή θερμότητας μπορεί να είναι θερμαντική πλάκα ή θερμαντικός μανδύας, και για ομοιογενή βρασμό, θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κόκκοι πορσελάνης. Ο προσαρμογέας απόσταξης (τριπλός) επιτρέπει την εφαρμογή θερμόμετρου και την διοχέτευση των ατμών στον συμπυκνωτή. Το θερμόμετρο είναι έτσι τοποθετημένο, ώστε ο βολβός του να βρίσκεται μέσα στο ρεύμα των ατμών. Το κύκλωμα ψύξης του συμπυκνωτή θα πρέπει να είναι κατ' αντιρροή προς τους υγροποιημένους ατμούς.

Ένα από τα χαρακτηριστικά ποιότητας των αλκοολούχων ποτών είναι η επί τοις εκατό (%) κατ' όγκο συγκέντρωση σε αιθανόλη (αλκοολικός τίτλος). Σ' ένα μίγμα νερού/αιθανόλης, αυτός ο προσδιορισμός μπορεί να γίνει απ' ευθείας μέσω μέτρησης μ' ένα αλκοολόμετρο.

Εντούτοις, οι οίνοι είναι περίπλοκα μίγματα που περιέχουν νερό, αιθανόλη, σάκχαρα, οργανικά οξέα, κτλ. Επομένως, ο αλκοολικός τίτλος δεν μπορεί να προσδιοριστεί απευθείας, αλλά είναι απαραίτητο το στάδιο της απλής απόσταξης.

Το νερό και η αιθανόλη έχουν σημεία ζέσεως 100.0 and 78.3 °C, αντίστοιχα. Αμφότερα σχηματίζουν αζεοτροπικό μίγμα με σημείο ζέσεως 78.2 °C, με σύσταση 96% κατά μάζα σε αιθανόλη. Ο σχηματισμός αζεοτροπικού μίγματος δεν επιτρέπει τον πλήρη διαχωρισμό νερού/αιθανόλης με απλή απόσταξη.

Στους οίνους, ο αλκοολικός τίτλος εκφράζεται σε % ο/ο σε αιθανόλη και συνήθως κυμαίνεται από 10 – 13. Σ' αυτό το πείραμα, η αιθανόλη που περιέχεται σε δείγμα οίνου θ' αποσταχθεί, με σκοπό τον προσδιορισμό του αλκοολικού τίτλου.

4.2 | Υλικά και μέθοδοι

Συσκευή απόσταξης, αλκοολόμετρο, εμπορικώς διαθέσιμος εμφιαλωμένος οίνος.

4.2.1 Διαδικασία

Ακριβής όγκος οίνου 100 mL μεταφέρεται με ογκομετρική φιάλη σε σφαιρική φιάλη των 250 mL. Η ογκομετρική φιάλη ξεπλένεται με περίπου 50 mL απιονισμένου νερού για ποσοτική μεταφορά του δείγματος.

Το νερό έκπλυσης προστίθεται στην σφαιρική φιάλη μαζί με κόκκους πορσελάνης, συναρμολογείται η συσκευή απόσταξης και ξεκινάει η θέρμανση. Το απόσταγμα συλλέγεται μέχρις όγκου περίπου 90 mL.

Το απόσταγμα αφήνεται να ψυχθεί σε θερμοκρασία δωματίου, μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη και συμπληρώνεται στον όγκο με απιονισμένο νερό. Ακολούθως, όγκος περίπου 100 mL μεταφέρεται σε ογκομετρικό κύλινδρο και γίνεται μέτρηση της θερμοκρασίας και μέτρηση με αλκοολόμετρο.

4.3 | Αποτελέσματα και συζήτηση

Η μέτρηση της αλκοολοπεριεκτικότητας διορθώνεται ως προς την θερμοκρασία με βάση τους σχετικούς πίνακες.

4.4 | Συμπεράσματα

Σχολιάζεται η περιεκτικότητα σε αιθανόλη και αν το αποτέλεσμα συμφωνεί με τα δεδομένα της συσκευασίας.

Βιβλιογραφία

Isac-García J., Dobado J.A., Calvo-Flores F.G, Martínez-García H., **2016**. Chapter 7: Basic Operation Experiments. In “**Experimental Organic Chemistry: Laboratory Manual**”, Elsevier, London, U.K.

ΑΣΚΗΣΗ 5^η: Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας

Διαχωρισμός χρωστικών από φύλλα σπανακιού

5.1 | Εισαγωγή

5.1.1 Χρωματογραφικές τεχνικές

Η χρωματογραφία είναι μια τεχνική διαχωρισμού με πολλές και ποικίλες μεταβλητές. Σε όλους τους χρωματικούς διαχωρισμούς υπάρχουν δύο φάσεις: η κινητή (mobile phase) και η στατική φάση (stationary phase). Η κινητή μετακινείται σε σχέση με την στατική, διατηρώντας συνεχώς επαφή με την στατική.

Το δείγμα εισάγεται στην κινητή φάση, και οι προς διαχωρισμό ουσίες κατανέμονται μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης. Οι ουσίες του μίγματος που διαχωρίζονται, βρίσκονται στην κάθε φάση για διαφορετικό χρονικό διάστημα, κι έτσι επέρχεται διαχωρισμός. Αν μια ουσία βρίσκεται στην κινητή φάση για περισσότερο χρονικό διάστημα, κινείται ταχύτερα, ενώ αν συγκρατείται ισχυρότερα από την στατική φάση, η κίνησή του είναι αργή.

Οι πλέον κοινή χρωματογραφία είναι η στερεού-υγρού και εφαρμόζεται με δύο μεθοδολογίες: την χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (thin-layer chromatography - TLC) και την χρωματογραφία στήλης (column chromatography - CC).

5.1.2 Χρωματογραφία λεπτής στιβάδας (TLC)

Αυτός ο τύπος χρωματογραφίας χρησιμοποιείται για:

- Την ταυτοποίηση ουσιών ενός μίγματος
- Την ταυτοποίηση δύο ουσιών
- Την παρακολούθηση της πορείας μιας αντίδρασης
- Τον προσδιορισμό των κατάλληλων συνθηκών για τον διαχωρισμό ενός μίγματος με CC.
- Την παρακολούθηση της ανάπτυξης μιας CC

Το δείγμα τοποθετείται στην στιβάδα (στρώμα) και προσροφάται στην επιφάνεια μέσω ηλεκτροστατικών δυνάμεων (van der Waals, δεσμός υδρογόνου κτλ.). Κατόπιν, όταν η χρωματογραφική πλάκα εκτεθεί στην ροή του διαλύτη, οι ουσίες κατανέμονται μεταξύ του προσροφητικού υλικού και του διαλύτη.

Τα πιο κοινά προσροφητικά υλικά στην TLC είναι:

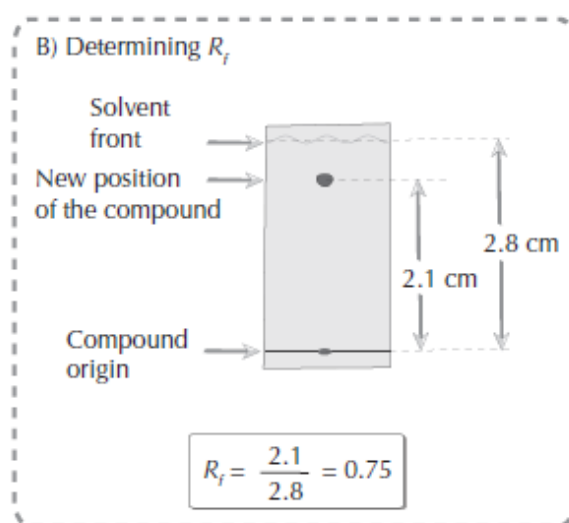
- Η silica gel (SiO_2) (χρησιμοποιείται στο 80% των διαχωρισμών)
- Η alumina (Al_2O_3) (όξινη, ουδέτερη ή βασική)
- Η κυτταρίνη
- Το πολυαμίδιο

Τα προσροφητικά υλικά τοποθετούνται πάνω σε πλάκες, οι οποίες είναι αδρανή υποστηρικτικά υλικά από γυαλί, αλουμίνιο και πολυεστέρα.

Για την υποβοήθηση της ταυτοποίησης των ουσιών ενός μίγματος, χρησιμοποιείται συχνά ο δείκτης R_f (ratio to front), που υπολογίζεται ως εξής:

$$R_f = \frac{\text{Distance traveled by the compound}}{\text{Distance traveled by the solvent}}$$

Ένα παράδειγμα φαίνεται στην **Εικόνα 5.1**. Συνιστάται η χρήση ενός διαλύτη με τον οποίο οι ουσίες του προς ανάλυση δείγματος θα δώσουν R_f περίπου 0.3–0.5. Κι αυτό γιατί ουσίες με $R_f > 0.7$ ή < 0.2 , μπορεί στην πραγματικότητα είναι μίγματα ουσιών. Η καταλληλότητα ενός διαλύτη είναι υπόθεση εκτενούς μελέτης διαλυτών ή μιγμάτων με διαφορετική πολικότητα.

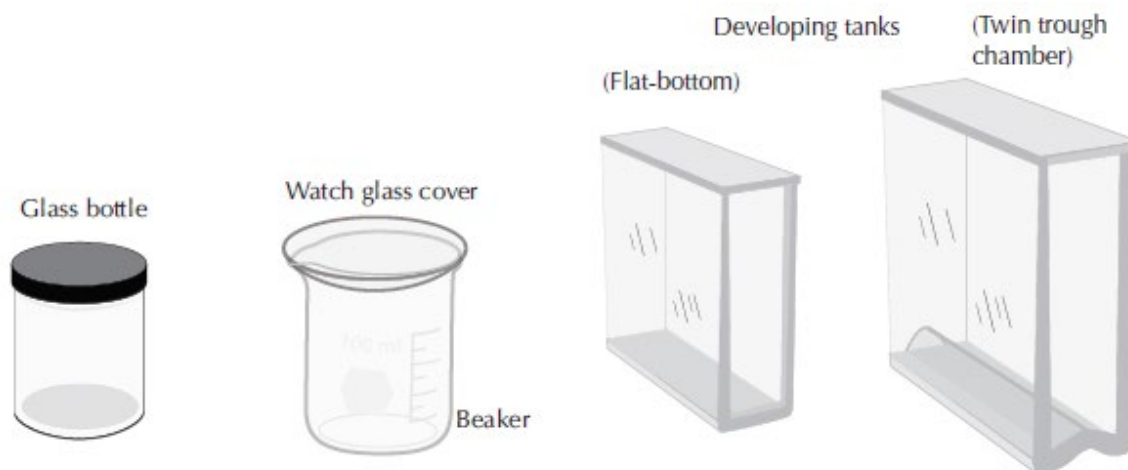


Εικόνα 5.1: Υπολογισμός του R_f με βάση τα χρωματογραφικά δεδομένα.

Για άπολες ουσίες, μπορεί να χρησιμοποιηθεί εξάνιο. Για ουσίες με λίγο υψηλότερη πολικότητα, τα μίγματα εξανίου/οξικού αιθυλεστέρα ή εξανίου/διαιθυλαιθέρα είναι κατάλληλα. Για πιο πολικές ουσίες, χρησιμοποιούνται συνήθως μίγματα CH_2Cl_2 /μεθανόλης σε διάφορες αναλογίες.

Ο θάλαμος έκλυσης (χρωματογραφικός θάλαμος) είναι ένα κλειστό δοχείο που χρησιμοποιείται για την ανάπτυξη των πλακών TLC (**Εικόνα 5.2**). Η ατμόσφαιρα μέσα στο δοχείο είναι κορεσμένη με τους ατμούς του διαλύτη που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση. Ο θάλαμος πληρώνεται με τον διαλύτη, σε ύψος που δεν φτάνει μέχρι το σημείο τοποθέτησης του προς ανάλυση δείγματος πάνω στην πλάκα TLC.

Όταν το μέτωπο του διαλύτη πλησιάσει το πάνω άκρο της πλάκας, η πλάκα αφαιρείται από τον θάλαμο, αφήνεται για να εξατμιστεί ο διαλύτης από την επιφάνειά της, και ακολουθεί το στάδιο της εμφάνισης.



Εικόνα 5.2: Χρωματογραφικοί θάλαμοι που χρησιμοποιούνται στην TLC.

Αν οι ουσίες ενός δείγματος δεν έχουν χρώμα, απαιτείται η εφαρμογή μιας μεθόδου για την οπτικοποίηση των ουσιών πάνω στην πλάκα TLC (**Εικόνα 5.3**). Αυτές οι μέθοδοι συνήθως είναι:

- Η χρήση λάμπας UV με φίλτρο 254 nm. Όταν χρησιμοποιούνται πλάκες με δείκτη UV, αν οι ουσίες έχουν τουλάχιστον μια χρωμοφόρα ομάδα, τότε κάτω από φως UV εμφανίζονται ως κηλίδες με χρώμα ελαφρύ πράσινο ή κυανό.
- Μίγμα $H_2SO_4/EtOH$ 50%. Είναι ένα γενικό εμφανιστικό αντιδραστήριο, χαμηλού κόστους. Οι πλάκες TLC ψεκάζονται με το αντιδραστήριο και κατόπιν θερμαίνονται. Τότε οι ουσίες εμφανίζονται ως μελανές κηλίδες.
- $KMnO_4$ (3 g)/ K_2CO_3 (10 g)/water (300 mL). Είναι κι αυτό ένα γενικό εμφανιστικό αντιδραστήριο, ασύμβατο μόνο με διαλύτες που περιέχουν αμίνες. Όταν ψεκαστεί η πλάκα TLC, οι ουσίες εμφανίζονται ως κίτρινες και καστανές κηλίδες.
- Φωσφομολυβδαινικό οξύ (10 g)/EtOH (100 mL). Είναι σχετικά υψηλού κόστους και έχει εφαρμογή στην πλειονότητα των οργανικών ουσιών.
- Νιουδρίνη (0.1 g)/οξικό οξύ (2 mL)/ακετόνη (100 mL). Χρησιμοποιείται για αμινοξέα και αζωτούχες ενώσεις.
- Ιώδιο. Χρησιμοποιείται για διάφορες οργανικές ουσίες.

5.1.3 Πειραματική εφαρμογή

Τα φύλλα σπανακιού περιέχουν διάφορα φυτοχημικά, όπως καρροτενοειδή και χλωροφύλλες. Αυτές οι δύο κατηγορίες ενώσεων είναι υπεύθυνες για το χρώμα των φύλλων. Τα καρροτενοειδή είναι ουσίες με κίτρινο – πορτοκαλί χρώμα, ενώ οι χλωροφύλλες (a και b) είναι πράσινες. Τα φύλλα σπανακιού περιέχουν κυρίως χλωροφύλλες και λιγότερα καρροτενοειδή.

Σ' αυτό το πείραμα, οι χρωστικές από φύλλα σπανακιού θα εκχυλιστούν και θα διαχωριστούν με TLC.



Εικόνα 5.3: Μέθοδοι οπτικοποίησης ουσιών πάνω σε πλάκα TLC.

5.2 | Υλικά και μέθοδοι

Ακετόνη, εξάνιο, CaCO_3 , NaCl , άνυδρο Na_2SO_4 , πλάκες TLC.

5.2.1 Προετοιμασία δείγματος

Ζυγίζονται περίπου 2 g φύλλων σπανακιού, καθαρίζονται με νερό, αφαιρούνται οι μίσχοι και τεμαχίζονται με ψαλίδι. Τα τεμαχισμένα φύλλα φέρονται σε ιγδίο μαζί με 22 mL ακετόνης, 3 mL εξανίου, και μικρή ποσότητα CaCO_3 (αποφυγή διάσπασης χλωροφυλλών), με την βοήθεια σπάτουλας.

Το μίγμα συνθλίβεται μέχρις ότου αποχρωματιστούν τα φύλλα και ο διαλύτης λάβει ένα βαθύ πράσινο χρώμα. Το υγρό μεταφέρεται σε διαχωριστική χοάνη (αποφεύγεται η μεταφορά στερεών σωματιδίων), προστίθενται 20 mL εξανίου και 20 mL υδατικού διαλύματος NaCl 10%.

Το μίγμα εκχυλίζεται, η υδατική φάση (κάτω φάση) απορρίπτεται και η οργανική φάση (άνω φάση) μεταφέρεται σε κωνική φιάλη των 50 mL.

Το διάλυμα ξηραίνεται (αφύγρανση) με άνυδρο Na_2SO_4 και ακολουθεί διήθηση για την αφαίρεση του αφυγραντικού.

5.2.2 Χρωματογραφική ανάλυση

Τεμάχιο από διηθητικό χαρτί τοποθετείται εσωτερικά του θαλάμου ανάπτυξης. Ο διαλύτης, (εξάνιο/ακετόνη 7:3) τοποθετείται επίσης μέσα στον θάλαμο, ο οποίος σφραγίζεται. Αυτό επιτρέπει τον κορεσμό του θαλάμου με τους ατμούς του διαλύτη και εμποτίζει το διηθητικό χαρτί.

Στο πλακίδιο TLC (TLC foil) χαράσσεται μια οριζόντια γραμμή περίπου 5 mm από το κάτω άκρο, χρησιμοποιώντας μόνο μολύβι. Ακολούθως, με την βοήθεια πιπέτας Pasteur φέρεται μια σταγόνα εκχυλίσματος πάνω στην γραμμή, και το πλακίδιο τοποθετείται ταχέως μέσα στον θάλαμο ανάπτυξης, όρθιο, με ελαφριά κλίση προς τα πίσω.

Όταν το επίπεδο του διαλύτη ανέλθει λίγα χιλιοστά πριν το πάνω άκρο του πλακιδίου, το πλακίδιο αφαιρείται από τον θάλαμο και αφήνεται έως ότου εξατμιστεί ο διαλύτης (εμφανίζονται έγχρωμες κηλίδες). Κατόπιν, σημειώνεται με μολύβι το μέτωπο του διαλύτη και προσδιορίζονται τα R_f των ουσιών που διαχωρίστηκαν (τα καρροτενοειδή κινούνται γρηγορότερα από τις χλωροφύλλες).

5.3 | Αποτελέσματα και συζήτηση

Καταγράφονται τ' αποτελέσματα με την μορφή πίνακα και συγκρίνονται με τα παρακάτω βιβλιογραφικά δεδομένα.

R_f values and color of different pigments in the spinach leaf.

Pigment	Color	R_f
Carotene	Yellow-orange	0.93
Pheophytin a	Gray	0.55
Pheophytin b	Gray (not visible)	0.47–0.54
Chlorophyll a	Blue-green	0.46
Chlorophyll b	Green	0.42
Xanthophylls	Yellow	0.41
Xanthophylls	Yellow	0.31
Xanthophylls	Yellow	0.17

5.4 | Συμπεράσματα

Σχολιάζεται η επάρκεια της μεθόδου και τα αποτελέσματα.

Βιβλιογραφία

Isac-García J., Dobado J.A., Calvo-Flores F.G, Martínez-García H., **2016**. Chapter 7: Basic Operation Experiments. In “**Experimental Organic Chemistry: Laboratory Manual**”, Elsevier, London, U.K.