

**MATERIAŁY  
DO  
ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH  
Z CHEMII ORGANICZNEJ  
DLA STUDENTÓW BIOLOGII**

**Wydanie II  
poprawione i uzupełnione**

*Pod redakcją  
Arnolda Jarczewskiego*

Zakład Chemii Ogólnej Wydziału Chemii  
Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu

Poznań, 2007

AUTORZY ROZDZIAŁÓW:

*Iwona Binkowska:* [4.3](#), [5.3.2](#), [5.3.3](#), [5.3.4](#), [5.3.5](#), [5.3.6](#), [5.3.7](#)

*Włodzimierz Gałęzowski* [5.1.2.1](#), [5.2.1.1](#), [5.2.2.1](#), [5.2.3.1](#)

*Kazimierz Minksztym:* [4.5](#), [5.1.1](#), [5.1.2](#), [5.2.1](#)

*Iwona Nowak:* [4.1](#), [4.2](#), [4.4](#), [5.1.3](#), [5.1.4](#), [5.2.2](#)

*Żaneta Wisłocka:* [3](#), [5.1.5](#), [5.2.3](#), [5.3.1](#)

Opracowała: Iwona Nowak

1	WARUNKI ZALICZENIA ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH.....	7
2	SPOSÓB PRZEDSTAWIANIA WYNIKÓW .....	9
3	ZASADY BEZPIECZNEJ PRACY W LABOLATORIUM CHEMICZNYM .....	10
4	OCZYSZCZANIE ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH.....	23
4.1	KRYSTALIZACJA .....	24
4.1.1	KRYSTALIZACJA Z ROZPUSZCZALNIKÓW ORGANICZNYCH .....	27
4.1.2	KRYSTALIZACJA Z ROZTWORÓW WODNYCH.....	28
4.2	SĄCZENIE .....	29
4.3	EKSTRAKCJA .....	31
4.3.1	SUSZENIE ROZPUSZCZALNIKÓW I ROZTWORÓW ORGANICZNYCH .	32
4.4	DESTYLACJA .....	35
4.4.1	DESTYLACJA POD CIŚNIENIEM ATMOSFERYCZNYM.....	36
4.4.2	DESTYLACJA POD ZMNIJSZONYM CIŚNIENIEM .....	37
4.4.3	DESTYLACJA Z PARĄ WODNĄ .....	39
4.4.4	OGRZEWANIE POD CHŁODNICĄ ZWROTNĄ.....	41
4.5	CHROMATOGRAFIA.....	42
4.5.1	PODZIAŁ METOD CHROMATOGRAFICZNYCH .....	42
4.5.2	WYBRANE METODY CHROMATOGRAFICZNE .....	47
4.5.2.1	CHROMATOGRAFIA CIECZOWA.....	47
4.5.2.2	CHROMATOGRAFIA BIBUŁOWA .....	48
4.5.2.3	CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA .....	49
4.5.2.4	CHROMATOGRAFIA KOLUMNOWA.....	52
5	PREPARATYKA ORGANICZNA.....	53
5.1	PREARATY JEDNOETAPOWE.....	53
5.1.1	POCHODNA 3,4-DIHYDROPIRYMIDYN-2-ONU .....	53
5.1.1.1	OTRZYMYWANIE POCHODNEJ 3,4-DIHYDROPIRYMIDYN-2-ONU ...	55
5.1.2	PARACETAMOL .....	56
5.1.2.1	OTRZYMYWANIE PARACETAMOLU.....	58
5.1.3	ASPIRYNA.....	59
5.1.3.1	OTRZYMYWANIE ASPIRYNY .....	62
5.1.4	OCTAN ETYLU .....	64
5.1.4.1	OTRZYMYWANIE OCTANU ETYLU.....	67
5.1.5	ACETYLOGLICZYNA .....	70

5.1.5.1	OTRZYMYWANIE ACETYLOGLICYNY .....	81
5.2	IZOLACJE Z PRODUKTÓW NATURALNYCH .....	82
5.2.1	KOFEINA .....	82
5.2.1.1	EKSTRAKCJA KOFEINY Z HERBATY .....	84
5.2.2	KWAS CYTRYNOWY .....	86
5.2.2.1	IZOLACJA KW. CYTRYNOWEGO Z OWOCÓW CYTRUSOWYCH .....	89
5.2.3	LAKTOZA .....	91
5.2.3.1	IZOLACJA LAKTOZY Z MLEKA .....	104
5.3	PREPARATY DWUETAPOWE .....	107
5.3.1	PIĘCIOOCTAN-D-GLUKOZY .....	107
5.3.1.1	OTRZYMYWANIE PIĘCIOOCTANU $\beta$ -D-GLUKOZY/ <b>ETAP I</b> .....	107
5.3.1.2	OTRZYMYWANIE PIĘCIOOCTANU $\alpha$ -D-GLUKOZY/ <b>ETAP II</b> .....	109
5.3.2	ACETANILID .....	111
5.3.2.1	OTRZYMYWANIE ACETANILIDU / <b>ETAP I</b> .....	113
5.3.3	p-NITROACETANILID .....	115
5.3.3.1	OTRZYMYWANIE p-NITROACETANILIDU / <b>ETAP II</b> .....	117
5.3.4	KWAS SULFANILOWY .....	119
5.3.4.1	OTRZYMYWANIE KWASU SULFANILOWEGO / <b>ETAP I</b> .....	122
5.3.5	ORANŻ METYLOWY .....	124
5.3.5.1	OTRZYMYWANIE ORANŻU METYLOWEGO/ <b>ETAP II</b> .....	126
5.3.6	CYKLOHEKSANON .....	129
5.3.6.1	OTRZYMYWANIE CYKLOHEKSANONU / <b>ETAP I</b> .....	131
5.3.7	OKSYM CYKLOHEKSANONU .....	134
5.3.7.1	OTRZYMYWANIE OKSYMU CYKLOHEKSANONU / <b>ETAP II</b> .....	136
6	KARTY CHARAKTERYSTYK .....	138
7	PIŚMIENNICTWO .....	145
8	INDEKS .....	147

## WPROWADZENIE

Chemia związków węgla, zwana inaczej chemią organiczną, została zapoczątkowana wiekopomnym doświadczeniem Friedricha Wöhlera w 1828 roku, który ogrzewając cyjanian amonu, związek uważany jako *par excellence* nieorganiczny, otrzymał mocznik, który był produktem organizmów żywych. Do tego roku uważano, iż substancja taka i jej podobne, może powstać wyłącznie jako produkt organizmu żywego, który dysponował siłą sprawczą zwaną „vis vitalis”. Wöhler udowodnił tym samym, że związki węgla mogą być produktami reakcji zachodzących poza organizmami żywymi. Początkowo, syntetyzowano głównie związki, izolowane dotąd z organizmów żywych. Wnet, jednak rozpoczęto syntetyzować inne, które nigdy nie były produkowane przez organizmy żywe. Obecnie, liczba otrzymanych na drodze syntezy związków jest trudna do określenia, jako że przybywa ich w sposób lawinowy.

Trudno wyobrazić sobie nasze życie bez związków syntetyzowanych w laboratoriach. Zdolność tworzenia połączeń wielokrotnych  $C = O$ ,  $C \equiv N$ ,  $C = S$  oraz długich łańcuchów węglowych  $-[C - C]-$  wynika z wysokiej energii wiązania między atomami węgla (83kcal/mol), jak i samych właściwości tego pierwiastka. Brak orbitalu d i wysokie potencjały jonizacyjne powodują, że dla atomów węgla nie można spodziewać się jonów czterododatnich. Stąd węgiel nie tworzy związków kompleksowych. Wysoka reaktywność związków węgla i duża trwałość powstałych produktów leży u podstawy chemii zwanej organiczną. Sama nazwa jest mało precyzyjna, gdyż w większości traktuje o związkach, które z organizmami żywymi, a więc z organizmami, mają już niewiele wspólnego, to jednak nazwa ta zwyczajowo została utrzymana dla wszystkich połączeń węglowych za wyjątkiem prostych pochodnych kwasu węglowego. Należy zaznaczyć, że wiele prostych związków organicznych wykazuje silne działanie fizjologiczne a inne stanowią wyjście dla substancji o takim działaniu.

Ten skrypt skierowany jest do studentów biologii. Jego celem jest zapoznanie z prostymi operacjami laboratoryjnymi towarzyszącymi syntezie organicznej i identyfikacją otrzymanych preparatów. Naszym oczekiwaniem jest, aby przyszły biolog zrozumiał jedność świata i zachodzących w nim zmian. Wiedza tutaj zawarta pozwoli na szersze uogólnienie i wyjście w kierunku nauk pokrewnych takich jak biochemia, fizjologia, toksykologia.

Przedstawione reakcje syntez prostych związków, ich oczyszczanie i identyfikacja skłoni do rozważenia procesów jednostkowych, zachodzących na poziomie molekularnym, również w organizmach żywych.

Spełnienie przez państwa tych założeń będzie dla nas satysfakcjonujące. Mamy nadzieję, że przeprowadzone eksperymenty zachęcą do spojrzenia na świat ożywiony i nieożywiony w aspekcie zachodzących tam przemian chemicznych.

*Życzymy, owocnych, przyjemnych i bezpiecznych eksperymentów.*

# 1 WARUNKI ZALICZENIA ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH

1. Warunkiem zaliczenia ćwiczeń jest samodzielne wykonanie, wyznaczonego przez prowadzącego ćwiczenie, zestawu preparatów obejmującego: **dwa preparaty jedno-etapowe i jeden preparat dwuetapowy** oraz zaliczenie następujących kolokwiumów:
  - **KOLOKWIUM I**, wstępne, z zakresu szkoły średniej
  - **KOLOKWIUM II** z następującego zakresu materiału:
    1. alkany, alkeny, alkiny
    2. związki aromatyczne
    3. kwasy karboksylowe i dikarboksylowe
    4. chlorki kwasowe
    5. bezwodniki kwasowe
    6. amidy
    7. hydroksykwasy
    8. estry
    9. laktony
    10. tłuszcze
  - **KOLOKWIUM III** z następującego zakresu materiału:
    1. alkohole, fenole
    2. aldehydy
    3. ketony
    4. aminy
    5. aminokwasy
    6. laktydy
    7. peptydy
  
2. W czasie ćwiczeń obowiązuje przygotowanie teoretyczne, obejmujące zagadnienia związane z wykonywanym ćwiczeniem w tym:
  - reakcje zachodzące w poszczególnych etapach wykonywania preparatu
  - nazewnictwo substratów i produktów
  - sens poszczególnych czynności wykonywanych w czasie ćwiczenia
  - obliczenie wydajności reakcji oraz identyfikacja produktu.

3. Warunkiem rozpoczęcia ćwiczeń jest zaznajomienie się z przepisami BHP oraz zasadami udzielania pierwszej pomocy. Naruszenie przepisów BHP lub brak przygotowania teoretycznego skutkuje zawieszeniem prawa do wykonywania ćwiczeń.
4. Obowiązuje prowadzenie notatek, zgodnie ze sposobem przedstawiania wyników zamieszczonym w materiałach do ćwiczeń i zaleceniami prowadzącego.

*Podręczniki:*

1. R.Morrison, R.Boyd „*Chemia Organiczna*” tom I i II
2. P.Mastalerz „*Chemia Organiczna*”
3. J.D.Roberts, M.C.Caseiro „*Chemia Organiczna*”
4. A.Vogel „*Preparatyka Organiczna*”



## 2 SPOSÓB PRZEDSTAWIANIA WYNIKÓW

Student, rozpoczynając prace w laboratorium, musi zapoznać się wcześniej ze szczegółami doświadczalnymi dotyczącymi danego preparatu. Notatnik laboratoryjny jest miejscem gromadzenia informacji niezbędnych do przeprowadzenia doświadczenia. Jest on ponadto miejscem przechowywania opisu wykonania eksperymentu i jego wyniku. Prowadzenie notatek jest zatem nieodłączną częścią doświadczenia.

Prawidłowy opis ćwiczenia powinien zawierać wszystkie informacje na temat tego co zostało zrobione i co się wydarzyło, z podaniem wszystkich szczegółów tak, aby osoba trzecia zrozumiała jak zostało wykonane ćwiczenie i mogła je powtórzyć bez uprzedniego przygotowania. Wyniki doświadczeń należy notować, **podczas pracy!!**, w zeszycie do tego przeznaczonym, przy czym wygodnie jest lewą stronę przeznaczyć na brudnopis (obliczenia itp.), a prawą na końcowe sprawozdanie.

Elementy sprawozdania:

1. Data
2. Tytuł ćwiczenia
3. Schemat reakcji
4. Mechanizm reakcji
5. Opis w punktach kolejnych etapów syntezy. Notatki należy prowadzić w trakcie wykonywania ćwiczenia!
6. Masa otrzymanego związku
7. Wydajność wyrażona w procentach
8. Zakres temperatury wrzenia\*. Porównanie z danymi literaturowymi.
9. Zakres temperatury topnienia\*. Porównanie z danymi literaturowymi.
10. Opis wyniku testu charakterystycznego dla danego produktu\*
11. Opis wyniku chromatografii cienkowarstwowej\*
12. Uwagi, komentarz

\*jeśli dotyczy

### **3 ZASADY BEZPIECZNEJ PRACY W LABORATORIUM CHEMICZNYM**

Każda osoba podejmująca pracę w laboratorium powinna dokładnie przestudiować instrukcje bezpieczeństwa pracy obowiązujące w laboratorium. Należy także zapoznać się z wyposażeniem zapewniającym bezpieczeństwo oraz z zasadami zachowania się podczas ewentualnych wypadków.

Ryzyko wypadku można zminimalizować poprzez stosowanie się do wszystkich obowiązujących instrukcji bezpiecznej pracy oraz dokładne poznanie właściwości używanych związków chemicznych. Jeżeli, mimo wszystko, zdarzy się wypadek, jego konsekwencje mogą być ograniczone do minimum poprzez stosowanie odpowiedniej procedury.

Jeżeli zaistnieją jakiegokolwiek wątpliwości odnośnie bezpiecznego stosowania poszczególnych odczynników chemicznych lub substancji pomocniczych, bądź też używanych przyrządów i urządzeń, należy zasięgnąć porady u osoby kierującej ćwiczeniami laboratoryjnymi.

Aby zapobiegać wypadkom podczas pracy w laboratorium, należy przestrzegać następujących zasad:

## 10 PRZYKAZAŃ BEZPIECZNEJ PRACY W LABORATORIUM\*

1. Chroń oczy – włóż okulary ochronne ilekroć jesteś w laboratorium.
2. Nie wykonuj samotnie niebezpiecznych eksperymentów.
3. Znaj lokalizację i sposób użycia sprzętu ratunkowego znajdującego się w laboratorium (gaśnice, natryski, wyciągi, maski przeciwgazowe, środki neutralizujące, sorbenty, apteczka) oraz wyjść awaryjnych.
4. Nie pal, nie pij i nie jedz w laboratorium.
5. Zapoznaj się z właściwościami fizykochemicznymi oraz toksycznymi wszystkich odczynników, których zamierzasz użyć. Opracuj zawnazu sposób postępowania na wypadek awarii według zasady „najgorszego scenariusza” (rozlanie, wysypanie, pożar, eksplozja), a także przygotuj odpowiednie odtrutki lub substancje neutralizujące w odpowiedniej ilości.
6. Nie wyrzucaj żadnych niebezpiecznych substancji bez ich uprzedniego unieszkodliwienia. Wydzielające się szkodliwe pary lub gazy muszą być bezwarunkowo absorbowane. Przygotuj odpowiednie absorbenty.
7. Pamiętaj, że butla z gazem jest potencjalną bombą, podobnie eksykator próżniowy lub zatopiona ampułka.
8. Nie pipetuj ustami.
9. Nie używaj odczynników bez etykiet. Starannie etykietuj swoje produkty.
10. Uważaj na innych, w laboratorium zachowaj ciszę i spokój. Jeżeli masz problem, przedyskutuj go z osobą kompetentną. Przewiduj skutki swojego postępowania i bądź przygotowany do eksperymentów.

\* M. Soroka, Samouczek BHP w laboratorium chemii organicznej, *Laboratoria, aparatura, badania*, 2002, 3, 24-31

## ODZIEŻ OCHRONNA W LABORATORIUM CHEMICZNYM

Podczas pracy w laboratorium chemicznym należy zawsze zakładać fartuch, ochronne okulary i, jeżeli jest to konieczne, rękawice. Rękawice przeznaczone do pracy z odczynnikami chemicznymi **nie powinny utrudniać** posługiwania się sprzętem laboratoryjnym. Fartuch powinien być zapinany na guziki (nie stosować zamków błyskawicznych) i sporządzony z materiału bawełnianego lub wełnianego. Nie należy używać fartuchów uszytych z łatwopalnych materiałów syntetycznych. Jeżeli osoba pracująca w laboratorium nosi długie włosy, powinna je związać lub schować pod odpowiednim bawełnianym czepkiem lub chustą.

## ZASADY OSTROŻNEJ PRACY W LABORATORIUM CHEMICZNYM

***Przeciwdziałanie powstawaniu ładunków elektrostatycznych.*** Ładunki elektrostatyczne, gromadzące się na przykład na plastikowych powierzchniach, mogą być przyczyną zapłonu niektórych substancji. Należy za wszelką cenę przeciwdziałać powstawaniu ładunków elektrostatycznych i unikać iskrzenia. Dlatego należy nosić odzież z włókien naturalnych. Ciecze łatwopalne powinno się przelewać wzdłuż ścianek naczynia. Należy stosować lejki lub wkraplacze sięgające dna napełnianego naczynia, co zapobiega rozpryskiwaniu i parowaniu przelewanej cieczy.

***Przenoszenie i podnoszenie narażonych na rozbicie naczyń z odczynnikami chemicznymi.*** Podnosząc lub przenosząc naczynia z chemikaliami, należy chwycić je nie tylko za szyjkę, lecz także podtrzymywać je od strony dna. Specjalnej ostrożności wymagają silnie ochłodzone naczynia szklane, bowiem kondensująca się na ich powierzchni woda powoduje, iż są one śliskie i łatwo wysuwają się z rąk.

***Ogrzewanie.*** Podczas ogrzewania istotne jest dobranie odpowiedniego medium grzewczego. Media grzewcze powinny charakteryzować się dobrym przewodnictwem, wysoką temperaturą wrzenia, niską lotnością i palnością oraz brakiem toksyczności. Do ogrzewania w temperaturze do 100°C doskonale nadaje się łaźnia wodna. Ogrzewanie w temperaturze do 250°C prowadzi się zwykle w łaźniach z olejem silikonowym. W preparatyce organicznej rzadko stosowane są łaźnie piaskowe ze względu na złe przewodnictwo piasku, powodujące nierównomierne ogrzewanie i związaną z tym, niepewną kontrolę temperatury. Bardzo przydatne są

łaźnie elektryczne - czasie grzejne, w których spirale grzejne są całkowicie odizolowane niepalną tkaniną.

**Chłodzenie.** Możliwość rozkładu wielu związków chemicznych oraz egzotermiczny przebieg niektórych reakcji wymaga chłodzenia mieszanin reagujących z zewnątrz. Dobór mieszaniny chłodzącej uzależniony jest od temperatury wymaganej w danym procesie. Tabela 1 przedstawia przykłady mieszanin chłodzących i uzyskiwane obniżenie temperatury przy ich stosowaniu.

**Tabela 1 Mieszaniny chłodzące**

Lp.	Skład mieszaniny chłodzącej	Stosunek wagowy składników	Uzyskiwana temperatura [°C]
1.	NaCl + pokruszony lód	1 : 3	od -5 do -18
2.	CaCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O + pokruszony lód	5 : 3	od -40 do -50
3.	NH <sub>4</sub> Cl + NaNO <sub>3</sub> + woda	1 : 1 : 1-2	od -15 do -20
4.	NH <sub>4</sub> Cl + woda	3 : 10	do -15
5.	Na <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ·5H <sub>2</sub> O + woda	11 : 10	do -8
6.	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub> + woda	3 : 5	do -13
7.	Stały CO <sub>2</sub> (suchy lód) w alkoholu etylowym lub acetonie		od -72 do -78
8.	Ciekły azot		ok. -160

Zwykle mieszaniny chłodzące, obniżające temperaturę poniżej -50°C, przygotowuje się w odpowiednich „szerokoszyjnych” termosach. Specjalne termosy stosuje się do pracy z ciekłym azotem. Ponieważ tlen ma tendencję do skraplania się w ciekłym azocie, istnieje niebezpieczeństwo wybuchu. Jeżeli w skroplonym azocie pojawi się niebieskie zabarwienie, wskazujące na obecność ciekłego tlenu, należy natychmiast opróżnić łaźnię chłodzącą. Podczas pracy z substancjami nisko schłodzonymi, takimi jak ciekły azot czy stały dwutlenek węgla, należy szczególnie chronić oczy, skórę i śluzówki, używając fartucha, rękawic oraz okularów ochronnych.

**Destylacja.** Podczas destylacji cieczy może nastąpić jej przegrzanie, to znaczy ogrzanie powyżej temperatury wrzenia. Wówczas, w wyniku wibracji lub obniżenia ciśnienia, zaczyna się spontaniczne wrzenie, zwane potocznie „rzucaniem”. Dlatego też, podczas destylacji ciecz należy intensywnie mieszać, np. mieszadłem magnetycznym, bądź też dodać kawałeczki porowatej porcelany, jako zarodków wrzenia. Porcelanę należy dodawać do zimnej jeszcze cieczy. Po jednorazowym użyciu traci ona swoje właściwości.

**Praca pod zmniejszonym ciśnieniem.** Zmniejszone ciśnienie używane jest podczas takich operacji, jak: destylacja, sączenie, sublimacja i suszenie w eksykatorach próżniowych lub suszarkach próżniowych. Wszelkie prace pod zmniejszonym ciśnieniem należy prowadzić pod wyciągiem lub za specjalnym ekranem, zabezpieczającym przed odłamkami szkła w przypadku implozji. Podczas prowadzenia prac pod zmniejszonym ciśnieniem należy bezwzględnie nosić okulary ochronne lub przyłbicę. Ze względu na niebezpieczeństwo implozji do wszelkich prac prowadzonych „pod próżnią” nie można używać naczyń z płaskim dnem, takich jak np. kolby stożkowe. Wyjątek stanowią specjalne kolby ssawkowe, wykonane z grubego szkła, stosowane do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem.

**Ekstrakcja.** Proces ekstrakcji stosowany jest do wydzielania substancji z roztworu wodnego, wykorzystując jej lepszą rozpuszczalność w cieczy nie mieszającej się z wodą. Ekstrakcję prowadzi się najczęściej w rozdzielaczach. Podczas mieszania się dwóch ciekłych faz, w rozdzielaczu bardzo często wytwarza się nadciśnienie, w związku z czym, proces należy prowadzić nadzwyczaj ostrożnie, usuwając nadciśnienie z wnętrza naczynia. W tym celu wylot rozdzielacza należy skierować ku górze, a następnie ostrożnie wyrównywać ciśnienie, wyciągając powoli górny korek lub otwierając specjalny odpowietrznik. Pod żadnym pozorem wylotu rozdzielacza nie można kierować ku sąsiadom. Szczególnie niebezpieczne są ekstrakcje fazy wodnej, zawierającej węglany, rozpuszczalnikami takimi, jak chloroform, który może zawierać niewielkie ilości chlorowodoru. Tworzy się wówczas dwutlenek węgla, a powstałe nadciśnienie może wyrzucić na zewnątrz zawartość rozdzielacza. Tego typu ekstrakcje bezpieczniej jest prowadzić w otwartym naczyniu, w którym miesza się obydwie ciecze do chwili, aż przestanie wydzielać się gaz. Następnie zawartość naczynia przelewa się do rozdzielacza w celu oddzielenia faz. Podczas ekstrakcji należy zakładać okulary i jednorazowe rękawice ochronne.

**Praca z substancjami wybuchowymi.** Do substancji wybuchowych należą np. nitro- i nitrozwiązki, estry kwasu azotowego, związki diazoniowe w stanie krystalicznym, sole acetyleny, chlorek nitrozylu, nadtlenki i nadkwasy. Utleniacze, takie jak: chromiany, azotany, stężony kwas nadchlorowy, dymiący kwas azotowy, roztwory nadtlenku wodoru o stężeniu powyżej 30%, mogą gwałtownie reagować z palnymi rozpuszczalnikami organicznymi. Rozpuszczalnikami ulegającymi takim reakcjom są: eter dietylowy, aceton, etanol. Podczas pracy ze związkami wybuchowymi należy unikać przegrzania, tarcia oraz bezpośrednich płomieni i

iskier. Powinno się pracować z niewielkimi ilościami substancji, w dobrze osłoniętym miejscu, używając zabezpieczającego ekranu.

**Praca z eterami.** W dłużej przechowywanych eterach powstają zwykle nadtlutki, które podczas wstrząsania, destylacji lub silnego oświetlenia promieniami słonecznymi stwarzają poważne niebezpieczeństwo wybuchu. Nadtlutki powstają tylko w przypadku eterów pierwszo i drugorzędowych. Do szczególnie niebezpiecznych należą nadtlutki eteru dietylowego (wodoronadtlenek  $R_1-C-(OOH)-OR_2$ , nadtlutenk  $R_1O-C-O-O-C-OR_2$ ), tetrahydrofuranu, eteru diizopropylowego, 1,4-dioksanu. Tendencję do tworzenia nadtluteków wykazują także nienasycone węglowodory, aldehydy oraz ketony. Dlatego też, przed użyciem wszystkich tych odczynników, należy wstępnie usunąć nadtlutki, sposobami podanymi w odpowiedniej preparatyce.

**Przechowywanie substancji w lodówkach lub zamrażalnikach.** W lodówkach lub zamrażalnikach nie można przechowywać substancji wytwarzających wybuchowe pary i gazy. Dotyczy to również związków krystalizowanych z takich rozpuszczalników. Bardzo często przechowywanie w lodówkach roztworów eterowych lub związków krystalizowanych uprzednio z eteru dietylowego prowadzi do eksplozji, na skutek zaiskrzenia stycznika lodówki.

**Suszenie substancji stałych w elektrycznie ogrzewanych suszarkach.** Podobnie jak w przypadku lodówek, do suszarek ogrzewanych elektrycznie nie należy wprowadzać związków mogących wytwarzać wybuchowe pary i gazy, bądź substancji krystalizowanych uprzednio z rozpuszczalników takich jak eter dietylowy.

## WYPADKI NAJCZĘŚCIEJ ZDARZAJĄCE SIĘ W LABORATORIUM CHEMICZNYM

**Pęknięcie naczynia zawierającego substancję chemiczną.** Jeżeli pęknięte naczynie zawiera palną ciecz, należy przede wszystkim wyłączyć wszystkie źródła ognia, takie, jak: palniki gazowe, elektryczne grzejniki oraz inne urządzenia mogące być źródłem iskrzenia. Pomieszczenie powinno być natychmiast dobrze wywietrzone, a rozlana ciecz zaadsorbowana granulatem o dużej chłonności. Do tego celu bardzo dobrze nadaje się adsorbent *chemisorb R* firmy *Merck*. Za pomocą granulatu mogą być zbierane nie tylko rozpuszczalniki, lecz także inne ciekłe odczynniki, jak: oleje, kwas siarkowy czy bezwodnik octowy. Wypełniony adsorbent zbiera się do polietylenowego naczynia.

**Rozlanie rtęci.** Pęknięcie lub nieszczelność przyrządów zawierających rtęć - termometrów czy manometrów rtęciowych, stwarza niebezpieczeństwo zatrucia. Ze względu na stosunkowo wysoką prężność par rtęci, nawet niewielkie jej ilości stanowią poważne zagrożenie w czasie. Należy unikać wszelkich kontaktów rtęci z acetylenem i amoniakiem, gdyż istnieje możliwość powstawania związków wybuchowych. W przypadku rozlania większej ilości rtęci, można ją zbierać poprzez zassanie do kolby ssawkowej, przy użyciu pompki wodnej. Pozostałość neutralizuje się sproszkowaną siarką (tworzy się siarczek), bądź przez posypanie pyłem cynkowym (powstaje amalgamat cynku). Można także użyć jodowanego węgla drzewnego.

**Pożar.** W przypadku pożaru, w zależności od właściwości płonącego materiału, istotne jest zastosowanie odpowiednich środków gaśniczych. W każdym laboratorium powinny znajdować się podręczne gaśnice, koce gaśnicze oraz piasek. Najbardziej przydatne gaśnice wypełnione są dwutlenkiem węgla. Ten środek gaśniczy nie zostawia pozostałości, nie niszczy czułych przyrządów, jest praktycznie neutralny chemicznie i może być stosowany do gaszenia urządzeń elektrycznych. Po wygaszeniu pożaru, należy dokładnie przewietrzyć pomieszczenia laboratorium celem usunięcia resztek tlenków węgla. Pożaru spowodowanego takimi substancjami, jak: metale alkaliczne, wodorek litowo-glinowy czy alkilometale, nie można gasić wodą ani za pomocą gaśnic zawierających wodne roztwory. Do tego celu nadaje się proszek stanowiący mieszaninę dwutlenku krzemu i tlenku wapnia. Można także stosować piasek. Palne ciecze gasi się dwutlenkiem węgla lub piaskiem. Dwutlenku węgla używa się także do gaszenia urządzeń elektrycznych. Jeżeli ogień pojawia się na zaworach butli zawierających sprężone lub skroplone gazy, należy użyć gaśnic proszkowych. Paląca się butla, np. z acetylenem, może być gaszona wodą z bezpiecznej odległości. Jeżeli butla staje się na tyle gorąca, iż woda odparowuje, ze względu na niebezpieczeństwo eksplozji, należy natychmiast ewakuować laboratorium.



## **ZACHOWANIE SIĘ W NAGŁYCH WYPADKACH**

W nagłych wypadkach, przede wszystkim należy ochraniać ludzi, ewakuując wszystkie osoby z niebezpiecznego miejsca, po czym natychmiast wezwać pomoc - pogotowie i, jeżeli jest to konieczne, straż pożarną.

### **KAŻDE ZDARZENIE MUSI BYĆ BEZZWŁOCZNIE ZGŁOSZONE PROWADZACEMU ĆWICZENIA!**

**W przypadku pożaru.** W razie pożaru należy zachować spokój, przytomność umysłu i nie dopuścić do paniki. Należy zgasić wszelkie palniki w bliskim otoczeniu pożaru, w miarę możliwości wyłączyć instalację gazową i elektryczną oraz usunąć łatwopalne materiały; zamknąć okna i drzwi, sprawdzając przedtem, czy nikt nie pozostał w zamykanych pomieszczeniach; ewakuować ludzi przez oznaczone wyjścia ewakuacyjne i wezwać straż pożarną. Następnie, należy rozpocząć walkę z płomieniami, nie podejmując jednak niebezpiecznego ryzyka. Ważnym jest, by dostatecznie wcześnie opuścić pomieszczenie, w celu uniknięcia zatrucia tlenkiem węgla lub uduszenia z braku tlenu. Do gaszenia pożarów w laboratorium chemicznym najczęściej stosowane są gaśnice napełnione dwutlenkiem węgla lub gaśnice proszkowe. **Wodą nie można gasić urządzeń elektrycznych.** Poza tym, do gaszenia pożarów używa się piasku i ewentualnie wody z hydrantów przeciwpożarowych lub systemu zraszającego.

Żarzący się materiały lub tłący ogień najlepiej gasić za pomocą gaśnic proszkowych. Do najłatwiej żarzących się materiałów należą: węgiel, drewno, papier i odzież. Piasek używany jest w przypadku palących się metali. Z kolei dwutlenek węgla nie nadaje się do gaszenia palących się lub żarzących metali, bowiem ulega on redukcji z utworzeniem tlenków metali, co jest procesem silnie egzotermicznym.

Małe pożary na stole laboratoryjnym, gasi się zwykle gaśnicami wypełnionymi dwutlenkiem węgla, bądź tłumiąc ogień kocem gaśniczym. Można także używać do tego celu piasku gaśniczego. W przypadku palenia się sodu lub potasu nie stosować gaśnic halonowych, gdyż może nastąpić wybuch. Jeżeli pali się olej lub rozpuszczalniki organiczne, nie należy do gaszenia używać wody, gdyż powoduje to rozpryskiwanie palącej się substancji. W takich wypadkach najlepsze są gaśnice proszkowe lub wypełnione dwutlenkiem węgla. Jeżeli zapalił się człowiek, należy osobę palącą się wyrzucić na posadzkę, a następnie ugasić płomień kocem gaśniczym. Zdejmowanie ubrania z miejsc oparzonych najlepiej pozostawić wykwalifi-

kowanemu personelowi medycznemu, gdyż nieumiejętne rozbieranie oparzonego naraża go na utratę ciepła oraz infekcję. W ciężkich przypadkach oparzeń natychmiast wezwać lekarza i stosować się do jego poleceń. W lżejszych przypadkach stosować zabiegi opisane niżej.

**W przypadku porażenia prądem elektrycznym.** Porażenie prądem elektrycznym następuje zwykle na skutek zetknięcia się z przewodami elektrycznymi lub transformatorami wysokiego napięcia. W takim przypadku, jeżeli to jest możliwe, należy natychmiast wyłączyć instalację elektryczną. Porażonego należy usunąć spod działania prądu za pomocą laski lub kija, uważając, aby samemu nie ulec porażeniu. Gdy porażony nie oddycha, należy zastosować sztuczne oddychanie.

**W przypadku oparzenia.** W praktyce laboratoryjnej często zdarzają się różnego typu oparzenia spowodowane: gorącymi przedmiotami, palącymi się rozpuszczalnikami lub poparzenia substancjami chemicznymi: bromem, stężonymi kwasami lub stężonymi roztworami zasad. W lżejszych przypadkach można udzielić pomocy na miejscu obmywając oparzoną powierzchnię strumieniem bieżącej wody przez 5-10 minut, ewentualnie skonsultować się z lekarzem. W przypadkach poważniejszych oparzeń, należy natychmiast wezwać pogotowie ratunkowe lub przetransportować chorego do lekarza. Zawsze o zdarzeniu musi być powiadomiony prowadzący ćwiczenia, który zdecyduje o dalszym sposobie udzielania pomocy.

***Oparzenia suche rozpalonymi przedmiotami lub palącymi się rozpuszczalnikami, bądź gorącą wodą lub parą wodną*** mogą być opatrzone na miejscu w laboratorium, pod warunkiem, że uszkodzona została niewielka powierzchnia ciała. W takim wypadku najlepsze jest obmycie uszkodzonej powierzchni bieżącą, zimną wodą. Ważne jest, by oparzone miejsca zostały po obmyciu zabezpieczone jałowym opatrunkiem luźno zabandażowanym. W razie silnych bólów można zastosować maść zawierającą środek znieczulający (np. anestetyne) oraz leki przeciwbólowe.

***Oparzenia stężonymi kwasami.*** Miejsce oparzone przemywa się dużą ilością zimnej wody, a następnie 3-5% roztworem wodorowęglanu sodu. W przypadku otwartej rany skóry, postępowanie uzależnione jest od stopnia jej uszkodzenia.

***Oparzenia stężonymi zasadami.*** Oparzenia przemywa się dużą ilością zimnej wody, a następnie 1% roztworem kwasu octowego lub cytrynowego, ewentualnie 3% roztworem kwasu bornego. Oparzoną powierzchnię można opatrzyć okładem z wymienionych roztworów kwasów. Pomocy doraźnej udziela prowadzący ćwiczenia lub laborant. W przypadku poparzenia oczu, po wstępnym udzieleniu pomocy przez prowadzącego ćwiczenia lub laboranta ko-

nieczne jest szybkie przetransportowanie osoby poszkodowanej do pogotowia okulistycznego.

**Oparzenia stopionym metalicznym sodem.** Drobne kawałeczki sodu usuwa się z powierzchni skóry za pomocą pincety. Następnie uszkodzone miejsca przemywa się obficie bieżącą wodą, po czym - 1 % roztworem kwasu octowego; można nałożyć opatrunek z maści tranowej lub bornej.

**Oparzenia białym fosforem.** Oparzone miejsce przemywa się dużą ilością 5% roztworu siarczanu miedzi. Jeżeli bóle są silne, najlepiej nałożyć opatrunek z maści zawierającej środek przeciwbólowy (np. anestezyne), podając również środki przeciwbólowe. Konieczna jest interwencja lekarska z powodu toksyczności fosforu.

**Oparzenia bromem.** Brom należy szybko zmyć z powierzchni skóry benzyną lub etanolem, a następnie przemyć 5% roztworem tiosiarczanu sodu, bądź 5% roztworem wodorowęglanu sodu. Na miejsce oparzone nakłada się opatrunek np. z maści tranowej lub maści Kocha. Do wdychania należy zastosować pary etanolu.

**Oparzenia fenolem i jego pochodnymi.** Fenol szybko zmywa się z powierzchni skóry etanolem a następnie wodą wapienną. Można nałożyć opatrunek z maści cynkowej.

**Kontakt innych niebezpiecznych substancji ze skórą.** W przypadku kontaktu niebezpiecznej substancji ze skórą należy miejsce skażenia intensywnie przemyć dużą ilością wody, aby zapobiec resorpcji odczynnika. Jeżeli substancja ma charakter lipofilowy, do przemywania stosuje się glikol polietylenowy.

**Kontakt niebezpiecznej substancji z okiem.** Po każdym kontakcie oczu z niebezpiecznymi substancjami chemicznymi lub rozpuszczalnikami, należy przemyć je dużą ilością zimnej wody, stosując specjalny kieliszek lub inne urządzenie do przemywania oczu. Chorego należy jak najszybciej skierować do lekarza okulisty. Doraźnej pomocy udziela prowadzący ćwiczenia lub laborant.

**W przypadku zatrucia.** Zatrucia związkami chemicznymi mogą być spowodowane wdychaniem trujących par lub gazów, bądź też przypadkowym zażyciem niebezpiecznych chemikaliów doustnie. Zasadą pierwszej pomocy jest, możliwie najszybsze usunięcie substancji trujących z organizmu. Dlatego stosuje się płukanie żołądka, środki wymiotne oraz przeczyszczające. Płukanie żołądka powinno odbywać się w placówce służby zdrowia, gdyż istnieje niebezpieczeństwo zachłyśnięcia się popłuczynami. Można także zmniejszyć działanie trucizn przez ich rozcieńczenie w organizmie lub neutralizację. Takie próby należy podjąć możliwie najszybciej, podając zatrutemu do picia wodę ze sproszkowanym węglem aktywnym.

nym lub samą wodę w dużej ilości.

**Zatrucie gazami** takim, jak: gaz świetlny, tlenek węgla, arsenowodór, fosgen, tlenki azotu, amoniak, chlor, brom, chlorowodór. Natychmiast usunąć zatrutą osobę z niebezpiecznej strefy, pamiętając jednocześnie o zabezpieczeniu siebie przed zatruciem. Poszkodowanego należy przetransportować do miejsca, gdzie ma on dostęp do dużych ilości świeżego powietrza. W razie omdlenia i ustania oddechu, zastosować sztuczne oddychanie. Nie stosować sztucznego oddychania w przypadku zatrucia cyjanowodorem lub fosgenem. Natychmiast sprowadzić lekarza.

**Po zatruciu tlenkiem węgla** należy doustnie podać 0,5% roztwór wodny nadtlenu wodoru (łyżkę stołową co 10 minut). Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Po zatruciu arsenowodorem** podawać do wdychania powietrze wzbogacone tlenem, a doustnie duże ilości mleka. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Po zatruciu fosgenem** podaje się do wdychania rozcieńczony roztwór amoniaku. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Po zatruciu tlenkami azotu** należy podawać do wdychania powietrze z parami amoniaku. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Po zatruciu żrącymi gazami**, takimi, jak: chlor, chlorowodór, bromowodór, amoniak, należy poszkodowanego wynieść na świeże powietrze. W razie utraty przytomności stosować sztuczne oddychanie. W przypadku zatrucia amoniakiem wykonuje się inhalację z rozcieńczonego kwasu octowego, zaś w przypadku kwaśnych gazów - inhalację z rozcieńczonego amoniaku. W przypadku zatrucia parami bromu można podać do wdychania pary etanolu. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Połknięcie niepożądanego substancji chemicznej.** W takim przypadku należy spowodować wymioty, podając poszkodowanej osobie wodny roztwór soli kuchennej (łyżka stołowa na szklanek wody). Nie można wywoływać wymiotów, jeżeli człowiek jest nieprzytomny, ponieważ istnieje niebezpieczeństwo zachłyśnięcia się. Nie można także wywoływać wymiotów, jeżeli pacjent połknął kwasy, zasady lub inne substancje żrące, gdyż istnieje niebezpieczeństwo dalszego uszkodzenia przewodu pokarmowego. W każdym przypadku należy wezwać lekarza!

**Po zatruciu kwasami** podaje się tlenek magnezu, wodę wapienną, a także środki osłaniające, jak: białko jaja, mleko, odwar siemienia lnianego. W razie zapaści, w oczekiwaniu na przybycie lekarza, ułożyć chorego nogami wyżej.

**Po zatruciu silnymi zasadami** należy podać środki zobojętniające, jak 0,5% roztwór

kwasu octowego, cytrynowego, mlekowego lub winowego, a także środki osłaniające, jak mleko i białko jaja kurzego. Nie wolno stosować środków wymiotnych i przeczyszczających, ani też przeprowadzać płukania żołądka. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Zatrucie aniliną i jej pochodnymi.** Tego typu zatrucie może nastąpić nie tylko poprzez połknięcie, lecz także wskutek obłania skóry na dużej powierzchni, bądź też w wyniku wdychania par aniliny. Po przypadkowym zażyciu aniliny doustnie należy zastosować płukanie żołądka, które może przeprowadzić lekarz, lub podać środki wymiotne oraz środki przeczyszczające. Nie podawać mleka, tłuszczu ani alkoholu. Przy zatruciu parami aniliny powinno się przenieść zatrutego do dobrze przewietrzonego pomieszczenia i podawać środki aktywizujące, np. kawę, oraz środki wzmacniające, np. glukozę. W przypadku obłania skóry aniliną należy zmywać ją 1% roztworem kwasu solnego i następnie dużą ilością wody. Skontaktować się z lekarzem.

**W przypadku zatrucia solami baru** stosuje się środki wymiotne. Dobrze jest podawać środek osłaniający, taki, jak: mleko czy białko jaja.

**Po zatruciu związkami arsenu** można podawać środki wymiotne. Można także podawać środki osłaniające, takie, jak: duże ilości mleka, białko jaja. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Zatrucie bromem** może być spowodowane przypadkowym jego zażyciem doustnie lub wdychaniem par. W przypadku zatrucia doustnego można zastosować środki wymiotne. Podaje się także tlenek magnezu, zawiesinę medycznego węgla aktywnego oraz mleko. W przypadku zatrucia parami podaje się do wdychania pary etanolu. Można także stosować inhalację amoniakiem i pić zimne mleko. Dalszej pomocy udziela lekarz.

**W przypadku zatrucia cyjanowodorem lub jego solami alkalicznymi** należy ułożyć chorego w przewietrzonym pokoju i zastosować sztuczne oddychanie za pomocą worka AMBU. Należy natychmiast wezwać lekarza, który może zaaplikować dożylnie 5% roztwór tiosiarczanu sodu a przewód pokarmowy przepłukać rozcieńczonym roztworem nadmanganianu potasu. Szybkość działania jest w tych przypadkach sprawą najważniejszą.

**Po zatruciu fenolem** stosuje się środki wymiotne i płukanie żołądka, które może prowadzić lekarz. Nie należy stosować etanolu bądź tłuszczów, natomiast poleca się środki aktywizujące, takie jak np. mocna kawa zawierająca kofeinę. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

**Zatrucia rtęcią** mogą być spowodowane wdychaniem par lub zażyciem rozpuszczalnych soli rtęci. W takim przypadku należy zastosować płukanie żołądka, które może wykonać wyłącznie lekarz. Doustnie można podać duże ilości odtłuszczonego mleka lub białko jaja.

Resztki rtęci można absorbować, podając aktywny węgiel. Natychmiast skontaktować się z lekarzem.

***Zatrucia parami węglowodorów aromatycznych.*** Przy cięższych zatruciach wskazane jest leczenie kliniczne. W razie lekkich objawów zatrucia, takich, jak: bóle głowy, mdłości, bladość skóry, należy zatrutego ułożyć w dobrze przewietrzonym pomieszczeniu i podawać mleko. Skontaktować się z lekarzem, który zadecyduje o dalszym postępowaniu.

We wszystkich nagłych przypadkach niezbędna jest natychmiastowa, fachowa interwencja wyspecjalizowanej osoby, najlepiej lekarza. Dotyczy to wszystkich opisanych wyżej zdarzeń oraz innych, nie wymienionych dotychczas wypadków, takich jak: mechaniczne uszkodzenie oczu, wychłodzenie (np. suchym lodem lub azotem), powstanie głębokich ran zawierających obce ciała, należy bezwzględnie przestrzegać zasady, by samemu nie usuwać obcego ciała tkwiącego w ranie, gdyż grozi to uszkodzeniem nerwów, naczyń krwionośnych lub ścięgien. Przy złamaniach kości i zwichnięciach, gdy jest to możliwe starać się unieruchomić kończyny, usztywniając dwa sąsiednie stawy, podać środki przeciwbólowe. W przypadku obficie krwawiących ran można jedynie starać się zahamować krwawienie przez założenie opatrunku uciskowego lub opaski uciskowej. Szokowi z utratą przytomności lub zatrzymaniem oddechu można przeciwdziałać poprzez sztuczne oddychanie. W przypadku zatrzymania oddechu i pracy serca należy zastosować sztuczne oddychanie oraz masaż klatki piersiowej.

Należy zawsze jednak pamiętać, iż nieumiejętna pomoc może zaszkodzić poszkodowanemu, toteż konsultacja z lekarzem, nawet telefoniczna, pozwoli rozwiązać ewentualne wątpliwości udzielającego pomocy, zaś osobie, której jest udzielana, na pewno poprawi komfort psychiczny.

## 4 OCZYSZCZANIE ZWIĄZKÓW ORGANICZNYCH

Substancje, których otrzymanie stanowi cel laboratoryjnej pracy, są ciałami stałymi, krystalicznymi, cieczami, lub też gazami. W odróżnieniu od syntez nieorganicznych, prawie żadna reakcja związków organicznych, nie przebiega zdecydowanie w jednym kierunku, do jednego produktu końcowego. Niestety, niemal zawsze obserwuje się niemały udział reakcji ubocznych. Stanowi to poważną trudność przy wyodrębnianiu czystych substancji z mieszaniny reakcyjnej. W niektórych przypadkach dochodzi do utworzenia jednocześnie kilku określonych związków chemicznych, które trzeba od siebie oddzielić, w innych z kolei chodzi o oddzielenie związku możliwie bez strat od niepożądanych produktów towarzyszących, często oleistych lub smolistych. Mowa tu o produktach ubocznych, a nawet nierzadko produktach głównych, których pochodzenie i istota są zazwyczaj nieznanne.

Preparat, który zamierzamy uzyskać musi być oczyszczony z całą starannością od niepożądanych związków towarzyszących. Do tego celu służą między innymi:

- a. krystalizacja
- b. ekstrakcja
- c. sublimacja
- d. destylacja: prosta, próżniowa, frakcyjna
- e. chromatografia.

## 4.1 KRYSTALIZACJA

Ciała stałe, krystaliczne otrzymuje się w reakcjach jako produkt surowy, wydzielający się w mniej lub więcej czystej postaci bezpośrednio po oziębieniu roztworu, bądź też po uprzednim zagęszczeniu i oziębieniu roztworu. Szybkość krystalizacji związków organicznych waha się w bardzo szerokich granicach, a tendencja tworzenia roztworów przesyconych jest duża. Jakkolwiek dodanie do roztworu tzw. zarodka usuwa stan przesyconia, to jednak równowaga w roztworze nasyconym, na zimno, ustala się nieraz bardzo wolno. Powodem tego jest właśnie rozmaita szybkość krystalizacji. Dlatego całkowitą ilość surowego produktu uzyskujemy dopiero po wielogodzinnym odstaniu roztworu.

Proces przekrystalizowania zachodzi w najprostszym i najczęstszym przypadku w ten sposób, że sporządza się nasycony na gorąco roztwór surowego produktu w odpowiednim rozpuszczalniku, który po przesączeniu na gorąco, a następnie po oziębieniu wykrystalizowuje z powrotem związek o większej czystości. Warunkiem powodzenia tego procesu jest to, by związki towarzyszące odznaczały się wyższą rozpuszczalnością niż właściwa substancja, a więc by pozostały rozpuszczone nawet w roztworze oziębionym (ługu pokrystalicznym).

Zasada różnej rozpuszczalności znajduje zastosowanie także i w sensie odwrotnym, a mianowicie wtedy, gdy produkt uboczny dzięki mniejszej rozpuszczalności w odpowiednim rozpuszczalniku, może być wyeliminowany z nasyconego roztworu związku głównego. Ponieważ roztwór w stosunku do produktu ubocznego jest zawsze nasycony, przeto metoda ta, w przeciwieństwie do pierwszej nie może prowadzić do uzyskania czystego związku w jednym zabiegu.

Wybór właściwego rozpuszczalnika ma dla procesu krystalizacji ogromne znaczenie. Najczęściej używanymi rozpuszczalnikami są: woda, alkohol etylowy, alkohol metylowy, aceton, lodowaty kwas octowy, octan etylu, eter naftowy, chloroform.

Dla szczególnie trudno rozpuszczalnych związków używamy kwasu mrówkowego, pirydyny, bromobenzenu, nitrobenzenu, niekiedy także fenolu, estrów kwasu benzoowego, aniliny i dioksanu. Między właściwością ciała rozpuszczonego i rozpuszczalnika zachodzi ścisły związek, zgodnie z zasadą: *similia similibus solventur* (podobny rozpuszcza się w podobnym). Tak więc, związki zawierające grupę hydroksylową (np. cukier, kwasy karboksylowe) rozpuszczają się w wodzie, węglowodory natomiast łatwiej w benzenie i eterze naftowym niż np. w alkoholach.

Powyższa reguła odnosi się w ogólności, w pewnym przybliżeniu, tylko do prostych



połączeń organicznych, bo przy skomplikowanych związkach zachodzą bardziej zawile stosunki, tak iż jeśli nie posiadamy dużego doświadczenia, musimy kolejno wypróbować wszystkie dostępne rozpuszczalniki. Rozpoczynamy z reguły od alkoholu: po nim następują: woda, benzen, eter naftowy. Z grubsza można określić, że dla związków organicznych najczęściej używane są rozpuszczalniki takie jak: benzen, chloroform i eter, rzadziej: eter naftowy i woda. Chociaż od zasady tej wyłamuje się wiele związków, to daje on pewien punkt zaczepienia dla doświadczeń. I tak, jeśli preparat zbyt trudno rozpuszcza się w alkoholu, sięgamy do rozpuszczalników grupy pierwszej, jeśli rozpuszcza się w nim zbyt łatwo, używamy rozpuszczalników grupy drugiej. Przy związkach trudno rozpuszczalnych wybieramy często homologi tej samej grupy, o wyższej temperaturze wrzenia: na miejsce niższego alkoholu alkohol propylowy lub amyłowy, na miejsce benzenu toluen lub ksylen, gdyż wyższa temperatura wrzenia rozpuszczalnika potęguje także jego rozpuszczalność.

Bardzo często zdarza się, że otrzymuje się produkt bezpostaciowy o konsystencji oleju. Taki produkt można przez traktowanie odpowiednim rozpuszczalnikiem lub przez bezpośrednie przekryształowanie uzyskać w postaci krystalicznej. Należy jednak pamiętać, że rozpuszczalność jednego i tego samego związku jest różna, w zależności od tego, czy występuje on w stanie bezpostaciowym, czy krystalicznym. Preparaty bezpostaciowe są znacznie łatwiej rozpuszczalne.

Do soli odnosi się ogólna reguła, że łatwo rozpuszczają się w wodzie, a także w alkoholach, acetonie i chloroformie, natomiast nie rozpuszczają ich: eter dietylowy, benzen, i eter naftowy. Na skutek tego możemy wyodrębnić kwasy organiczne z mieszaniny związków obojętnych w roztworze eteru, działając wodnym roztworem zasad, zasady organiczne zaś wodnym roztworem kwasów.

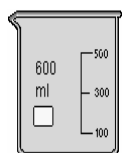
Kombinacja różnych rozpuszczalników stanowi cenny środek do oczyszczania, gdy jakiś preparat nie wykazuje potrzebnej, średniej rozpuszczalności w żadnym rozpuszczalniku, a więc gdy rozpuszcza się zbyt łatwo lub zbyt trudno. Rozpuszczalniki, których mamy użyć w mieszaninie, muszą się wzajemnie rozpuszczać w sobie. Najczęstsze zastosowanie znalazły mieszaniny:

- Alkohol etylowy, lodowaty kwas octowy, aceton z wodą,
- Eter etylowy, aceton, benzen, chloroform z eterem naftowym
- Pirydyna z wodą, eterem etylowym lub alkoholem etylowym.

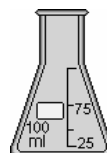
Postępuje się w ten sposób, że do stężonego roztworu, na zimno lub na gorąco, dodajemy kroplami drugi rozpuszczalnik (rozcieńczający) tak długo, aż wystąpi pewne zmętnienie, które można spotęgować przez odstawienie roztworu lub pocieranie ścian naczynia ba-

gietką o ostrych brzegach. Gdy krystalizacja się rozpocznie, układ rozcieńczamy ostrożnie dalej. Błędem jest wytrącać rozpuszczoną substancję przez zalewanie roztworu dużymi ilościami rozpuszczalnika.

Do zbierania przesącza, przy roztworach wodnych służy zlewka, przy rozpuszczalnikach organicznych kolba stożkowa „erlenmeyerka”, która nie dopuszcza do parowania rozpuszczalnika i wytwarzania krystalicznej skorupy. W celu wzrokowej kontroli jednorodności krystalitu, nie wolno zakłócać krystalizacji, by umożliwić wydzielanie się dobrze wykształconych kryształów. Mylny jest pogląd, iż drobne kryształy, wytwarzające się przez gwałtowne i silne oziębienie roztworu stanowią szczególnie czysty preparat. Przeciwnie, zbyt wielka powierzchnia łączna kryształów drobnych umożliwia większą adsorpcję związków ubocznych, niż ma to miejsce w przypadku wykształcenia się dużych kryształów.



zlewka



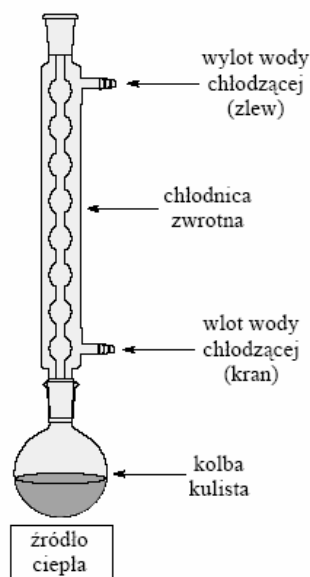
kolba stożkowa (erlenmayerka)

Jeśli w roztworze nastąpiło nasycenie już w temperaturze pokojowej, to ilość substancji krystalizującej można zwiększyć przez wstawienie naczynia do wody z lodem lub mieszaniny chłodzącej.

Związki o niskiej temperaturze topnienia wydzielają się niekiedy przy oziębieniu ich roztworu nasyconego na gorąco w postaci oleistej. Musimy wtedy roztwór nieco rozcieńczyć. W takich przypadkach, staramy się oziębzać roztwór, powoli wkładając kolbę z gorącym roztworem np. do naczynia wypełnionego wodą o tej samej temperaturze. Ze związków trudno krystalizujących zachowujemy zawsze małą próbkę do użycia jako „zarodka” krystalizacyjnego. W ten sposób możemy opanować wzmiankowane wyżej trudności, dodając zarodek do jeszcze nie całkiem oziębionego roztworu przy równoczesnym pocieraniu pręcikiem szklanym ścian naczynia.

#### 4.1.1 KRYSTALIZACJA Z ROZPUSZCZALNIKÓW ORGANICZNYCH

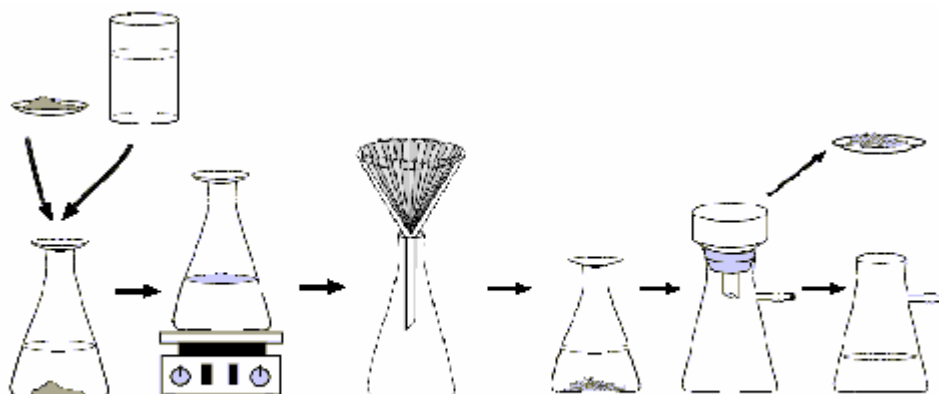
Celem uzyskania roztworu nasyconego na gorąco, zalewamy badany produkt, umieszczony najlepiej w kolbce okrągłodennej z krótką szyjką, niewielką ilością rozpuszczalnika, aż do **całkowitego** rozpuszczenia się preparatu. Z uwagi na to, że w związkach nieoczyszczonych znajdują się nieraz domieszki nierozpuszczalne, obserwujemy dokładnie czy i kiedy związek mający krystalizować ulega całkowitemu rozpuszczeniu. Należy unikać zbyt długiego gotowania roztworów, gdyż wiele związków ulega wtedy rozkładowi. Jeśli stosujemy rozpuszczalnik wrzący poniżej 80 °C, ogrzewamy roztwór pod chłodnicą zwrotną, a rozpuszczalnik dolewamy przez chłodnicę.



Celem uniknięcia bardzo niepożądanego przegrzewania się cieczy, wrzucamy do kolbki kilka porowatych okruchów porcelanki, a gdy przestaną działać zastępujemy je świeżymi (nie wrzucać do gorącego roztworu, gdyż może to wywołać gwałtowne wrzenie).

By usunąć barwne zanieczyszczenia, które niekiedy uporczywie trzymają się bezbarwnego preparatu, ogrzewamy nasycony na gorąco roztwór do wrzenia z kilkoma szczypcami węgla aktywnego. Ponieważ wydobywające się z węgla powietrze powoduje gwałtowne pienie się, dodajemy węgiel bardzo ostrożnie, przy równoczesnym wstrząsaniu. Zabarwione związki uboczne adsorbują się, ze względu na ich koloidalny charakter, najłatwiej z roztworu wodnego.

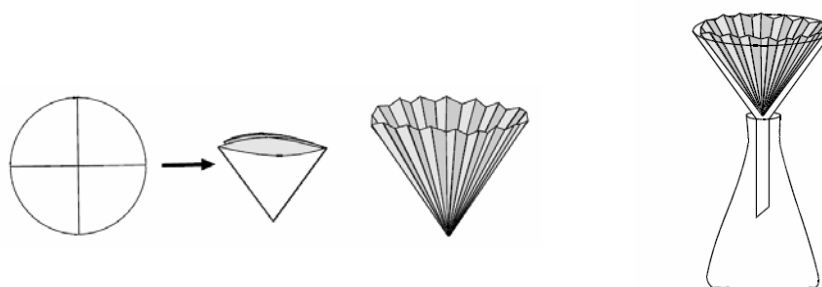
#### 4.1.2 KRYSTALIZACJA Z ROZTWORÓW WODNYCH



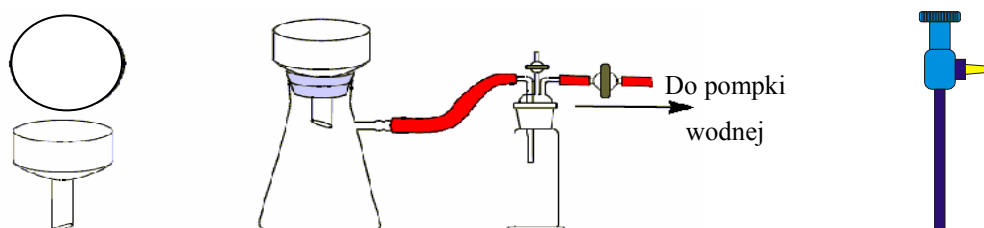
1. W celu przygotowania, nasyconego na gorąco, roztworu surowego produktu, w kolbie stożkowej umieszczamy produkt oraz niewielką ilość wody.
2. Roztwór podgrzewamy. Obserwujemy czy związek poddawany krystalizacji uległ całkowitemu rozpuszczeniu. Jeśli nie, dodajemy niewielką porcję rozpuszczalnika aż do całkowitego rozpuszczenia.
3. W celu pozbycia się ewentualnych zanieczyszczeń stałych, gorący roztwór sącymy przy użyciu bibułowego sączka karbowanego i zwykłego lejka (wskazane jest uprzednie ogrzanie lejka w suszarce).
4. Przesącz pozostawiamy do swobodnej krystalizacji, nie zakłócając procesu krystalizacyjnego przez niepotrzebne wstrząsanie, czy mieszanie roztworu.
5. Wydzielone kryształy sącymy pod zmniejszonym ciśnieniem. Osad przemywamy niewielką ilością rozpuszczalnika. W tym celu, należy na moment odłączyć pompkę wodną, osad zalać niewielką ilością rozpuszczalnika („napoić” rozpuszczalnikiem), a następnie niezwłocznie uruchomić pompkę ssawkową.
6. Wydzielony osad przenosimy, wraz z sączkiem, na szkiełko zegarkowe lub do parownicy i dopiero po jego wyschnięciu oddzielamy sączek bibułowy.

## 4.2 SĄCZENIE

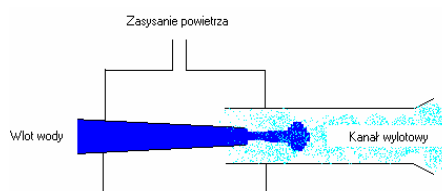
Roztwory krystalizacyjne nie są nigdy całkowicie klarowne, choćby nawet nie były traktowane węglem i należy je sączyć po rozpuszczeniu próby. Sączenie wykonujemy przy użyciu bibułowego sączka karbowanego, lub przy zastosowaniu zwyczajnego gładkiego sączka okrągłego dopasowanego do lejka w ten sposób, że jego drugie załamanie robimy pod kątem mniejszym od prostego, rozwijając następnie w lejku większą powierzchnię stożkową.



Niekiedy, zwłaszcza przy trudno sączących się roztworach wodnych, stosujemy sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem. W tym celu przygotowujemy zestaw do sączenia składający się z: kolby ssawkowej umocowanej za pomocą łąpy, lejka Büchnera i pompki wodnej. W pierwszej kolejności wycinamy krążek bibuły o średnicy dna lejka (starannie zakrywający światło otworów nuczy), zwilżamy sączek niewielką ilością rozpuszczalnika i wygładzamy ewentualne zmarszczki zaokrągloną bagietką lub opuszkami palców. Tak przygotowany lejek umieszczamy na kolbie ssawkowej.



**Schemat 1** Schemat budowy pompki wodnej

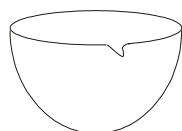


Następnie, w **pierwszej kolejności**, odkręcamy kran z wodą do którego podłączona jest pompka wodna i dopiero po tej czynności zakładamy wężyk na odprowadzenie kolby ssawkowej. Sączymy roztwór. W celu zakończenia sączenia, najpierw **zdejmujemy wężyk** z kolby ssawkowej, a **następnie** zakręcamy wodę. Zmiana kolejności opisanych czynności zwykle prowadzi, do spadku ciśnienia wody, i zaciągnięcia wody do kolby ssawkowej. Efekt ten jest szczególnie niepożądany jeśli dalszej obróbce ma być poddawany przesącz. Przed zaistnieniem opisanego zjawiska chroni zamontowana płuczka na drodze od instalacji wodnej do kolby ssawkowej.

Jeśli w roztworze, już podczas sączenia wydzielają się kryształy, układ podgrzewamy, po czym, poddajemy powolnemu studzeniu bez żadnych zakłóceń z zewnątrz.

Jeżeli podczas sączenia roztworu, krystalizujący preparat zakleja sączek, nie należy go przebijać, lecz włożyć do małej zlewki ze świeżym, rozpuszczalnikiem, ogrzać do wrzenia, po czym ponownie przesączyć. Tak uzyskany roztwór musimy najczęściej poddać zatężeniu.

Celem przeniesienia odsączonego preparatu z lejka należy odwrócić nuczę nad parownicą, szkiełkiem zegarkowym lub bibułą i zgarnąć całą zawartość bagietką. Osad pozostawiamy do wyschnięcia, a sączek usuwamy dopiero po wysuszeniu preparatu. Zalegające na ścianach lejka resztki preparatu zeskrobujemy przy pomocy kawałka skórki ściętego kartonu.



parownica



szkiełko zegarkowe

## SUSZENIE SUBSTANCJI STAŁYCH

Czysty preparat musi być całkowicie uwolniony od zaadsorbowanych cząsteczek rozpuszczalnika. W tym celu suszymy go umieszczając między arkuszami bibuły, na czystym podłożu, w temperaturze pokojowej, pozostawiając na 1-2 dni. Związki o wysokiej temperaturze topnienia można suszyć szybciej w suszarce lub na łaźni wodnej.

### 4.3 EKSTRAKCJA

Proces ekstrakcji polega na wydzieleniu obojętnego związku organicznego z roztworu za pomocą odpowiednich rozpuszczalników organicznych. Ekstrakcję wykonujemy przez wytrząsanie w rozdzielaczu, roztworu zawierającego substancję ekstrahowaną z rozpuszczalnikiem organicznym, w którym ta substancja jest dobrze rozpuszczalna. Rozpuszczalnik powinien być nierozpuszczalny lub trudno rozpuszczalny w danym roztworze. Jako rozpuszczalniki do ekstrakcji najczęściej są stosowane: eter dietylowy, chloroform, toluen, chlorek metylenu, eter naftowy, tetrachlorek węgla, octan etylu.

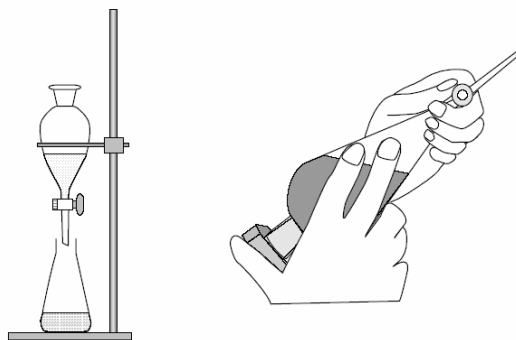
Podczas wytrząsania roztworu z rozpuszczalnikiem część substancji rozpuszcza się w rozpuszczalniku, a pozostała część pozostaje w roztworze. Stężenie substancji w rozpuszczalniku i w roztworze zależy od użytej ilości obydwóch cieczy w stosunku do substancji ekstrahowanej i od współczynnika podziału  $K$ . Współczynnik podziału  $K$  wyraża stan równowagi przejścia substancji ekstrahowanej między obydwie nie mieszające się fazy:

$$K = C_A/C_B = \text{const},$$

gdzie  $C_A$  i  $C_B$  oznaczają stężenie substancji w rozpuszczalniku A i roztworze B.

Związki organiczne, jako mało polarne, zwykle są lepiej rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych niż w wodzie. Dla uzyskania lepszego wyniku oddzielenia substancji z roztworu stosuje się kilkakrotną ekstrakcję roztworu małymi porcjami rozpuszczalnika. Przynosi to lepszy efekt niż jednokrotna ekstrakcja dużą ilością rozpuszczalnika.

Ekstrakcję przeprowadzamy w rozdzielaczu kulistym lub gruszkowym z krótką nóżką, zaopatrzonym w kranik spustowy, korek ze szlifem i zaworem odpowietrzającym.



Pojemność rozdzielacza powinna być 2 razy większa niż objętość roztworu, natomiast ilość rozpuszczalnika powinna stanowić ok. 1/3 objętości roztworu ekstrahowanego. Początkowo, wytrząsanie prowadzimy ostrożnie, aby nie dopuścić do gwałtownego wzrostu prężności par

rozpuszczalnika w rozdzielniku. Co pewien czas należy wyrównać ciśnienie przez otwarcie zaworu odpowietrzającego lub też poprzez odwrócenie rozdzielacza nóżką ku górze i otwarcie kranu. Po wytrząsaniu, pozostawiamy rozdzielacz w celu rozdzielenia warstw nie mieszających się cieczy. W zależności od gęstości rozpuszczalnika warstwa wodna będzie lżejsza bądź cięższa od warstwy rozpuszczalnika organicznego. W przypadku ekstrakcji np. eterem dietylowym, dolną warstwę wodną spuszcza się powoli przez kran. Warstwę eterową wylewamy górnym otworem rozdzielacza. Następnie, warstwę wodną zwracamy do rozdzielacza, dodajemy następną porcję rozpuszczalnika i ekstrahujemy jak poprzednio. W przypadku rozpuszczalników cięższych od wody jak np. chloroformu, warstwa wodna będzie warstwą górną.

Zdarza się niekiedy, że podczas ekstrakcji powstaje emulsja. Można ją zlikwidować mechanicznie poprzez mieszanie bagietką szklaną powierzchni granicznej, lub delikatne obracanie rozdzielacza. Często stosuje się również dodanie kilku kropli odpowiedniego rozpuszczalnika zmniejszającego napięcie powierzchniowe, np. eteru etylowego, lub wysalanie roztworu poprzez dodatek soli, np. NaCl, CaCl<sub>2</sub>, CaSO<sub>4</sub>, w celu zmniejszenia rozpuszczalności substancji organicznej w wodzie. Można również dodać sita molekularne (glinokrzemiany).

Ekstrakt suszymy za pomocą odpowiedniego środka suszącego, w zamkniętej kolbie, a następnie po jego oddzieleniu, oddestylowujemy rozpuszczalnik. Uzyskaną substancję organiczną oczyszczamy dalej w zależności od jej właściwości przez krystalizację lub destylację.

#### **4.3.1 SUSZENIE ROZPUSZCZALNIKÓW I ROZTWORÓW ORGANICZNYCH**

Środek suszący powinien spełniać kilka warunków. Po pierwsze, nie może reagować z suszoną substancją organiczną, ani katalizować niepożądanych reakcji suszonego związku. Po drugie, nie powinien rozpuszczać się w widoczny sposób w suszonej cieczy i po trzecie, mieć skuteczne i szybkie działanie osuszające. Nie jest również bez znaczenia dostępność i cena środka suszącego. Suszenie polega na dodaniu porcji środka suszącego, a następnie krótkim wytrząsaniu suszonej cieczy. Należy dodać tyle środka suszącego, aby jego działanie przestało być widoczne (usuwanie zmętnienia roztworu organicznego).

Nie należy dodawać jednorazowo zbyt dużej ilości środka suszącego, aby uniknąć absorpcji substancji chemicznych znajdujących się w roztworze.



Przed destylacją rozpuszczalnika lepiej jest oddzielić środek suszący przez sączenie. Jest to ważne w przypadku środków suszących tworzących hydraty, jak np. chlorek wapnia, siarczan magnezu czy siarczan sodu, gdyż podczas destylacji część lub cała ilość wody może przejść do destylatu. Sączenie nie jest konieczne w przypadku środków suszących trwale wiążących wodę, jak np. pięciotlenek fosforu czy tlenek wapnia. Najczęściej stosowane środki suszące wymieniono i krótko scharakteryzowano poniżej (Tabela 2).

**Tabela 2 Środki suszące i ich charakterystyka**

ŚRODEK SUSZĄCY	ZASTOSOWANIE	CZAS DZIAŁANIA	UWAGI
Chlorek wapnia bezwodny	etery, halogenki alkilowe i aryłowe, węglowodory nasycone i aromatyczne	działa niezbyt szybko	duża zdolność pochłaniania wody, w temperaturze poniżej 30°C tworzy hydrat $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , nie nadaje się do suszenia alkoholi, niska cena
Siarczan magnezu	estry, aldehydy, ketony, nityle, amidy, alkohole, halogenki alkilowe i aryłowe, kwasy organiczne	działa szybko	skuteczna postać susząca to monohydrat, odmiana całkowicie uwodniona to siedmiohydrat, chemicznie bierny
Siarczan sodu	aldehydy, ketony, kwasy organiczne	działa powoli	duża zdolność wiązania wody, dobry do wstępnego osuszania cieczy, tani środek, nie nadaje się do suszenia benzenu i toluenu, w temperaturze powyżej 32,4°C dziesięciohydrat zaczyna tracić wodę krystalizacyjną
Siarczan wapnia	etery, alkohole, halogenki alkilowe i aryłowe, węglowodory nasycone i aromatyczne, aldehydy, ketony, kwasy organiczne	działa bardzo szybko	bardzo skuteczny, chemicznie bierny, nierozpuszczalny w rozpuszczalnikach organicznych, wadą jest ograniczona ilość wody, którą może związać
Węglan potasu	aminy, ketony, alkohole	działa powoli	średnia zdolność wiązania wody, tworzy dwuhydrat, nie nadaje się do suszenia kwasów, fenoli i innych substancji o charakterze kwasowym
Pięcioletek fosforu	etery, ketony, kwasy, halogenki alkilowe i aryłowe, węglowodory nasycone i aromatyczne,	działa szybko	bardzo skuteczny, drogi, stosowany gdy konieczne jest bardzo dokładne osuszenie cieczy
Wodorotlenek sodu i potasu	aminy	działa szybko	skuteczne środki, wodorotlenek potasu działa nieco skuteczniej niż wodorotlenek sodu, reagują z niektórymi związkami organicznymi (kwasy, fenole, estry, amidy) i niektórymi rozpuszczalnikami (chloroform)
Tlenek wapnia	alkohole, aminy	działa powoli	nierozpuszczalny w rozpuszczalnikach, nie rozkłada się podczas ogrzewania, reaguje ze związkami o charakterze kwasowym i hydrolizuje estry

## 4.4 DESTYLACJA

Oczyszczanie substancji za pomocą destylacji polega na przeprowadzeniu jej w stan pary, która po schłodzeniu (w chłodnicy), z powrotem przechodzi do stanu ciekłego. Warunkiem użycia tej metody oczyszczania jest to, by substancja nie ulegała rozkładowi w temperaturze wrzenia.

W procesie destylacji doprowadza się układ do wrzenia, odprowadza pary najbardziej lotnego składnika do chłodnicy, tu ulegają skropleniu, i na koniec zbiera destylat (kondensat) w odbieralniku. W zależności od właściwości mieszanin poddawanych destylacji wyróżnia się następujące sposoby rozdziału:

- destylacja zwykła,
- destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem,
- destylacja z parą wodną.

Prowadząc destylację należy przestrzegać następujących reguł:

- stosować szczelne połączenia użyte do montażu zestawu, stosując odpowiednie połączenia szlifowe,
- po zmontowaniu układu zgodnie ze schematem, wlać do kolby destylacyjnej nie więcej niż  $2/3$  jej objętości, dodając przy tym materiał porowaty np. porcelankę, której obecność zapobiega przegrzaniu roztworu.
- do chłodnicy doprowadzić ciągły obieg wody,
- kolbę destylacyjną ogrzewać bezpiecznym, zamkniętym źródłem ciepła (czasza grzejna, płyta grzejna, lub odpowiednia łaźnia)
- po zakończeniu zachować odwrotną kolejność czynności: wyłączyć ogrzewanie, po pewnym czasie chłodzenie, a następnie złączyć z odbieralnika destylat.

Substancje o prostym składzie chemicznym, przede wszystkim substancje lotne takie jak: węglowodory, alkohole, estry, niższe kwasy, aminy itp. destylujemy pod ciśnieniem atmosferycznym. Substancje ulegające rozkładowi, a także substancje o wysokim punkcie wrzenia, destylujemy pod zmniejszonym ciśnieniem lub z parą wodną. Ciała stałe poddajemy destylacji tylko wówczas gdy ich oczyszczanie na drodze krystalizacji jest utrudnione, np. zbyt dobra rozpuszczalność. **Uwaga!** W przypadku tej destylacji zwracamy baczna uwagę na to, aby destylowana substancja nie wykryształizowała w chłodnicy, co może doprowadzić do eksplozji układu!!!

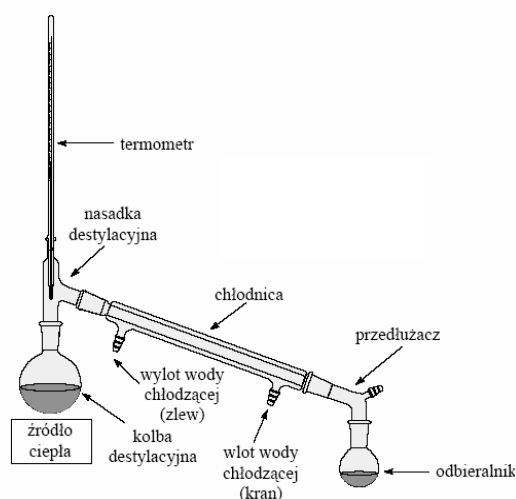
Zarówno destylacja pod ciśnieniem atmosferycznym, jak i w próżni, służy nie tylko do oddzielania czystego produktu od nielotnych domieszek, ale także do rozdzielania ciał lotnych z mieszaniny, na podstawie ich różnej prężności par, a tym samym różnego punktu wrzenia.

#### 4.4.1 DESTYLACJA POD CIŚNIENIEM ATMOSFERYCZNYM

Proces destylacji zwykłej, pod ciśnieniem atmosferycznym, przeprowadza się używając przedstawionego na Rys. 1 zestawu do destylacji. Zestaw do destylacji zwykłej składa się z kolby destylacyjnej, chłodnicy Liebiga, przedłużacza, odbieralnika oraz nasadki destylacyjnej z umieszczonym w niej termometrem, który mierzy temperaturę par wychodzących do chłodnicy. W celu zapewnienia poprawnego odczytu temperatury, termometr powinien być umieszczony tak, aby banieczka z rtęcią znajdowała się dokładnie na wysokości wlotu par do chłodnicy.

W zależności od temperatury wrzenia cieczy, do destylacji stosuje się chłodnice wodne lub powietrzne. Przy czym, chłodnic powietrznych używa się dla związków o wysokich temperaturach wrzenia.

**Rys. 1** Zestaw do destylacji pod ciśnieniem atmosferycznym. Destylacja zwykła.



#### Przebieg destylacji.

Destylacja przebiega następująco: po powolnym ogrzaniu zawartości kolby destylacyjnej i pojawieniu się objawów wrzenia w kolbie, słupek rtęci w termometrze unosi się gwałtownie do góry, po czym zatrzymuje się przy określonej temperaturze w punkcie wrzenia. Gdy temperatura ustali się w granicy jednego stopnia, wymieniamy tymczasowo założony odbieralnik

(frakcja pierwsza- przedgon) na właściwy, a destylat podgrzewamy w dalszym ciągu w takim stopniu aby w ciągu 1-2 sekund przechodziła jedna kropla. Termometr należy obserwować bez przerwy. Substancja winna destylować w granicach 1-2 stopni. Przy analitycznie czystych preparatach granica ta musi być jeszcze węższa. W momencie gdy punkt wrzenia podniesie się poza ustalone granice, usuwamy odbieralnik z zebrany destylat (frakcja druga) i wymieniamy go, bez przerywania destylacji, na inny nowy (frakcja trzecia).

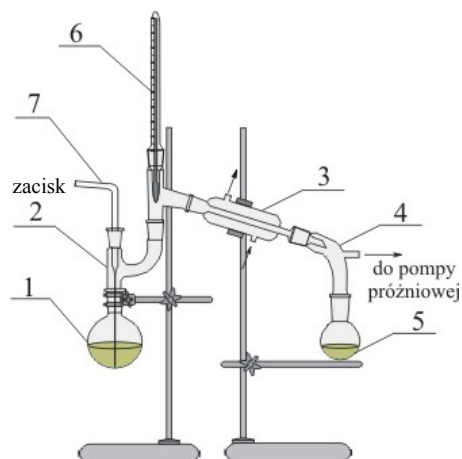
Należy pamiętać, że zarówno w destylacie z pierwszej frakcji, jak i trzeciej, znajduje się jeszcze część właściwego produktu. Dzieje się tak dlatego, że już poniżej punktu wrzenia ciśnienie pary substancji destylowanej jest tak znaczne, że wraz z bardziej lotnymi składnikami mieszaniny destylowanej (zwykle resztki rozpuszczalnika) ulatniają się także pary właściwej substancji. Z drugiej strony (frakcja trzecia) punkt wrzenia substancji podnosi się, jeśli ona znajduje się w mieszaninie związków o wyższej temperaturze wrzenia. Często w celu pozyskania pozostałości produktu z pierwszej i trzeciej frakcji destylację połączonych frakcji pierwszej i trzeciej przeprowadza się ponownie stosując metodę destylacji frakcjonowanej.

#### **4.4.2 DESTYLACJA POD ZMNIJSZONYM CIŚNIENIEM**

Niektóre substancje organiczne ogrzewane do temperatury wrzenia ulegają rozkładowi i nie można ich oczyścić metodą destylacji zwykłej. Korzystając z faktu, że obniżenie ciśnienia powoduje obniżenie temperatury wrzenia substancji, można przedestylować związki bez ich rozkładu, o ile obniży się ciśnienie wewnątrz układu destylacyjnego. I tak, punkt wrzenia w zwyczajnym aparacie próżniowym z pompką wodną opada w porównaniu z punktem wrzenia pod ciśnieniem atmosferycznym przeciętnie o 100 do 120°C. W układach, w których punkt wrzenia przypada powyżej 250°C różnica ta jest jeszcze większa.

W laboratorium obniżenie ciśnienia uzyskuje się zazwyczaj stosując pompki wodne zmniejszające ciśnienie do 15-30 mmHg (20-40 hPa). W celu większego obniżenia ciśnienia stosuje się różnego rodzaju pompy olejowe [0,01-1 mmHg (13-133 Pa)] oraz pompy dyfuzyjne sprzężone z pompami olejowymi [poniżej 0,01 mmHg (13 Pa)].

**Rys. 2** Zestaw do destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Destylacja próżniowa.



1-kolba destylacyjna, 2-nasadka „Claisena”, 3-chłodnica, 4-przedłużacz z odprowadzeniem, 5-odbieralnik, 6-termometr, 7-kapilara z zaworem (zacisk)

W zestawie do destylacji próżniowej nasadka destylacyjna zastąpiona została nasadką Claisen’a (nasadka z dwiema szyjami), w której obok termometru znajduje się kapilara (rurka ze szlifem z wyciągniętą od dołu kapilarą) zapewniająca równomierne wrzenie cieczy. Kapilara spełnia rolę porcelanek stosowanych w destylacji pod ciśnieniem atmosferycznym.

### **Przebieg destylacji.**

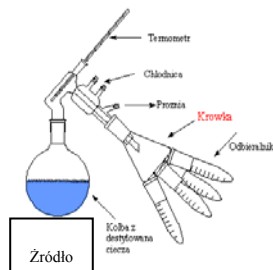
Po napełnieniu kolby destylacyjnej do około połowy objętości i włączeniu pompki wodnej, należy odczekać pewien czas, do chwili ustalenia się ciśnienia w aparaturze. Ciśnienie jest odczytywane przy pomocy dołączonego do aparatury manometru i zazwyczaj podawane jest w milimetrach słupa rtęci [mmHg] ( $1 \text{ mmHg} = 133,322 \text{ Pa}$ ).

Zastosowanie w miejsce przedłużacza tzw. „krówki” (Rys. 3) ułatwia destylację. Podczas destylacji, bez demontażu odbieralnika, krówkę można dowolnie obracać względem chłodnicy, wskutek czego kapiąca z niej ciecz wpada do wybranych odbieralników. Dzięki temu do kolejnych naczyń można w prosty sposób zbierać poszczególne frakcje. Podobnie jak w trakcie każdej destylacji, o zmianie frakcji wnioskuje się na podstawie skokowej zmiany temperatury par wydobywających się z kolby, w której znajduje się destylowana mieszanina.

Proces ogrzewania kolby destylacyjnej, jak również szybkość destylacji, reguluje się w sposób podany dla destylacji pod ciśnieniem atmosferycznym. Po zakończeniu destylacji próż-

niowej usuwa się łaźnię grzejącą, a następnie po częściowym ochłodzeniu, powoli likwiduje obniżone ciśnienie w aparaturze, przez powolne zwalnianie zacisku kapilary.

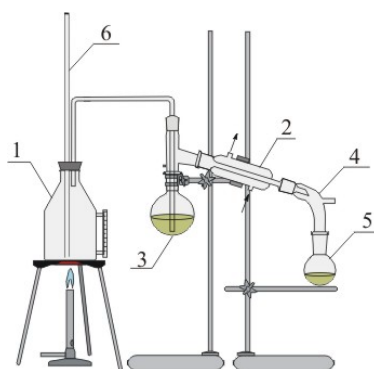
**Rys. 3** Zestaw do destylacji próżniowej z krówką destylacyjną



#### 4.4.3 DESTYLACJA Z PARĄ WODNĄ

Destylacja z parą wodną służy do oddzielenia z ciekłej mieszaniny składnika o wysokiej temperaturze wrzenia, nie mieszającego się z wodą lub mieszającego się w stopniu ograniczonym. Sposób ten polega na przeprowadzeniu w stan pary substancji organicznej za pomocą strumienia pary wodnej, przepuszczanej przez mieszaninę tej substancji z wodą. Jeżeli substancja ma prężność pary w temperaturze 100°C co najmniej 5-10 mmHg (6,5-13 hPa) oraz jest praktycznie nierozpuszczalna w wodzie, to nastąpi jej destylacja z parą wodną. Daje to w pewnym sensie efekt podobny do destylacji próżniowej, powoduje bowiem, że interesująca substancja destyluje w niższej temperaturze nie ulegając rozkładowi. Zestaw do destylacji przedstawiono na Rys. 4. Zestaw składa się z kociołka do wytwarzania pary wodnej, zamkniętego korkiem z rurką szklaną, pełniącą rolę zaworu bezpieczeństwa, kolby destylacyjnej, chłodnicy i odbieralnika.

**Rys. 4** Zestaw do destylacji z parą wodną.



1-wytwornica pary wodnej, 2-chłodnica, 3-kolba destylacyjna, 4-przedłużacz, 5-odbieralnik, 6-rurka bezpieczeństwa.

Destylacja z parą wodną polega na przepuszczeniu przez destylowaną ciecz znajdującą się w kolbie, pary wodnej wytworzonej w kociołku. Ciecz w kolbie osiągnie temperaturę wrzenia wówczas, gdy sumaryczne ciśnienie mieszaniny par jej składników będzie równe ciśnieniu atmosferycznemu.

Prężność par dla układu dwuskładnikowego (zgodnie z prawem Daltona) jest sumą prężności cząstkowych

$$p = p_w + p_A$$

Temperatura wrzenia mieszaniny będzie niższa od temperatury wrzenia każdego ze składników pod tym samym ciśnieniem.

Skład kondensatu można wyrazić następująco:

$$\frac{n_A}{n_w} = \frac{p_A}{p_w}$$

gdzie:  $n_A$  i  $n_w$  – liczba moli cząsteczek substancji A i wody

$p_A$  i  $p_w$  – prężności cząstkowe par substancji A i wody.

Po wprowadzeniu jednostki masy (m) skład azeotropowy można przedstawić następująco:

$$\frac{W_A}{W_{H_2O}} = \frac{M_A \times p_A}{18 \times p_w}$$

gdzie:  $M_A$  – masa cząsteczkowa substancji A

$\frac{W_A}{W_{H_2O}}$  - stosunek masowy substancji A i wody.

Destylację z parą wodną przeprowadza się następująco:

- wlać do kolby destylacyjnej ciecz do połowy jej objętości, zmontować zestaw do destylacji zgodnie z nią, chłodnicy i odbieralnika.

Rys. 4,

- włączyć ogrzewanie kociołka i po osiągnięciu temperatury wrzenia wody, przyłączyć go za pomocą wężyka do nasadki destylacyjnej,
- włączyć obieg wody w chłodnicy,
- kończąc destylację, rozłączyć kociołek z kolbą destylacyjną i wyłączyć ogrzewanie i chłodzenie.

Destylacja z parą wodną pozwala w łatwy sposób:

- oddzielić produkt od nielotnych produktów smolistych.
- wydzielić związek organiczny z wodnych roztworów soli nieorganicznych.



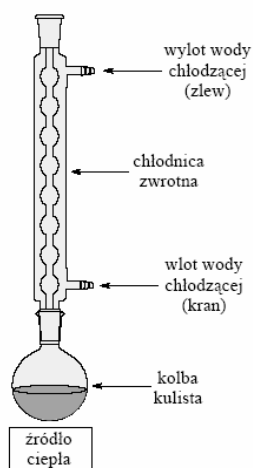
- oddzielić wiele substancji organicznych lotnych z parą wodną od związków organicznych nielotnych z parą wodną.

#### 4.4.4 OGRZEWANIE POD CHŁODNICĄ ZWROTNĄ

Zestaw do destylacji pod chłodnicą zwrotną przedstawiono na Rys. 5. Zestaw składa się z kolby destylacyjnej i chłodnicy zwrotnej. Często w miejsce chłodnicy Liebiga stosuje się chłodnicę śrubową Friedricha, która ma większą powierzchnię chłodzenia.

Zestaw do destylacji pod chłodnicą zwrotną stosuje się między innymi do prowadzenia reakcji powolnych wymagających podgrzewania oraz do krystalizacji z rozpuszczalników organicznych.

**Rys. 5** Zestaw do ogrzewania pod chłodnicą zwrotną



## 4.5 CHROMATOGRAFIA

Chromatografia, „pisanie kolorem” (gr. *chroma* = kolor + *graphe* = pisanie) jest techniką służącą do rozdzielania lub badania składu mieszanin związków chemicznych. W metodzie tej następuje rozdział mieszaniny składników pomiędzy dwie fazy: fazę nieruchomą - stacjonarną, (bibuła filtracyjna, cienka warstwa adsorbentu naniesiona na płytkę, wypełnienie kolumny), oraz fazę ruchomą - mobilną. Faza ruchoma stanowi tu siłę napędową procesu, z kolei faza nieruchoma odgrywa rolę siły hamującej migrację składników. Rozdział substancji pomiędzy obie fazy następuje na skutek różnicy współczynników podziału składników mieszaniny pomiędzy obydwie fazy. Szybkość migracji substancji jest tym większa im mniejszy jest współczynnik podziału (mniejsze powinowactwo składnika do danej fazy).

W ogólnym przypadku, chromatograficzny rozdział substancji następuje w wyniku przepuszczenia roztworu badanej mieszaniny przez specjalnie spreparowaną fazę stacjonarną. Podczas przepływu eluentu (fazy ruchomej) przez fazę stacjonarną następuje proces wymywania zaadsorbowanych (lub związanych) substancji. Intensywność tego procesu jest różna dla poszczególnych składników mieszaniny. Jedne składniki są więc zatrzymywane w fazie stacjonarnej dłużej, a inne krócej (inna jest retencja), dzięki czemu może następować ich separacja.

Chromatografia stosowana jest zarówno do badań jakościowych, ilościowych, jak i dla celów preparatywnych. Sprzężenie, chromatografii gazowej z innymi metodami, na przykład spektrometrią masową lub spektrofotometrią w podczerwieni, znacznie rozszerza możliwości identyfikacji rozdzielanych składników.

### 4.5.1 PODZIAŁ METOD CHROMATOGRFICZNYCH

Metody chromatograficzne można klasyfikować według wielu kryteriów. W zależności od rodzaju zastosowanego eluentu, czyli medium wymywającego, rozróżnia się następujące techniki chromatograficzne:

- **chromatografia cieczowa**, w której eluentem jest ciekły rozpuszczalnik lub mieszanina rozpuszczalników,
- **chromatografia gazowa**, w której eluentem jest gaz (zwykle wodór lub hel),
- **chromatografia fluidalna**, w której eluentem jest ciecz w stanie nadkrytycznym (fluid).

Z kolei, w zależności od stanu skupienia fazy nieruchomej= stacjonarnej, wyróżnia się chromatografię w układzie:

Faza ruchoma	Faza stacjonarna	Chromatografia
• <b>Gaz</b>	- <b>ciecz</b>	GLC ( <i>ang. Gas-Liquid Chromatography</i> ) gdzie fazą ruchomą jest gaz, a fazą stacjonarną ciecz naniesiona na nośnik. Przypadek chromatografii adsorpcyjnej
• <b>Ciecz</b>	- <b>ciecz</b>	LLC ( <i>ang. Liquid- Liquid Chromatography</i> ). Rzadko stosowana technika z uwagi na wzajemną rozpuszczalność cieczy. W praktyce stosuje się odmianę tej techniki, w której faza ciekła jest chemicznie związana ze stałym nośnikiem.
• <b>Gaz</b>	- <b>ciało stałe</b>	GSC ( <i>ang. Gas- Solid Chromatography</i> ) Technika GSC stosowana jest do identyfikacji i oznaczania składników mieszanin gazów oraz związków organicznych, które można bez rozkładu przeprowadzić w stan pary. W przypadku analizy związków nielotnych próbkę rozpuszcza się w odpowiednim rozpuszczalniku i wstrzykuje do odparownika. Tutaj zostaje przeprowadzona w stan gazowy i dalej przepływa z gazem nośnym przez termostatowaną kolumnę, na której ma miejsce rozdział składników. Próbkę wstrzykuje się przed kolumną do strumienia gazu nośnego przepływającego z określoną prędkością i pod zdefiniowanym ciśnieniem.

W chromatografii gazowej zasadniczy wpływ na rozdzielanie mieszanin mają różnice lotności separowanych składników. Do identyfikacji jakościowej i ilościowej związków wykorzystuje się tutaj właściwe dla nich czasy wyjścia składnika z kolumny i objętości retencji (powierzchnie piku). Objętość retencji jest to objętość gazu nośnego, jaka przejdzie przez kolumnę do momentu osiągnięcia maksymalnej wartości piku (szczytu piku) oznaczanej substancji. Na końcu kolumny znajduje się sprzężony z rejestratorem

detektor, czuły na zmiany składu gazu. Sygnały z detektora zapisywane są przez rejestrator. Tak powstaje wykres zależności stężenia poszczególnych składników od czasów ich retencji.

- **Ciecz - ciało stałe** LSC (*ang. Liquid- solid Chromatography*). W technice LSC rozdział substancji następuje na skutek dynamicznej konkurencji pomiędzy rozdzielanymi cząsteczkami i rozpuszczalnikiem (fazę ruchomą, eluent) o miejsca aktywne na powierzchni fazy stacjonarnej (adsorbentu). Składniki rozdzielanej mieszaniny i eluent w różnym stopniu oddziałują z adsorbentem, mówi się, że mają różne powinowactwo do adsorbentu i dlatego przemieszczają się przez adsorbent z różną szybkością. Adsorbenty mogą być polarne (np. żel krzemionkowy, tlenek glinu) i użyte z mało polarnym eluentem (np. heksan, chloroform, heksan z octanem etylu) lub w tzw. wersji z odwróconymi fazami, adsorbenty odpowiednio niepolarne (np. polimery) i eluenty polarne (np. woda, metanol).

W zależności od natury zjawisk stanowiących podstawę procesu chromatograficznego wyróżnia się:

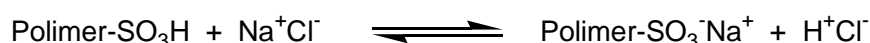
- **chromatografię adsorpcyjną** opartą na różnym powinowactwie adsorpcyjnym składników mieszaniny do odpowiednio dobranej powierzchni fazy stacjonarnej,
- **chromatografię podziałową**, uwarunkowaną różnicami w wartościach współczynnika podziału składników mieszaniny między dwie nie mieszające się fazy, z których jedna jest fazą stacjonarną (ciecz) osadzoną na nośniku, a druga fazą ruchomą (ciecz, fluid, gaz). W ramach chromatografii podziałowej wyróżnia się:
  - a. chromatografię podziałową klasyczną, w której fazą stacjonarną jest polarna ciecz, np. woda osadzona na obojętnym nośniku (żel krzemionkowy lub bibuła- kompleks celuloza-woda).

Rozpuszczona w fazie ruchomej próbka ulega podziałowi między obydwie fazy. O rozdziale decyduje prawo podziału Nernsta:

$$K = \frac{c_1}{c_2}$$

gdzie  $c_1$  i  $c_2$  oznaczają stężenia poszczególnych związków próbki w fazach ruchomej i stacjonarnej. Wartość ta charakteryzuje efektywność rozdzielenia składników mieszaniny w czasie przepływu przez fazę stacjonarną.

- b. chromatografię podziałową z odwróconymi fazami. W technice tej faza stacjonarna jest niepolarna (np. węglowodór), a ruchoma polarna (np. woda).
- c. chromatografię podziałową par jonowych, która używana jest do rozdzielania związków jonowych i ulegających jonizacji. W tym przypadku pary jonowe tworzą się w wyniku asocjacji cząsteczek z odpowiednio dużymi jonami organicznymi i w wyniku selektywnego podziału przechodzą do umiarkowanej solwatuującej fazy wodno-organicznej.
- **chromatografię jonowymienną**, której podstawą jest reakcja wymiany jonowej pomiędzy jonami z roztworu a jonami związanymi z fazą stacjonarną, występująca w postaci jonitów (nierozpuszczalnych kwasów  $R-SO_3H$ , gdzie  $R$ - polimer). Chromatografia jonowymienna służy do rozdzielania związków jonowych lub łatwo ulegających jonizacji. Adsorbentem w tej technice jest żywica (np. kopolimer styrenu i dwuwinylobenzenu) zawierająca dodatkowe grupy funkcyjne. Jeśli są to grupy zawierające reszty kwasowe (np. sulfonowe) to będą one reagować z kationami. Takie żywice nazywamy kationitami. Np.:



Z kolei żywice wymieniające aniony noszą nazwę anionitów i są nierozpuszczalnymi zasadami. Zawierają one reszty anionowe. Równowagę opisującą adsorpcję anionu chlorkowego na takim wypełnieniu można zapisać następująco:



W kombinację tego typu kationitu i anionitu wyposażone są odsalacze wody morskiej na tratwach ratunkowych.

Zróżnicowanie retencji z kolumny jonitowej (wypełnionej kationitem lub anionitem) zaadsorbowanych jonów (odpowiednio anionów lub kationów) uzyskuje się manipulując rodzajem żywicy (jonit silnie lub słabo kwasowy/zasadowy), zmieniając pH eluentu (np. dobierając odpowiedni szereg buforów) lub jego siłę jonową.

- **chromatografię sitową – żelową - sączenie molekularne.** Metoda ta, będąca odmianą kolumnowej chromatografii cieczowej, polega na wprowadzeniu badanego roztworu na kolumnę wypełnioną usieciowanym, obojętnym chemicznie złożem i eluowaniu kolumny tym samym rozpuszczalnikiem. Rozwój techniki sączenia molekularnego rozpoczął się w końcu lat 50-tych, kiedy to wprowadzono do zastosowań żel dekstranowy pod nazwą handlową Sephadex®. Rozdział związków w chromatografii żelowej dotyczy prawie wyłącznie związków wielkocząsteczkowych i polega na frakcjonowaniu cząsteczek pod kątem różnej ich masy i kształtu. Zjawisko tłumaczy się między innymi za pomocą teorii mechanicznej, która zakłada, że w porowatym, usieciowanym materiale złoża, małe cząsteczki swobodnie przenikają do porów, a większe trudniej. Stąd większe cząsteczki migrują przez kolumnę szybciej, a mniejsze wolniej. Wymywanie następuje w kolejności malejących rozmiarów cząsteczek. W odróżnieniu od innych technik chromatografii cieczowej, próbka wymywana jest przed rozpuszczalnikiem. Skutkiem tego, czasy retencji są stosunkowo krótkie. Wadą chromatografii żelowej jest brak możliwości zastosowania jej do rozdzielania związków o podobnej masie cząsteczkowej. Dlatego też, sączenie molekularne nie jest wykorzystywane do rozdzielania skomplikowanych mieszanin, ale raczej wstępnego rozseparowania frakcji różniących się wyraźnie masami cząsteczkowymi. I tak, w przypadku mieszaniny tej samej klasy związków (np. peptydów) ulegają wymywaniu kolejno frakcje związków o malejącym ciężarze molowym. Dysponując wzorcową mieszaniną można powiązać czasy retencji jej składników z ich ciężarem molowym (wyrażonym w Daltonach). Otrzymana zależność może posłużyć do wyznaczania ciężaru molowego składników nieznaney mieszaniny. Jest to metoda szczególnie przydatna dla rozdzielania enzymów i białek.

Kolejny podział metod chromatograficznych wynika z możliwości zastosowania różnorodnych technik rozdziału badanego materiału.

- **Chromatografia (technika) kolumnowa,**
- **Chromatografia (technika) planarna,** możliwa tylko w chromatografii cieczowej. W jej ramach można wyróżnić:
  - a. technikę cienkowarstwową TLC (*ang. Thin Layer Chromatography*),
  - b. technikę bibułową.

Z kolei, ze względu na parametry procesu można mówić o :

- **wykosprawnej/ciśnieniowej chromatografii cieczowej,** HPLC (*ang. High Performance/Pressure Liquid Chromatography*), która jest odmianą cieczowej chroma-

tografii kolumnowej, z użyciem eluentu pod wysokim ciśnieniem. Technika HPLC stosowana jest w przypadku trudnych podziałów, np. w sytuacji gdy rozdzielić trzeba związki niewiele się różniące lub gdy stawia się wysokie wymagania co do czystości izolowanych związków. Zastosowanie, w takim przypadku, zwykłej chromatografii kolumnowej musi prowadzić do wydłużenia drogi, którą pokonuje rozdzielana próbka przez wypełnienie (wydłużenie kolumny) oraz/lub zastosowanie aktywniejszych wypełnień. W takim jednak przypadku złoże stwarza opór, co zwalnia lub uniemożliwia przeprowadzenie rozdziału. Opór ten pokonuje się nanosząc eluent pod wysokim ciśnieniem w celu wymuszenia optymalnego przepływu. Rozwój systemów wprowadzania i pompowania roztworów, doskonalenie wypełnień kolumn oraz dostępność standaryzowanych rozpuszczalników wpłynęła na intensywny rozwój wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC. Większe ciśnienia stosowane w HPLC w porównaniu z tradycyjną chromatografią kolumnową wymagają zastąpienia kolumn szklanych metalowymi. HPLC jest szczególnie przydatna dla związków, których ze względu na ich małą stabilność nie da się analizować tańszą metodą chromatografii gazowej. Metoda ta znalazła zastosowanie m.in. do rozdzielania związków fizjologicznie czynnych.

- **Szybka, białkowa/szybkosprawna chromatografia cieczowa, FPLC** – (*ang. Fast Protein/Performance Liquid Chromatography*) będąca odmianą HPLC działająca na niższych ciśnieniach, stosującą prócz złożeń sorpcyjnych, także zwykłe złoża typu sit molekularnych. Służy ona głównie do rozdziału białek i polipeptydów.

## 4.5.2 WYBRANE METODY CHROMATOGRAFICZNE

### 4.5.2.1 CHROMATOGRAFIA CIECZOWA

Początki chromatografii wiąże się z osobą profesora Michała Cwieta, rosyjskiego botanika, profesora Uniwersytetu Warszawskiego, który 23 kwietnia 1905 r. dokonał pierwszego chromatograficznego rozdziału mieszaniny barwników organicznych. W pionierskim doświadczeniu użył on wypełnionej sproszkowanym węglanem wapnia (kredą) kolumny szklanej. Chloroformowy roztwór barwników organicznych, naniósł na wierzchołek kolumny. Roztwór, w miarę przechodzenia przez warstwę kredy, ulegał rozdziałowi i poszczególne składniki były widoczne w postaci barwnych stref. Po wyjęciu słupka kredy z kolumny barwniki zostały podzielone i wyodrębnione.

W kolejnych latach zamiast kredy, do wypełnień kolumn chromatograficznych, stosowano inne, bardziej efektywne wypełnienia (adsorbenty), dające lepsze rozdziały. Mimo niewątpliwych zalet chromatografia kolumnowa była jednak stosunkowo kłopotliwa z powodu braku dobrych adsorbentów i dlatego była rzadko stosowana w laboratoriach chemicznych. Wrócono do niej po latach, stosując jako wypełnienia kolumn żele krzemionkowe lub tlenek glinu w postaci granulek o wymiarach ułamka milimetra - np. 0.1 mm.

#### 4.5.2.2 CHROMATOGRAFIA BIBUŁOWA

Poszukując sposobów upraszczania i przyspieszania rozdzałów chromatograficznych, kolumnę zastąpiono bibułą. W technice bibułowej na pasek lub arkusz bibuły nanosi się mikrostrzykawką lub kapilarą plamkę (o średnicy do 2 mm) roztworu rozdzielanej mieszaniny. Koniec paska z naniesioną plamką zanurza się w zamkniętym naczyniu w takiej ilości fazy ruchomej, aby plamka była nad jej powierzchnią. Faza ruchoma, podobnie jak w chromatografii kolumnowej, może składać się z jednego rozpuszczalnika lub być ich mieszaniną. Ciecz wznosząc się w bibule do góry (jest to przykład występowania efektu kapilarnego - bibułę można rozpatrywać jako zbiór kapilar), zabiera ze sobą składniki mieszaniny, z których jedne wędrują szybciej, inne wolniej. Różnice w szybkości migracji poszczególnych składników mieszaniny wynikają z ich odmiennego oddziaływania z fazą stacjonarną (bibuła – kompleks woda). W wyniku występowania efektu kapilarnego i różnic w oddziaływaniu z fazą stacjonarną (prawo podziału Nernsta), następuje rozdzał mieszaniny. Otrzymuje się chromatogram w postaci plamek. Jest to chromatografia bibułowa wstępująca. Niekiedy stosuje się chromatografię zstępującą, w której faza ruchoma migruje w bibule do dołu.

Przy analizie mieszanin zawierających składniki barwne, plamki odpowiadające poszczególnym związkom chemicznym wchodzącym w skład mieszaniny można zlokalizować wzrokiem. Gdy plamki nie są barwne (w skład mieszaniny wchodziły związki bezbarwne), dąży się do ich wizualizacji. Do uwidocznienia chromatogramów stosuje się roztwór ninhydryny, pary jodu, bromu, roztwór waniliny w kwasie solnym i wiele innych odczynników w zależności od rodzaju rozdzielanych substancji. Istotą procesu "wywoływania" chromatogramu są reakcje barwne zachodzące pomiędzy wyodrębnionymi składnikami (lub tylko jednym z wyodrębnionych składników) i odczynnikiem użytym do wizualizacji plamek. W przypadku rozdzału mieszanin substancji "znakowanych" izotopami radioaktywnymi, do bibuły przykłada się kliszę fotograficzną, na której po wywołaniu otrzymuje się zacernienie jako obraz



rozdzielonych składników mieszaniny. Wielkość i zaczerwienie plamki, pozwala również na ilościową ocenę zawartości składnika w mieszaninie.

Jakość rozdziału bardzo zależy od rodzaju użytej bibuły. "Zwykła" bibuła nie jest najlepszym podłożem do chromatografii, w tym celu produkowane są specjalne ich rodzaje (Whatman, Schleicher & Schüll).

W latach 50-tych i 60-tych chromatografia bibułowa posłużyła jako narzędzie do rozwikłania procesów fotosyntezy. Z jej pomocą Melvin Calvin, stosując radioaktywny węgiel  $C^{14}$  w  $CO_2$ , zidentyfikował etapy tzw. ciemnej fazy fotosyntezy, zwanej obecnie cyklem Calvin'a. Za odkrycie mechanizmu fotosyntezy otrzymał w 1961 prestiżową nagrodę Nobla.

#### 4.5.2.3 CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA

Udoskonaleniem chromatografii bibułowej jest chromatografia cienkowarstwowa, TLC (*ang. Thin Layer Chromatography*). Zamiast bibuły, stosuje się tutaj płytkę szklaną lub folię aluminiową pokrytą warstwą żelu krzemionkowego, tlenku glinu lub celulozy. Do celów analitycznych stosuje się płytki z warstwą żelu nie przekraczającą grubości rzędu 0.15 mm. Wśród zalet chromatografii cienkowarstwowej wymienić należy:

- lepszy rozdział mieszanin niektórych grup związków niż chromatografia bibułowa,
- większą szybkość rozwijania chromatogramu niż w chromatografii bibułowej,
- ograniczenie zjawiska dyfuzji (plamki są mniej rozmyte niż na bibule),
- większa czułość metody (możliwość detekcji mniejszej ilości substancji),
- stosunkowo prosta i dokładna metoda identyfikacji i ilościowego oznaczania związków rzędu mikrogramów, i wreszcie
- niska cena stosowanego sprzętu.

Nanoszenie plamek, rozwijanie chromatogramu, wywoływanie i ilościowe oznaczanie zawartości poszczególnych składników wykonuje się podobnie jak w przypadku chromatografii bibułowej.

## Sposób wykonania chromatogramu TLC

W celu przeprowadzenia analizy metodą chromatografii cienkowarstwowej wykonać należy następujące czynności:

- **Przygotowanie komory chromatograficznej.** Do komory chromatograficznej (zlewka) wlewa się przygotowany wcześniej roztwór eluentu na wysokość około 0.5 cm. W celu wysycenia komory parami mieszaniny rozwijającej zlewkę pozostawiamy pod przykryciem na około 15 minut. W przypadku rozpuszczalników trudno lotnych proces ten można przyspieszyć umieszczając we wnętrzu zlewki bibułę filtracyjną zwiniętą w cylinder, zanurzoną w eluencie i przylegającą do ścianek naczynia.
- **Przygotowanie płytki chromatograficznej.** Wycinamy płytkę chromatograficzną, której szerokość dostosowana jest do ilości nanoszonych substancji. W tym celu zakładamy około jednocentymetrowe odstępy pomiędzy nanoszonymi plamkami oraz 1 cm na margines. Wysokość płytki ustalamy tak, aby odstęp pomiędzy linią startu a górną krawędzią płytki wynosił około 11 cm. Z jednego końca płytki - linia startowa, w pewnym odstępnie od krawędzi (ok. 1 cm), za pomocą ołówka zaznaczamy cienką linię (tak aby nie uszkodzić warstwy adsorbentu), na którą наносimy punktowo, za pomocą mikropipety lub kapilary, roztwór chromatografowanych związków.
- **Rozwinięcie chromatogramu.** Płytkę umieszczamy w komorze chromatograficznej tak by poziom eluentu na dnie sięgał poniżej miejsca naniesienia (linii startowej). Wstępujący na skutek sił kapilarnych eluent przemieszcza się wraz z naniesionymi związkami w górę płytki, z różną prędkością, zależnie od powinowactwa do adsorbentu.
- **Zakończenie chromatogramu.** Gdy czoło rozpuszczalnika osiągnie górny koniec płytki (minimum 0.5 cm od górnej krawędzi płytki), chromatogram jest rozwinięty. Wyjmujemy wtedy płytkę z komory i za pomocą ołówka zaznaczamy miejsce, do którego dotarło czoło rozpuszczalnika.
- **Wywołanie chromatogramu.** Płytkę suszymy i oglądamy chromatogram w świetle widzialnym lub nadfioletowym.

Związki barwne, pod warunkiem, że eluent został prawidłowo dobrany, widoczne będą w postaci barwnych plamek rozrzuconych na odcinku od miejsca naniesienia do czoła rozpuszczalnika (Rysunek 6). W przypadku związków absorbujących światło UV, można użyć adsorbentu związanego z substancją wykazującą w świetle UV. Na takim chromatogramie ogląda-

nym w świetle UV, położenie poszczególnych związków będzie widoczne w postaci ciemnych plamek na fluoryzującym tle. Inaczej mówiąc, w miejscach położenia plamek absorbujące światło UV związki ekranują wskaźnik fluorescencyjny, maskując jego fluorescencję. *Jakościowa TLC z detekcją UV, pozwala na zarejestrowanie ilości rzędu  $10^{-4}$  mmola związku!* Chromatogram można również uwidocznić odpowiednim odczynnikiem (np. jod, ninhydryna, roztwór  $\text{KMnO}_4$  itp.) dającym barwne produkty reakcji z rozdzielanymi związkami. Jednak przy takiej detekcji, w odróżnieniu od detekcji za pomocą UV, związki są zwykle bezpowrotnie tracone.

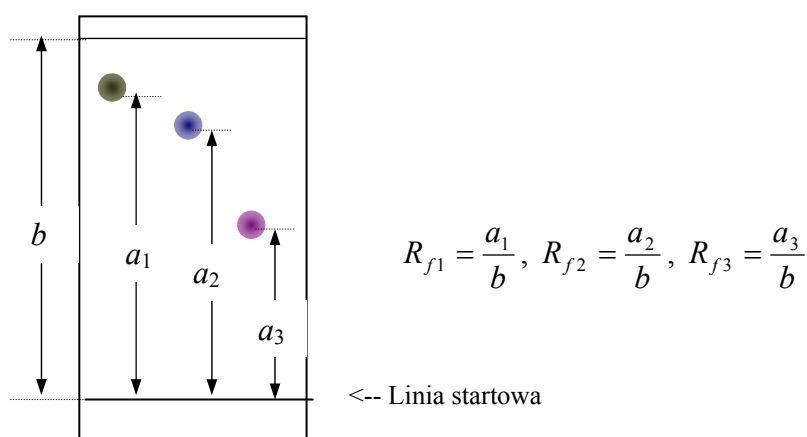
Metoda chromatografii cienkowarstwowej opiera się na różnicach w szybkościach przemieszczania się rozdzielanych związków na płycie chromatograficznej. Dla porównania zdolności przemieszczania się związków w metodzie TLC i bibułowej stosuje się parametr  $R_f$  odzwierciedlający względną ruchliwość związku w stosunku do czoła rozpuszczalnika, który przy danym rodzaju płytki i składzie układu rozwijającego jest stały. Stosunek odległości plamki od punktu startu ( $a$ ) do odległości czoła układu rozwijającego ( $b$ ) określony jest jako:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Parametr ten nosi nazwę, współczynnika opóźnienia  $R_f$  (ang. *retardation factor*) określany jest także mianem czasu retencji  $R_f$ .

Współczynnik  $R_f$  jest wielkością stałą, charakterystyczną dla danej substancji organicznej i może posłużyć do jej identyfikacji.

**Rysunek 6** Przykład chromatogramu TLC trzech związków różniących się parametrem  $R_f$ .



Chromatografia cienkowarstwowa znalazła również zastosowanie w preparatyce. W wersji preparatywnej TLC rozdział mieszaniny prowadzi się na płytkach o grubszej, na przykład 3 mm, warstwie adsorbentu. Rozdzielaną mieszaninę nanosi się nie punktowo, ale w linii

na długości kilkunastu centymetrów. Po rozdzieleniu warstwę adsorbentu zawierającą wyodrębniony składnik mieszaniny zeszkrobuje się, a sam składnik ekstrahuje (wyplukuje) rozpuszczalnikiem i po zateżeniu oraz odsączeniu adsorbentu otrzymuje w stanie czystym.

W ostatnich latach opracowano nowy sposób rozwijania chromatogramów na cienkich warstwach w pozycji poziomej. Sposób ten wymaga mniejszej ilości układu rozwijającego i umożliwia wielokrotne użycie płytek.

#### 4.5.2.4 CHROMATOGRAFIA KOLUMNOWA

Stosuje się ją do preparatywnego wydzielenia produktów reakcji z mieszanin poreakcyjnych. Adsorbent w postaci zawiesiny lub stałej upakuje się w szklanej rurce zwężonej z jednej strony lub zakończonej kranem i na tak przygotowane złoże nanosi się roztwór lub suchy adsorbent z rozdzielaną mieszaniną. *Ważne jest by ilości nanoszonego związku i adsorbentu były dopasowane. Z jednej strony zbyt mała ilość związku spowoduje, że część adsorbentu nie będzie uczestniczyła w rozdzieleniu (marnotrawstwo adsorbentu), a w skrajnym przypadku, stężenie poniżej progu wykrywalności uniemożliwi detekcję. Z drugiej strony zbyt duża ilość prowadzi do tzw. przeładowania złoża uniemożliwiającego rozdzielenie składników mieszaniny.* Następnie, przez złoże (upakowany adsorbent) przepuszcza się eluent. Polarność podawanego na kolumnę eluentu można zmieniać stopniowo wprowadzając kolejno mniej polarny, a potem bardziej polarny lub płynnie - stosując gradient stężeń rozpuszczalników. Eluent może być przepuszczany grawitacyjnie lub pod niewielkim ciśnieniem. W ten sposób najpierw wmywane są produkty mniej polarne, a dopiero potem te bardziej polarne. Kontrolę otrzymanych w ten sposób frakcji zwykle wykonuje się za pomocą techniki TLC.

## 5 PREPARATYKA ORGANICZNA

### 5.1 PREARATY JEDNOETAPOWE

#### 5.1.1 POCHODNA 3,4-DIHYDROPIRYMIDYN-2-ONU

##### (5-etoksykarbonyl-4-fenyl-6-metyl-3,4-dihydropyrimidyn-2(1*H*)-on)

Prezentowany preparat 5-etoksykarbonyl-4-fenyl-6-metyl-3,4-dihydropyrimidyn-2(1*H*)-on (ester etylowy kwasu 6-metylo-2-okso-4-fenyl-1,2,3,4-tetrahydropyrimidyno-5-karboksyłowego) jest przykładem zyskujących na znaczeniu w ostatnich latach reakcji wieloskładnikowych (MCR-multi component reactions) i przeprowadzanych w jednym naczyniu (one-pot reactions). Są to kilkietapowe reakcje, w których z kilku prostych reagentów zmieszanych w jednym naczyniu, bez wydzielania i oczyszczania produktów pośrednich otrzymuje się zaawansowany pod względem struktury produkt. Powodem zainteresowania tymi reakcjami jest ich efektywność polegająca na tym, że:

- większość atomów zawarta w substracie pozostaje w produkcie;
- substraty są zróżnicowane i łatwo dostępne;
- uzyskuje się oszczędności dzięki prowadzeniu reakcji w jednym naczyniu bez wydzielania i oczyszczania produktów pośrednich.

Tytułowy związek jest przedstawicielem 3,4-dihydropyrimidynonów, ważnej grupy związków organicznych z uwagi na ich interesujące własności farmakologiczne (min. przeciwwirusowe, przeciwnowotworowe i przeciwbakteryjne). Nie należy go wiązać z piramidonem, używanym kiedyś środkiem przeciwgorączkowym, który należy do innej grupy związków. Otrzymuje się go w trójetapowej sekwencji, i następujących po sobie reakcji, bez wydzielania produktów pośrednich.

#### **Etap I**

Jest to najwolniejszy etap. Polega on na utworzeniu z benzaldehydu i mocznika protonowanej iminy **1** (kationu imoniowego **1**) (patrz Morrison, Boyd - Rozdziały: Reakcje aldehydów i ketonów oraz Otrzymywanie amin.)

#### **Etap II**

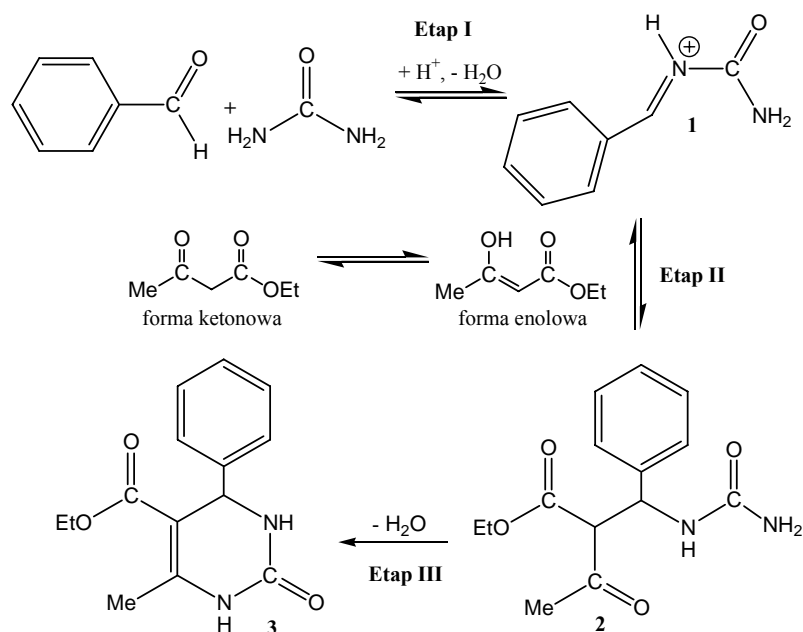
W tym etapie **1** reaguje (rodzaj reakcji Knoevenagel'a, patrz Vogel - Pochodne kwasów karboksylowych) z enolową formą acetylooctanu etylu z utworzeniem pochodnej mocznika **2**. Nowe wiązanie C-C powstaje pomiędzy elektrofilowym węglem  $sp^2$  kationu imoniowego **1**, a nukleofilowym węglem enolu sąsiadującym z grupą estrową. W roztworach  $\beta$ -

ketoestrów, których przedstawicielem jest acetylooctan etylu obserwuje się tzw. równowagę tautomeryczną, w której obie uczestniczące w niej formy, ketonowa i enolowa mają znaczący udział. Tautomery są formami tego samego związku powstającymi jedna z drugiej na skutek reorganizacji układu atomów i układu elektronowego.

### Etap III

W końcowym etapie, w addukcie **2**, pierwszorzędowa grupa amidowa reaguje wewnątrzcząsteczkowo z ketonową lub jej formą enolową (akceptor typu Michaela, patrz Morrison, Boyd addycja nukleofilowa do układów  $\alpha,\beta$  nienasyconych). Kolejną następującą eliminacją wody daje produkt **3**. Całą sekwencję dla upamiętnienia jej odkrywcy nazwano reakcją Biginellego (Schemat 2).

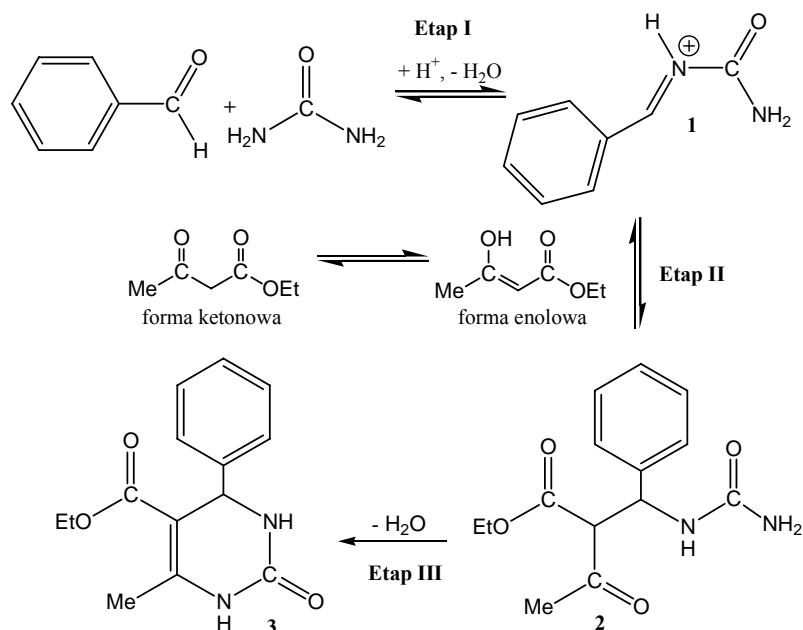
### Schemat 2



Wskutek ogrzewania, w ciągu 1,5 h, trzy proste substraty ulegają dość skomplikowanemu przekształceniu w pochodną **3**, w którym obok tworzenia dwóch różnych wiązań węgiel-azot (imina i ureid) zrealizowany jest najważniejszy w syntezie organicznej proces tworzenia wiązania węgiel-węgiel.

Biorąc pod uwagę stereochemię, w drugim etapie reakcji z achiralnych substratów iminy i enolu tworzy się centrum asymetryczne, które zostaje zachowane w czasie cyklizacji i jest obecne na czwartym atomie węgla produktu **3**.

### 5.1.1.1 OTRZYMYWANIE POCHODNEJ 3,4-DIHYDROPIRYMIDYN-2-ONU



ODCZYNNIKI:	ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Benzaldehyd	$M_{cz}=106,12 \text{ g/mol}$ $T_w=178-179^\circ\text{C}$ $d=1,045 \text{ g/cm}^3$	127 $\mu\text{l}$ (133 mg, 1.25 mmol)
Acetylooctan etylu	$M_{cz}=130,16 \text{ g/mol}$ $T_w=181^\circ\text{C}$ $d=1,021 \text{ g/cm}^3$	242 $\mu\text{l}$ (247 mg, 1.9 mmol)
Etanol 95 %	$M_{cz}=46,07 \text{ g/mol}$ $T_w=78^\circ\text{C}$	0.5 $\text{cm}^3$ + 2 $\text{cm}^3$ na przemycie
Mocznik	$M_{cz}=60,06 \text{ g/mol}$ $T_i=132-135^\circ\text{C}$	75 mg (1.25 mmol)
Stężony HCl		1 kropla

W kolbce okrągłodennej (5  $\text{cm}^3$ ) zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne i chłodniczkę umieszczamy benzaldehyd, acetylooctan etylu, mocznik i etanol. Po dodaniu do mieszaniny jednej kropli stężonego kwasu solnego całość ogrzewamy w temperaturze wrzenia przez 1.5 h. Następnie kolbkę chłodzimy do 0  $^\circ\text{C}$  i powstały osad odsączamy i przemywamy zimnym etanolem.

Wydajność produktu waha się w granicach 20-80 % (65-260 mg). Jest to białe ciało stałe o temperaturze topnienia w zakresie 198-200  $^\circ\text{C}$ .

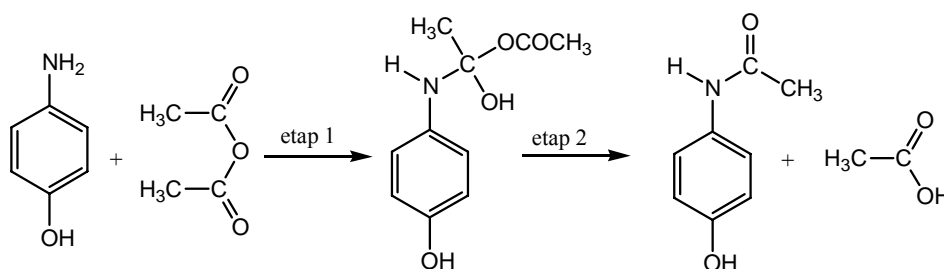
Dodatkowo jego powstanie dokumentujemy za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Na płytkę TLC наносimy obok siebie benzaldehyd, acetylooctan etylu i produkt. Chromatogram rozwijamy w układzie chloroform:metanol, w stosunku objętościowym 16:1 i jego wynik oglądamy w świetle UV, a następnie wywołujemy parami jodu.

## 5.1.2 PARACETAMOL

### (4-hydroksyacetanilid, 4-acetamidofenol)

Jedną z metod otrzymywania 4-hydroksyacetanilidu polega na chemoselektywnym acetylowaniu p-aminofenolu bezwodnikiem octowym w wodzie. Produkt jest drugim, obok aspiryny, przykładem popularnego leku przeciwbólowego. Występuje pod takimi nazwami jak: ACETAMINOFEN, PARACETAMOL, czy APAP. Przedawkowany działa trująco. Minimalna dawka śmiertelna (MLD) w przypadku królików wynosi 3.7 g/kg. Substrat w tej metodzie, p-aminofenol, jest składnikiem wywoływaczy fotograficznych (Rodinal). p-Aminofenol tak jak glicynę i kwas sulfanilowy zalicza się do związków amfoterycznych z uwagi na obecność w jego cząsteczce ugrupowania o charakterze zasadowym – aminy aromatycznej oraz kwasowym – fenolu. W przeciwieństwie jednak do nich nie występuje w postaci jonu dwubiegunowego. Powodem tego, jest znacznie większa zasadowość sprzężonego do tego kwasu anionu fenolanowego od obecnej w cząsteczce aminy. Jest on najsilniejszą zasadą spośród słabych zasad, pochodnych aniliny, takich jak, sama anilina i jej trzy nitro izomery, wspomnianych w materiałach do ćwiczeń.

Acetylowanie bezwodnikiem octowym p-aminofenolu jest kolejnym przykładem reakcji substytucji związków acylowych (porównaj opisy aspiryny, acetanilidu, octanu etylu, acetyloglicyny i pięciooctanu glukozy), którą w tym przypadku można przedstawić za pomocą dwóch następujących po sobie etapów:



Etap pierwszy polega na przyłączeniu aminy do trygonalnego atomu węgla bezwodnika octowego z utworzeniem przejściowego, tetraedrycznego produktu z nowym wiązaniem C-N. W reakcji tej p-aminofenol jest czynnikiem nukleofilowym, a bezwodnik octowy elektrofilowym.

Drugi etap polega na odszczepieniu kwasu octowego. Towarzyszy mu rozerwanie wiązania C-O i powstanie trygonalnego produktu – 4-hydroksyacetanilidu.

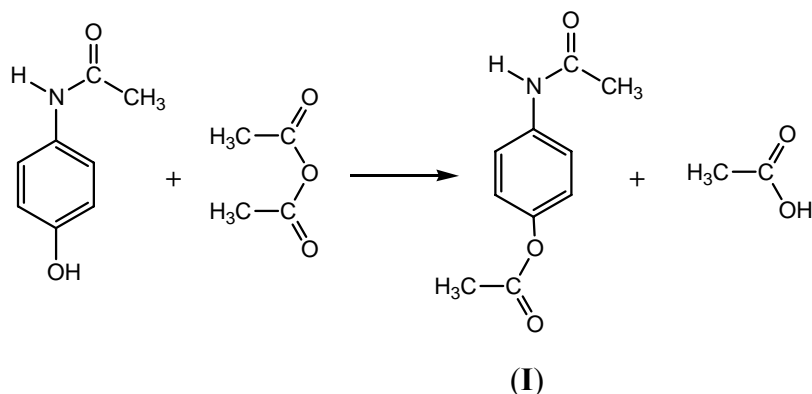
Omawiana reakcja acetylowania przebiega w obecności wody jako towarzyszącego rozpuszczalnika. Jest to możliwe ze względu na znacznie mniejszą reaktywność wody w porównaniu



z N-nukleofilową aminą w stosunku do bezwodnika octowego. W obecności wody można acylować także inne pochodne amin jak np. anilinę i glicynę (patrz *Preparatyka organiczna* A. I. Vogel'a). Podczas gdy, słabsze O-nukleofile np. kwas salicylowy, etanol, czy glukoza, wymagają acetylowania w warunkach bezwodnych (z uwagi na konkurencję wody), a nawet, dodatkowo, użycia katalizatora.

Mimo, iż prowadzona przez nas reakcja przebiega w warunkach uwodnionych, również i w tym przypadku obserwuje się powstawanie niepożądanego produktu O-acetylowania (**I**) (Schemat 3). Tworzeniu N, O-diacetylowej pochodnej (**I**) sprzyja bowiem użyty w nadmiarze bezwodnik octowy.

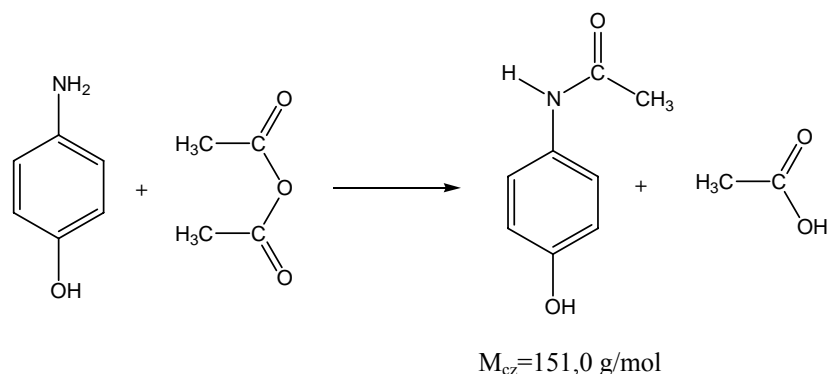
**Schemat 3**



W takim przypadku obserwuje się niezgodność wartości temperatury topnienia produktu końcowego (4-hydroksyacetanilidu) z temperaturą literaturową. Otrzymany produkt jest bowiem zanieczyszczony domieszką dioctanu (**I**). Oczyszczanie produktu końcowego przeprowadza się poprzez rozpuszczenie produktu na zimno w roztworze wodorotlenku sodu. Wodorotlenek sodu hydrolizuje labilny ester fenolanu (**I**) nie naruszając ugrupowania amidowego. Prowadzi to do powstania soli sodowej, którą przeprowadza się w czysty produkt (4-hydroksyacetanilid) dodając kwas np. HCl (patrz *Preparatyka organiczna* A. I. Vogel).

Acetaminofen jest nazwą często spotykaną (patrz katalogi firm np. Aldrich, Fluka) jednak niezgodną z zasadami nazewnictwa. Na jej podstawie trudno odtworzyć wzór związku, choć nazwa nawiązuje do elementów struktury.

### 5.1.2.1 OTRZYMYWANIE PARACETAMOLU



ODCZYNNIKI:	IŁOŚĆ:	LOKALIZACJA:
<i>p</i> -Aminofenol	$M_{cz}=109,13 \text{ g/mol}$ $T_f=185-189 \text{ }^\circ\text{C}$	5,5 g (0,05 mola)
Bezwodnik octowy	$M_{cz}=102,09 \text{ g/mol}$ $T_w=138-140 \text{ }^\circ\text{C}$ $d=1,08 \text{ g/cm}^3$	6 cm <sup>3</sup> (ok. 0,06 mola)
Paracetamol, APAP	$M_{cz}=151 \text{ g/mol}$	
Eluent i płytka do chromatografii	chloroform : metanol w proporcji 16:1	

W kolbce stożkowej, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, ogrzewamy do wrzenia przez 15 min. zawiesinę 5,5 g (0,05 mola *p*-aminofenolu) w 15 cm<sup>3</sup> wody i 6 cm<sup>3</sup> (ok. 0,06 mola) bezwodnika octowego. Ogrzewanie prowadzimy pod wyciągiem. W trakcie ogrzewania *p*-aminofenol rozpuszcza się całkowicie.

Po ochłodzeniu mieszaniny, wytracają się kryształy surowego produktu. Jeśli kryształy nie powstają, dodajemy wodę, ciągle mieszając. Surowy produkt odsączamy na lejku Buchnera i przemywamy kilkakrotnie wodą.

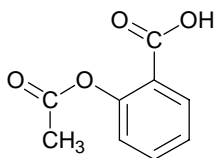
Otrzymany produkt rekrytalizujemy z około 40 cm<sup>3</sup> wody i suszymy na powietrzu. Mierzmy temperaturę topnienia otrzymanych kryształów. Czysty 4-hydroksyacetanilid powinien topić się w zakresie 168-172°C.

Czystość otrzymanego produktu oceniamy także na podstawie chromatografii cienkowarstwowej, wobec substratu (*p*-aminofenolu), oraz wzorca z tabletki zawierającej 4-hydroksyacetanilid. Chromatografię przeprowadzamy na płytkach chromatograficznych np. firmy Merck® (płytki aluminiowe pokryte SiO<sub>2</sub> ze wskaźnikiem fluorescencyjnym).

Chromatogram rozwijamy trzykrotnie w układzie CHCl<sub>3</sub>:MeOH w stosunku objętościowym 16:1. Detekcję plamek na chromatogramie wykonujemy w świetle UV, a następnie w komorze z parami jodu.

### 5.1.3 ASPIRYNA

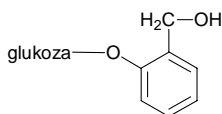
(kwas acetylosalicylowy, polopiryna)



kwas acetylosalicylowy

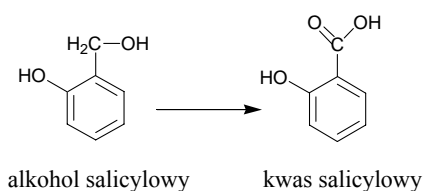
W roku 1893 Felix Hoffman, chemik pracujący dla firmy Bayer, rozpoczął badania nad związkami chemicznymi, pokrewnymi kwasu salicylowego. O związku pozyskiwanym z salicyny, wyizolowanym w roku 1827 z kory różnych gatunków drzew z rodzaju wierzby (*Salix*) wiadomo było, że posiada właściwości uśmierzające ból. Lecznicze właściwości wierzby i spokrewnionych z nią roślin, takich jak topola, znane były od wieków. Już Hipokrates w starożytnej Grecji stosował wyciągi z kory wierzbowej do zbijania gorączki i uśmierzania bólu.

Cząsteczka salicyny zawiera w swej strukturze pierścień glukozy. Próżno jednak doszukiwać się dla tego związku słodkiego smaku.

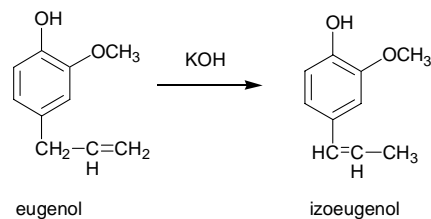


salicyna

W procesie obróbki chemicznej, salicyna rozpada się właśnie na glukozę oraz alkohol salicylowy, który następnie utlenia się do kwasu salicylowego.



Zarówno alkohol salicylowy jak i kwas salicylowy należą formalnie do grupy fenoli, z uwagi na obecność grupy OH podstawionej do pierścienia aromatycznego. Cząsteczki te w swej strukturze podobne są do naturalnych środków owadobójczych izolowanych z goździków, gałki muskatołowej oraz imbiru (izoeugenol, eugenol) stosowanych z powodzeniem w medycynie naturalnej. Niewykluczone więc, iż salicyna stanowi taki właśnie naturalny środek chroniący wierzbę przed szkodnikami.



Kwas salicylowy pozyskuje się także z kwiatów tawuły (*Spirea ulmaria*).

Kwas salicylowy, aktywny składnik cząsteczki salicyny, wykazuje obok właściwości obniżających gorączkę oraz uśmierzających ból, także stosunkowo silne działanie przeciwzapalne. Kwas ten, ma przy tym silniejsze właściwości przeciwzapalne niż sama salicyna, ale też w większym stopniu podrażnia śluzówkę żołądka. Ta niewątpliwie niekorzystna cecha kwasu salicylowego wpłynęła na dalsze prace badawcze Hoffmana, których celem było znalezienie pochodnej, zachowującej właściwości przeciwzapalne kwasu salicylowego, a zarazem zmniejszającej dolegliwości związane z niekorzystnym jego oddziaływaniem na śluzówkę żołądka.

40 lat wcześniej zsyntetyzowany przez A. Kolbe'go kwas acetylosalicylowy okazał się spełniać te kryteria.

Eksperyment, nawiasem mówiąc, przeprowadzony na ojcu badacza, powiódł się i to zarówno w przypadku ojca Hoffmana jak i całej firmy Bayer. Acetylowana forma kwasu salicylowego okazała się lekiem skutecznym i dobrze tolerowanym przez organizm. Firma Bayer wprowadzając na rynek w 1899 roku sproszkowaną aspirynę (1) stała się niemal synonimem samej aspiryny, zapewniając sobie ugruntowaną pozycję w przemyśle farmaceutycznym na długie lata. Jak ważny to lek może świadczyć fakt, że patent na produkcję aspiryny uzyskały Stany Zjednoczone po pierwszej wojnie światowej jako reparację wojenną od Niemiec.

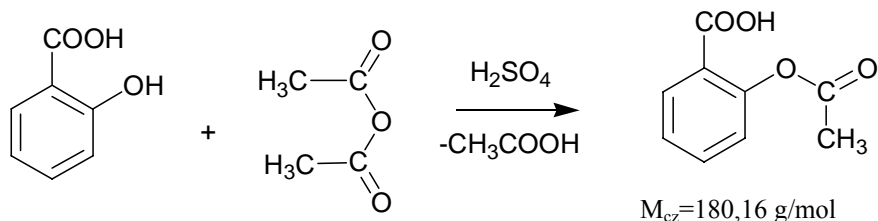
Jednak dopiero 20 lat temu odkryto mechanizm działania aspiryny. Stwierdzono, że działanie przeciwbólowe, przeciwgorączkowe i przeciwzapalne kwasu acetylosalicylowego polega na blokowaniu syntezy prostaglandyn poprzez dezaktywację enzymów odpowiedzialnych za jej przebieg. Dziś aspiryna jest najczęściej używanym lekiem w leczeniu wielu chorób oraz obrażeń fizycznych. Poza uśmierzaniem bólu, obniżaniem temperatury ciała i zapobieganiem stanom zapalnym, lek ten jest polecany jako środek rozrzedzający krew, zapobiegający udarom, a także zakrzepicy krwi. Stosowana jest między innymi w profilaktyce przeciwzawałowej. Wszechstronność działania aspiryny oraz jej ogólna dostępność prowadzą niekiedy do jej

---

(1) nazwa preparatu „aspiryna” pochodzi od złożenia- *a-* acetyl, *spir-* *Spirea ulmaria*- Tawuła- roślina z której pozyskiwano kwas salicylowy

nadużywania. Należy pamiętać, że mimo niskiej toksyczności nie jest to preparat obojętny dla organizmu ludzkiego (dolegliwości gastryczne do krwawień wewnętrznych włącznie).

### 5.1.3.1 OTRZYMYWANIE ASPIRYNY



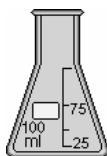
$M_{cz}=180,16 \text{ g/mol}$

ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Kwas salicylowy bezwodny	$M_{cz}=138,12 \text{ g/mol}$	5 g (0,036 mola)	Pracownia
Bezwodnik octowy	$M_{cz}=102,09 \text{ g/mol}$ $T_w=138-140^\circ\text{C}$ $d=1,08 \text{ g/cm}^3$	7,5 g (7cm <sup>3</sup> ; 0,073 mola)	Pokój laboranta
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> stężony	$M_{cz}=98 \text{ g/mol}$ $d=1,84 \text{ g/cm}^3$	3 krople	Pracownia
Etanol	$M_{cz}=46,07 \text{ g/mol}$ $T_w=78,3^\circ\text{C}$	20 cm <sup>3</sup>	Pokój laboranta
Kwas acetylosalicylowy	$M_{cz}=180,16 \text{ g/mol}$		
Eluent i płytka do chromatografii	aceton: n-butanol: 10% NH <sub>4</sub> OH w proporcji 6:3:1		Pokój laboranta

Aspiryna, kwas acetylosalicylowy, związek krystaliczny o temperaturze topnienia 135°C, trudno rozpuszczalny w wodzie, rozpuszczalny w roztworach wodorotlenków i rozpuszczalnikach organicznych. Otrzymywany przez acetylowanie kwasu salicylowego bezwodnikiem octowym. Synteza ta jest przykładem reakcji estryfikacji fenolu za pomocą bezwodnika octowego.

W suchej kolbie stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup> umieszczamy 5 g bezwodnego kwasu salicylowego, 7,5 g bezwodnika octowego i dodajemy 3 krople stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> mieszając przy tym starannie zawartość kolby, ruchem wirowym.

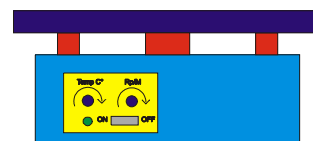
Następnie, mieszaninę ogrzewamy na łaźni wodnej w temperaturze 50-60°C ciągle mieszając w ciągu 15 minut (nie przegrzewać!), i okresowo kontrolując temperaturę. Mieszaninę pozostawiamy do ostygnięcia, wstrząsając ją co pewien czas, następnie dodajemy 70 cm<sup>3</sup> wody, starannie mieszamy i sącymy pod zmniejszonym ciśnieniem.



kolba stożkowa



krystalizator lub kociołek z wodą



piecyk elektryczny

Osad rozpuszczamy w 20 cm<sup>3</sup> etanolu i wylewamy do około 35 cm<sup>3</sup> gorącej wody. Jeśli osad wydzieli się natychmiast, mieszaninę ogrzewamy ponownie do uzyskania przezroczystego roztworu, który pozostawiamy do powolnego ochłodzenia. Osad wytrąca się w postaci pięknie wykształconych igieł. Kryształy odsączamy, przemywamy niewielką ilością wody i suszymy na powietrzu.

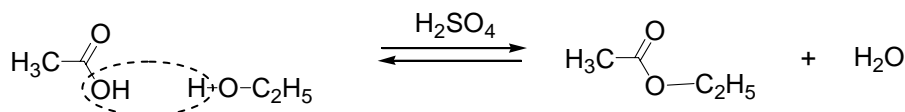
W czasie ogrzewania kwas acetylosalicylowy ulega rozkładowi i nie można go scharakteryzować poprzez określenie temp. topnienia.

Temperatura rozkładu związku waha się w zakresie 128-130°C.

### **Chromatografia cienkowarstwowa otrzymanego produktu:**

W małych fiolkach sporządzamy metanolowe roztwory kwasu salicylowego, otrzymanego produktu i handlowej aspiryny. Nanosimy je na płytkę do chromatografii cienkowarstwowej pokrytą SiO<sub>2</sub>, suszymy i rozwijamy rozpuszczalnikiem trójskładnikowym: aceton: n-butanol: 10% NH<sub>4</sub>OH w proporcji (6:3:1 V/V/V). Wynik chromatogramu obserwujemy w świetle UV.

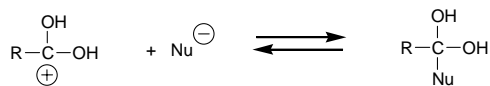
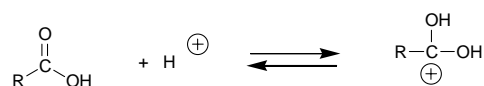
### 5.1.4 OCTAN ETYLU



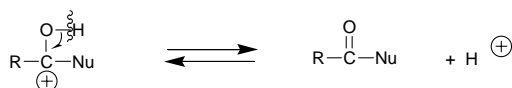
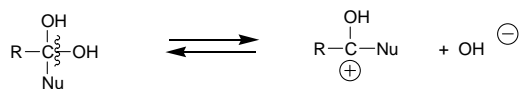
Estry możemy uważać za pochodne alkoholi, w których wodór grupy OH zastąpiono resztą kwasu karboksylowego, a więc acylem (R-CO-). Można je otrzymać przez działanie na kwas organiczny w alkoholu niewielką ilością mocnych kwasów mineralnych.

Reakcję tę nazywamy **estryfikacją**. Pomimo, że proces estryfikacji przypomina proces tworzenia się soli z kwasów i zasad (reakcja zobojętniania), to jednak różni się od niego zasadniczo. Tworzenie soli, jest reakcją jonową i przebiega niezmiernie szybko. Natomiast tworzenie się estru przebiega wolno, i jest reakcją zachodzącą między cząsteczkami kwasu karboksylowego i alkoholu.

Reakcja kwasu karboksylowego polega na oddziaływaniu odczynnika **nukleofilowego** z karbonylowym atomem węgla. Nukleofile wykazują powinowactwo do atomów lub cząsteczek ubogich w elektrony, a więc posiadających lukę elektronową lub ładunek dodatni. Właściwości nukleofilowe wykazują aniony lub cząsteczki z wolnymi parami elektronowymi, np.: Cl<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, I<sup>-</sup>, OH<sup>-</sup>, RO<sup>-</sup>, SH<sup>-</sup>, HOH, ROH, NH<sub>3</sub>, NR<sub>3</sub> itp. oraz cząsteczki zawierające elektrony π np. alkeny, areny. Reakcja ta jest katalizowana przez protony, które przyłączając się do tlenu grupy karbonylowej ułatwiają nukleofilowy atak na dodatni atom węgla. Ogólny przebieg, katalizowanych przez protony, nukleofilowych reakcji kwasów karboksylowych, można zapisać następująco:

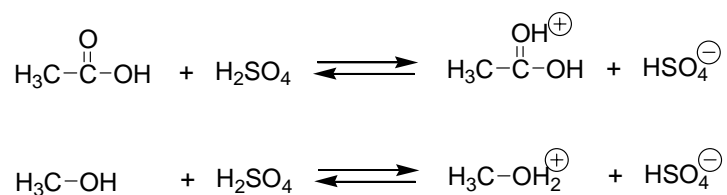


Nu<sup>⊖</sup> - odczynnik nukleofilowy

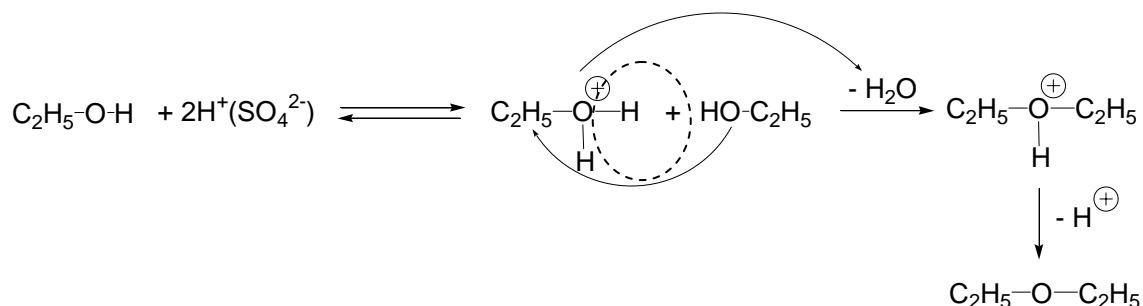




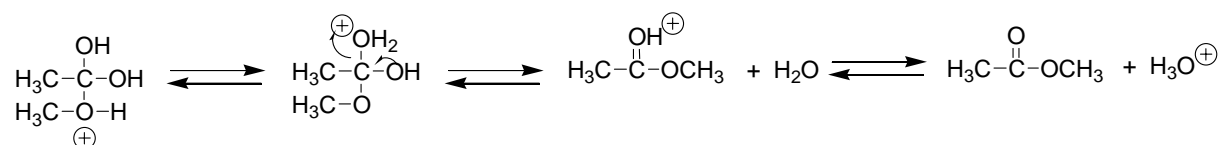
Estryfikacja jest typową reakcją odwrotną, przebiegającą do osiągnięcia stanu równowagi. Bez dodatku kwasu nieorganicznego szybkości reakcji w obu kierunkach są niewielkie. Z kolei, mocne kwasy, użyte w niezbyt dużych ilościach, działają katalitycznie. Jeśli jednak użyć mocnego kwasu (np. kwas siarkowy) w dużych ilościach może to spowodować dostarczenie protonu niewiążącym parom elektronowym atomu tlenu, zarówno w kwasie karboksylowym jak i w alkoholu:



Powstaje wówczas wodorosiarczan np. metylooksoniowy, który może działać w kierunku zmniejszania reaktywności alkoholu w stosunku do karbonylowego atomu węgla w kwasie octowym. Przy dużych stężeniach kwasu, alkohol prawie całkowicie przejdzie w nieaktywny jon alkoksoniowy, co prowadzi do wytworzenia odpowiedniego eteru:



W reakcjach prowadzonych przy właściwie dobranych ilościach kwasu, antykatalityczny wpływ jonu alkoksoniowego jest z nadwyżką kompensowany dzięki protonowaniu tlenu karbonylowego w cząsteczce kwasu karboksylowego, ponieważ w tym przypadku zwiększa ono znacznie zdolność węgla karbonylowego do przyłączania pary elektronowej:

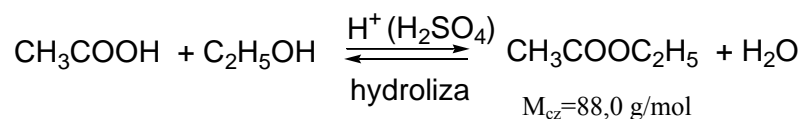


Jak wspomniano wcześniej, reakcja estryfikacji jest reakcją odwrotną. W przypadku reakcji etanolu z kwasem octowym, stała równowagi w temperaturze pokojowej wynosi ok. 4, co odpowiada w 66% przemianie w ester.

$$K = \frac{[\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5][\text{H}_2\text{O}]}{[\text{CH}_3\text{COOH}][\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}]} \cong 4$$

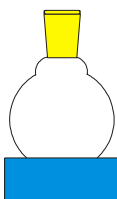
Reakcję można przeprowadzić do końca usuwając ester w miarę jego powstawania.

### 5.1.4.1 OTRZYMYWANIE OCTANU ETYLU



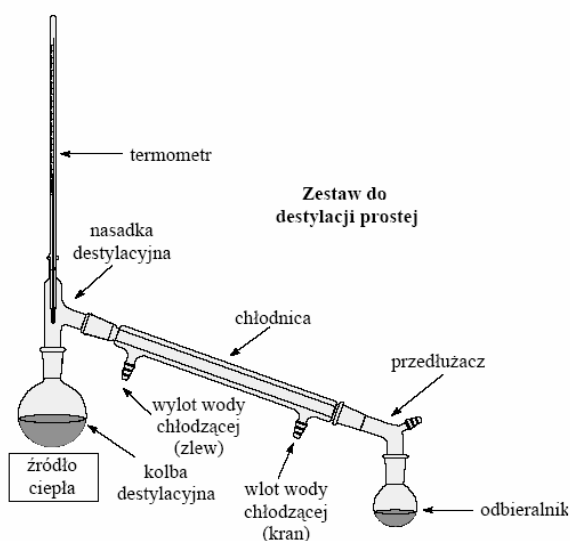
ODCZYNNIKI:	ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:	
C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	$M_{cz}= 46,07 \text{ g/mol}$ $T_w= 78^\circ\text{C}$ $d= 0,785\text{g/cm}^3$	<b>15 cm<sup>3</sup></b> (0,26 mola) <b>50 cm<sup>3</sup></b> (0,85 mola)	Pokój laboranta
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> stężony	$d= 1,84 \text{ g/cm}^3$	<b>15 cm<sup>3</sup></b> (0,28 mola)	Pracownia
CH <sub>3</sub> COOH lodowaty	$M_{cz}= 60,05 \text{ g/mol}$ $T_w= 118,5^\circ\text{C}$ $d= 1,049 \text{ g/cm}^3$	<b>50 cm<sup>3</sup></b> (0,87 mola)	
Octan etylu	$M_{cz}=88 \text{ g/mol}$		
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> roztwór nasycony			
CaCl <sub>2</sub> bezwodny			
MgSO <sub>4</sub> bezwodny		<b>ok. 2g</b>	

W kolbie o pojemności 250 cm<sup>3</sup> umieszczamy 15 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego, a następnie mieszając i chłodząc, na łaźni wodnej, dodajemy powoli 15 cm<sup>3</sup> stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



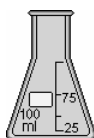
kolba okrągłodenna

Montujemy zestaw do destylacji. Zamiast termometru umieszczamy wkraplacz z mieszaniną 50 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego i 50 cm<sup>3</sup> lodowatego kwasu octowego.



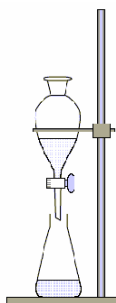
Mieszaninę reakcyjną ogrzewamy ostrożnie do momentu pojawienia się w kolbie oparów alkoholu etylowego. Od tej chwili rozpoczynamy wkraplanie mieszaniny z rozdzielacza z szybkością równą szybkości oddestylowania powstającego octanu etylu. Układ należy utrzymywać w stanie umiarkowanego wrzenia. Przegrzanie mieszaniny reagentów (przekroczenie temperatury  $140^{\circ}\text{C}$ ) może prowadzić do odwodnienia alkoholu i powstawania, niepożądanego, znacznej ilości eteru etylowego.

Otrzymany destylat, oprócz estru, zawiera kwas octowy i etanol. W celu usunięcia kwasu octowego, do destylatu zebranego do kolby stożkowej, dodajemy małymi porcjami nasycony roztwór węgla sodowego, aż do obojętnego (wobec papierka wskaźnikowego) odczynu warstwy organicznej oraz zaprzestania wydzielania się  $\text{CO}_2$ .



kolba stożkowa

Następnie, roztwór przenosimy do rozdzielacza. Dolną warstwę wodną oddzielamy. Górną warstwę estrową przenosimy do kolby stożkowej i wytrząsamy z bezwodnym  $\text{CaCl}_2$  w celu usunięcia nie przereagowanych ilości alkoholu etylowego. Chlorek wapnia tworzy z etanolem związek addycyjny łatwo rozpuszczalny w wodzie, a nierozpuszczalny w octanie etylu.



rozdzielacz

Mieszaninę przenosimy do rozdzielacza. Pozostawiamy w rozdzielaczu do rozdzielania warstw. Następnie, oddzielamy górną warstwę surowego estru od pozostałości zawierającej  $\text{CaCl}_2$ .

Oddzieloną, górną warstwę estrową przenosimy do suchej kolby stożkowej z korkiem, o objętości ok.  $100\text{ cm}^3$ , suszymy nad bezwodnym  $\text{MgSO}_4$  (ok. 2 g.). Pozostawiamy ciecz nad środkiem suszącym na 10 minut.

Odsączamy środek suszący przez mały sączonek karbowany do suchej kolby okrągłodennej o pojemności 250 cm<sup>3</sup>.

Na koniec, surowy ester destylujemy, za pomocą zestawu do destylacji zwykłej, zbierając czysty octan etylu w temperaturze 76,5- 77,5°C.

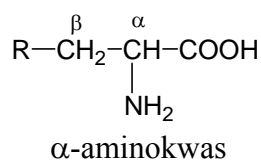
### 5.1.5 ACETYLOGLICZYNA

Aminokwasy, to związki o szczególnym znaczeniu biologicznym, ponieważ stanowią podstawową jednostkę budulcową białek. Aminokwasy uczestniczą w biosyntezie wielu związków w komórkach roślin, zwierząt i drobnoustrojach. Niektóre z nich stanowią produkty wyjściowe do biosyntezy ważnych hormonów, np. z tyrozyny powstaje tyroksyna i adrenalina. Wszelkie rodzaje procesów fizjologicznych związanych z uprawianiem sportu – regeneracja energii, rozwój mięśni, spalanie tłuszczów, a także funkcjonowanie naszych nastrojów i praca umysłu – pozostają w ścisłym związku z aminokwasami.

Jak wskazuje ich nazwa, aminokwasy są związkami dwufunkcyjnymi. Zawierają zarówno zasadową grupę aminową (-NH<sub>2</sub>), jak i kwasową grupę karboksylową (-COOH). W zależności od położenia grupy aminowej, możemy wyróżnić α, β, γ, δ i ε- aminokwasy. Ze względu na liczbę grup aminowych i karboksylowych wyróżniamy aminokwasy:

- obojętne - gdy jest tyle samo (zwykle po jednej) grup aminowych i karboksylowych
- kwaśne - gdy przeważa liczba grup karboksylowych
- zasadowe - gdy przeważa liczba grup aminowych

Szczególne znaczenie mają aminokwasy ze względu to, że są podstawowymi jednostkami budulcowymi białek/polipeptydów. W skład białek i polipeptydów wszystkich organizmów żywych wchodzi 20 "podstawowych" aminokwasów, które są α-aminokwasami szeregu L oraz wiele innych, w większości będących pochodnymi aminokwasów podstawowych.

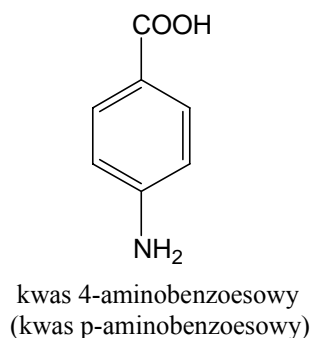
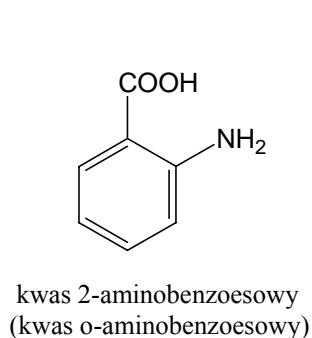
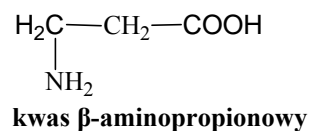
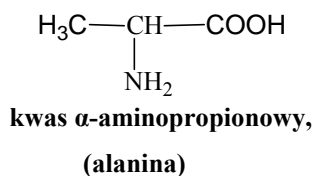
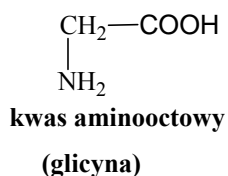


Każdy α-aminokwas prócz grup funkcyjnych zawiera także atom wodoru i charakterystyczny dla siebie podstawnik oznaczany ogólnie jako R. Jest on różny dla poszczególnych aminokwasów i nazywany jest łańcuchem bocznym aminokwasu. Może on przybierać różne kształty czy wielkości. Może również zawierać dodatkowe grupy funkcyjne, takie jak alkoholowa, fenolowa, tiolowa, metylosulfidowa, disulfidowa, aminowa, karboksylowa, amidowa, guanidynowa. W związku z tym łańcuch boczny może wykazywać właściwości kwasowe, zasadowe lub obojętne.

W aminokwasach, podobnie jak w hydroksykwasach, grupę karboksylową uważa się za główną. Nazwy tworzy się z nazw kwasów dodając przedrostek amino- poprzedzony ewentu-

alnie liczebnikiem di-, tri-, itp. oraz lokantami wskazującymi miejsce podstawienia grupy aminowej.

**Przykładowe aminokwasy:**



## KLASYFIKACJA AMINOKWASÓW

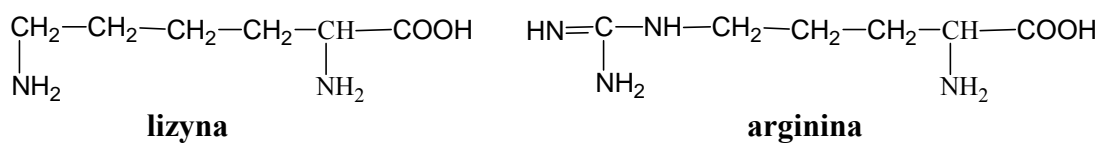
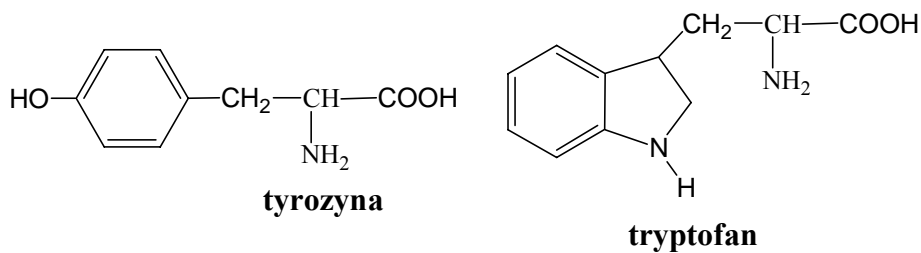
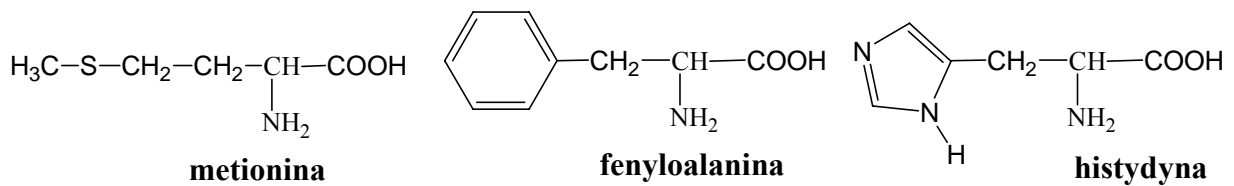
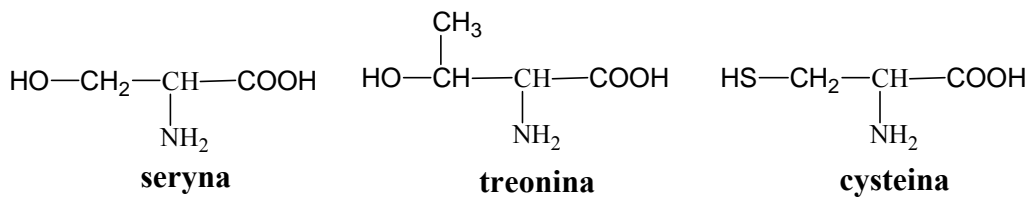
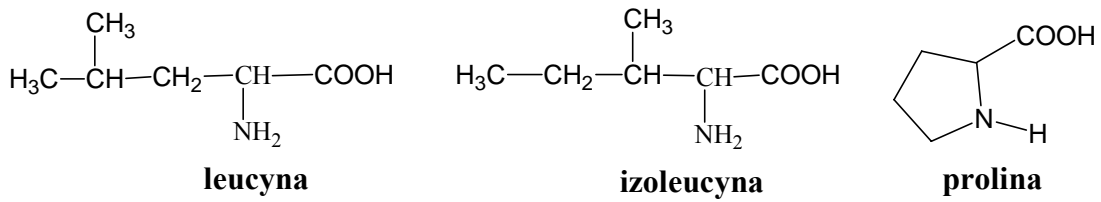
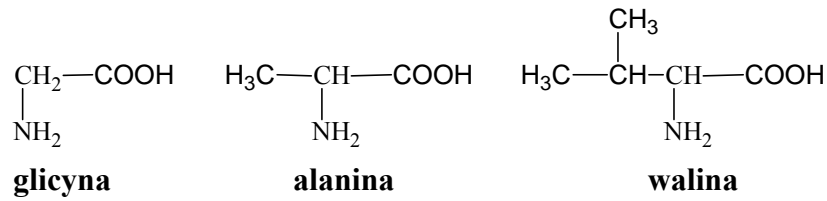
Wszystkie aminokwasy można podzielić na dwie klasy: aminokwasy alifatyczne i aminokwasy aromatyczne. Pierwsze z nich zawierają w cząsteczkach grupy funkcyjne związane z nasyconymi, tetraedrycznymi atomami węgla. W cząsteczkach aminokwasów aromatycznych, obie grupy funkcyjne związane są z atomami węgla pierścieni aromatycznych.

Aminokwasy alifatyczne dzieli się z kolei na odpowiednie grupy w zależności od położenia, jakie zajmuje grupa aminowa w stosunku do grupy karboksylowej. W  $\alpha$ -aminokwasach grupa aminowa i grupa karboksylowa połączone są z tym samym atomem węgla. W cząsteczkach  $\beta$ -aminokwasów obydwie grupy połączone są z sąsiednimi atomami węgla. Połączenie grup aminowych z dalszymi atomami węgla łańcucha węglowodorowego prowadzi odpowiednio do  $\gamma$ -,  $\delta$ -,  $\epsilon$ -aminokwasów.

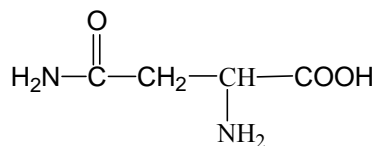
## AMINOKWASY NATURALNE

W przyrodzie występuje ponad 150 różnych aminokwasów, z których największe znaczenie mają  $\alpha$ -aminokwasy, a zwłaszcza tzw. aminokwasy naturalne, będące jednostkami strukturalnymi białek. Wyodrębniono ich ~20. Główne z nich to: glicyna, alanina, walina, leucyna,

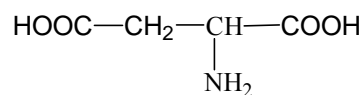
izoleucyna, prolina, seryna, treonina, cysteina, metionina, fenyloalanina, tyrozyna, tryptofan, aspargina, kwas asparginowy, glutamina, kwas glutaminowy, lizyna, arginina i histydyna.



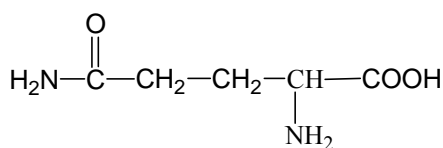




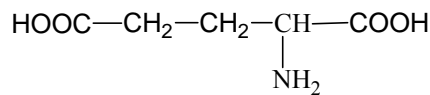
**aspargina**



**kwas asparginowy**



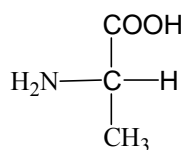
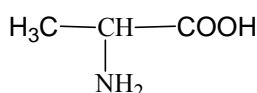
**glutamina**



**kwas glutaminowy**

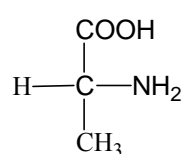
Nazewnictwo systematyczne  $\alpha$ -aminokwasów wynika z dotychczas poznanych reguł. Jednak w odniesieniu do białkowych  $\alpha$ -aminokwasów i ich pochodnych nie jest ono stosowane. Powszechnie używane są natomiast nazwy zwyczajowe. Poza tym, dla określenia aminokwasów występujących w białkach, stosowane są skróty utworzone od ich nazw zwyczajowych (Tabela 3).

Ponieważ cząsteczki wszystkich aminokwasów naturalnych (z wyjątkiem glicyny) zawierają przynajmniej jeden asymetryczny atom węgla (wszystkie cztery podstawniki różne), związki te wykazują czynność optyczną (chiralność). Dla każdego aminokwasu możliwe są więc dwie formy enancjomeryczne, ale przyroda używa tylko jednego z enancjomerów do budowy białek. Z powodu podobieństwa strukturalnego do L-cukrów, naturalnie występujące  $\alpha$ -aminokwasy często nazywane są L- $\alpha$ -aminokwasami.



L- $\alpha$ -alanina

aminokwas białkowy



D- $\alpha$ -alanina

aminokwas niebiałkowy

W projekcji Fischera występujące naturalnie aminokwasy przedstawia się, umieszczając grupę  $-\text{COOH}$  na górze, podobnie jak przy rysowaniu wzoru węglowodanu, a następnie umieszczając grupę  $-\text{NH}_2$  po lewej stronie. W przypadku  $\alpha$ -aminokwasów o przynależności do szeregu konfiguracyjnego D lub L decyduje konfiguracja pierwszego węgla asymetrycznego (inaczej niż to ma miejsce w przypadku hydroksyaldehydów, hydroksykwasów i węglowoda-

nów, gdzie decydującą jest konfiguracja na ostatnim centrum stereogenicznym). Oczywiście w przypadku aminokwasów można także stosować metodę Cahn, Ingolda i Preloga, pozwalającą na podanie konfiguracji bezwzględnej S lub R każdego z asymetrycznych atomów węgla cząsteczki.

Wszystkie aminokwasy naturalne, a jest ich ~20, są konieczne do syntezy białka, ale organizm ludzki może syntetyzować samodzielnie tylko niektóre z nich. Są to tzw. **aminokwasy endogenne** (ang. DAA - *dispensable amino acids*).

Pozostałe aminokwasy białkowe muszą być systematycznie dostarczane organizmowi w pożywieniu. Są to tzw. **aminokwasy egzogenne** (ang. IAA - *indispensable amino acids*), nazywane też **aminokwasami niezbędnymi** lub **podstawowymi**.

Zawartość i równowaga aminokwasów, w szczególności stosunek aminokwasów niezbędnych IAA do zbędnych DAA jest tym czynnikiem, który decyduje o wartości pobieranego, w produktach spożywczych lub odżywkach, białka dla rozwoju ciała i dla zdrowia. Niedostatek aminokwasów podstawowych w diecie może wywołać chorobę organizmu.

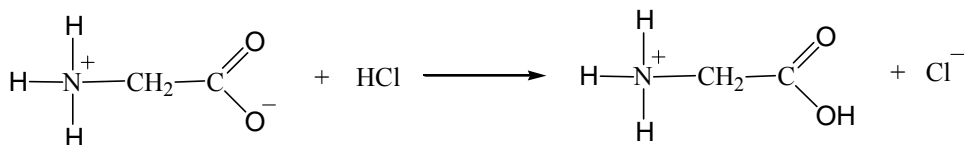
Rośliny i niektóre drobnoustroje syntetyzują samodzielnie wszystkie aminokwasy białkowe.

Naturalne aminokwasy są stosowane w leczeniu w przypadkach nieprawidłowej gospodarki białkowej, np. złego przyswajania białka lub dużej jego utraty spowodowanej przewlekłymi chorobami, marskością wątroby lub operacjami chirurgicznymi. Są również wykorzystywane jako surowce w syntezie leków.

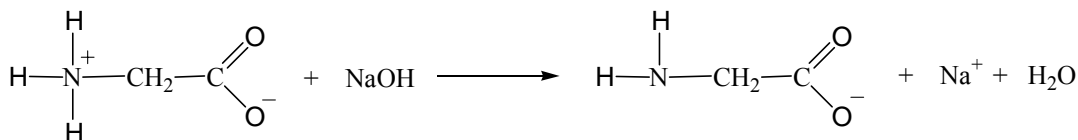
Duże znaczenie ma kwas 4-aminobenzoowy (paraaminobenzoowy, PAB) występujący w drożdżach, który zalicza się do witamin grupy B i jest czynnikiem wzrostowym dla bakterii (stanowi część cząsteczki kwasu foliowego). Zastąpienie kwasu paraaminobenzoowego związkiem o podobnej strukturze powoduje hamowanie rozwoju bakterii. Takim związkiem jest między innymi kwas paraaminosalicylowy (PAS), stosowany w leczeniu gruźlicy. Cząsteczki PAS wchodzi w miejsce PAB, ale nie mogą spełniać jego funkcji, co hamuje syntezę kwasu foliowego w komórkach prątków.

## WŁAŚCIWOŚCI AMINOKWASÓW

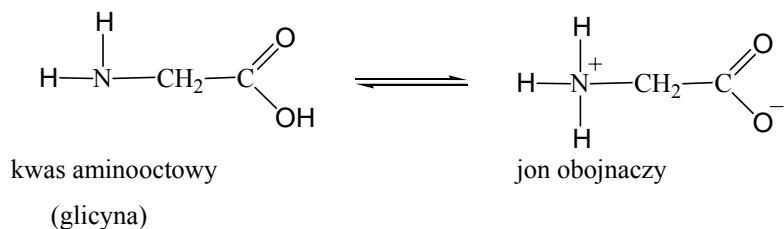
Aminokwasy zawierają w swojej budowie dwie bardzo reaktywne grupy: grupę karboksylową o charakterze kwaśnym, a więc zdolną do odszczepienia protonu, oraz grupę aminową o charakterze zasadowym, co przejawia się tendencją do przyłączania protonu. Mają więc charakter amfoteryczny. W zależności od pH środowiska mogą występować jako kationy lub aniony. W wodnym roztworze kwaśnym, jon obojnaczy wiąże proton przekształcając się w kation:



Natomiast w roztworze zasadowym jon ten odszczepia proton ulegając przemianie w anion:

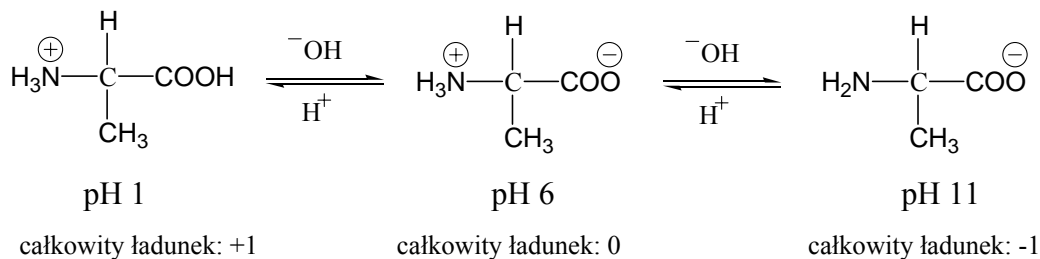


Właściwości kwasowo-zasadowe aminokwasu charakteryzuje tak zwany **punkt izoelektryczny**. Punkt izoelektryczny jest to taka wartość pH roztworu, przy której dysocjacja grupy karboksylowej i protonowanie grupy aminowej są identyczne. W takim roztworze aminokwasy występują głównie w formie **jonu dipolowego** albo **obojnaczego** (lub **zwiterjonu** od niemieckiego *zwitter*, „hybryda”). Na przykład w przypadku glicyny stosunek formy naładowanych cząsteczek do formy jonu **obojnaczego wynosi 1: 2600 000**:



W punkcie izoelektrycznym stężenia formy anionowej i formy kationowej aminokwasu są identyczne, dlatego roztwór zachowuje się tak, jakby wszystkie cząsteczki były elektrycznie obojętne.

W roztworach o pH niższym niż wartość pI (punktu izoelektrycznego) zaczyna przeważać protonowanie aminy, przewagę zyskują jony dodatnie (amoniowe), zaś w roztworach o pH wyższym niż punkt izoelektryczny przewagę zyskuje dysocjacja grupy karboksylowej – wzrasta stężenie anionu.



Dla większości aminokwasów punkt izoelektryczny przypada w zakresie pH 4.8-6.3 (Tabela 3). Wartość pI leży poza tym zakresem, jeżeli cząsteczka aminokwasu zawiera dodatkowo grupy kwasowe lub zasadowe w łańcuchu bocznym.

Różnice punktów izoelektrycznych wykorzystuje się do rozdziału mieszanin aminokwasów (a także białek) na czyste składniki, w technice zwanej elektroforezą. Wywołuje się migrację cząsteczek aminokwasów lub białek w polu elektrycznym. W roztworze buforowym o określonym pH cząsteczki aminokwasów o ładunku ujemnym (te, które utraciły proton, gdyż ich punkt izoelektryczny jest poniżej pH buforu) migrują w kierunku elektrody dodatniej. Jednocześnie cząsteczki aminokwasów o ładunkach dodatnich (te, które zostały sprotonowane, gdyż ich punkt izoelektryczny jest powyżej pH buforu) migrują w kierunku elektrody ujemnej. Ponadto różne aminokwasy migrują z różną prędkością, dlatego mogą być tą drogą rozdzielone.

Jony obojnacze aminokwasów są rodzajem wewnętrznych soli i dlatego charakteryzują się wieloma właściwościami fizycznymi, typowymi dla soli. Mają duże momenty dipolowe, stąd dobrze rozpuszczają się w wodzie, amoniaku i innych rozpuszczalnikach polarnych, za to źle rozpuszczają się w niepolarnych (benzen, eter, heksan) i mniej polarnych rozpuszczalnikach (etanol, metanol, aceton) Są substancjami krystalicznymi o wysokich temperaturach topnienia a raczej rozkładu (Tabela 3).

**Tabela 3 Ważniejsze właściwości aminokwasów**

Nazwa aminokwasu	Skrót	Masa cząsteczkowa	pK <sub>a1</sub>	pK <sub>a2</sub>	Temp.rozk. [°C]	Rozp. w wodzie 25°C [g/100 cm <sup>3</sup> ]	Rozp. w wodzie 100°C [g/100 cm <sup>3</sup> ]	pI
Glicyna	Gly	75	2.34	9.60	240	25	67,2	5,97
Alanina	Ala	89	2.34	9.69	297	16,5	37,7	6,01
Walina	Val	117	2.32	9.62	315	8,8	18,8	5,96
Leucyna	Leu	131	2.36	9.60	337	2,4	5,6	5,98
Izoleucyna	Ile	131	2.36	9.60	284	4,1	8,25	6,02
Seryna	Ser	105	2.21	9.15	228	5	32,2	5,68
Treonina	Thr	119	2.09	9.10	253	20,5	-	6.16
Cysteina	Cys	121	1.96	10.28	178	-	-	5,02
Metionina	Met	149	2.28	9.21	283	3,5	17,6	5,74
Prolina	Pro	115	1.99	10.60	222	16,2	23,9	6,30
Lizyna	Lys	146	2.18	8.95	224	-	-	9,82
Arginina	Arg	174	2.17	9.04	238	-	-	10,76
Histydyna	His	155	1.82	9.17	277	0,43	-	7,59
Aspargina	Asn	132	2.02	8.80	236	3.0	55,1	2,77
Glutamina	Gln	146	2.17	9.13	185	3,6	-	5,65
Asparginian	Asp	133	1.88	9.60	270	0,5	6,9	2,77
Glutaminian	Glu	147	2.19	9.67	249	0,85	14,0	3,24
Fenylalanina	Phe	165	1.83	9.13	284	2,9	9,9	5,49
Tyrozyna	Tyr	181	2.20	9.11	344	0,04	0,56	5,66
Tryptofan	Trp	204	2.83	9.39	282	1,14	5,0	5,89

Temp. rozk. - temperatura rozkładu

pI - punkt izoelektryczny

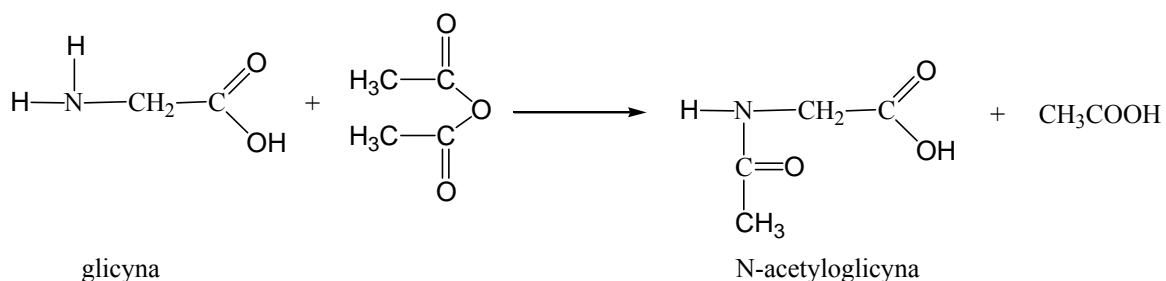
--- aminokwasy endogenne

--- aminokwasy egzogenne (u dzieci również histydyna i arginina)

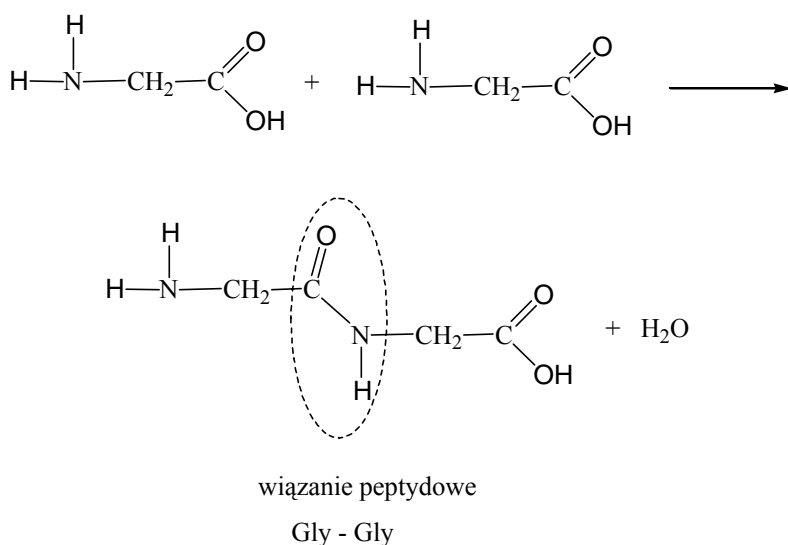
Rozpuszczalność aminokwasów w wodzie zależy również od ich łańcuchów bocznych, dlatego aminokwasy aromatyczne, takie jak tyrozyna czy fenyloalanina wykazują szczególnie małą rozpuszczalność w wodzie. Za to, prawie wszystkie aminokwasy rozpuszczają się w gorącym kwasie octowym, co związane jest z tworzeniem się wiązań wodorowych pomiędzy kwasem i aminokwasem.

## WYBRANE REAKCJE AMINOKWASÓW

Aminokwasy ulegają reakcjom charakterystycznym zarówno dla kwasów karboksylowych jak i dla amin. Na przykład, pod wpływem odczynników acylujących, takich jak bezwodniki kwasowe lub chlorki kwasowe, powstają N-acylo pochodne aminokwasów



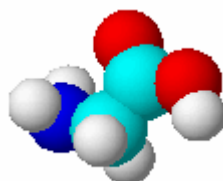
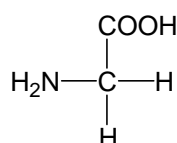
Najważniejszą reakcją jakiej ulegają aminokwasy jest reakcja kondensacji, w wyniku której powstają peptydy. Reakcja ta zachodzi pomiędzy grupą aminową jednego aminokwasu a grupą karboksylową drugiego w wyniku nukleofilowego ataku atomu azotu na karboksylowy atom węgla. Powstała w ten sposób grupa amidowa nazywana jest wiązaniem peptydowym:



Powstały produkt może wchodzić dalej w reakcje kondensacji, aż do utworzenia polimerowych struktur zwanych polipeptydami (jeśli masa cząsteczkowa łańcucha nie przekracza 10 000 Daltonów) i białkami (o masie cząsteczkowej przekraczającej 10 000 Daltonów).

Reakcją odwrotną jest reakcja hydrolizy, w wyniku której powstają pojedyncze aminokwasy. W ten sposób można ustalić, z jakich aminokwasów składał się dany peptyd czy białko.

Najmniejszym z 20 naturalnych aminokwasów jest glicyna (kwas aminoetanowy, kwas aminooctowy). Jej łańcuch boczny stanowi jedynie atom wodoru.



Ponieważ przy atomie węgla  $\alpha$  znajduje się drugi atom wodoru, glicyna w przeciwieństwie do innych aminokwasów nie jest optycznie czynna.

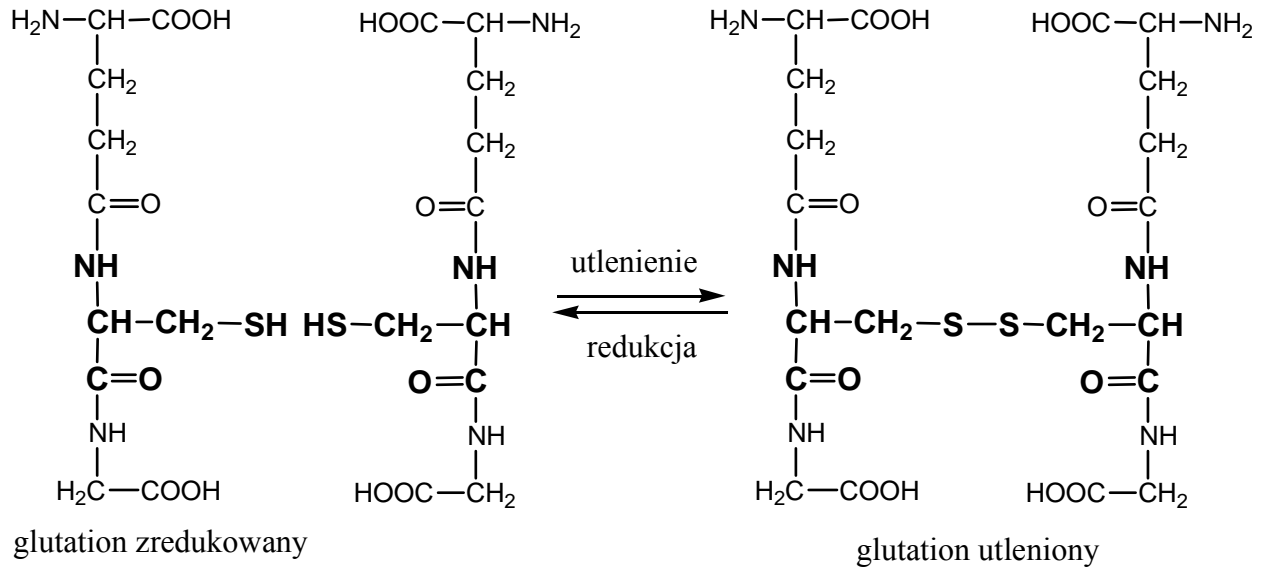
Ze względu na niewielkie rozmiary łańcucha bocznego, może znajdować się ona w wielu miejscach, w których nie zmieściłby się żaden inny aminokwas. Na przykład, tylko glicyna może być wewnętrznym aminokwasem helisy kolagenu.

Glicyna nie jest częścią centrum aktywnego żadnego enzymu, lecz mimo to na niektórych pozycjach enzymów (na przykład: w cytochromie c, mioglobinie i hemoglobinie) jest bardzo stabilna ewolucyjnie, ponieważ mutacja zmieniająca glicynę na aminokwas z większym łańcuchem bocznym zaburzyłaby strukturę przestrzenną enzymu.

Większość białek zawiera niewielkie ilości glicyny. Do ważniejszych wyjątków należy kolagen, który w około jednej trzeciej składa się z glicyny oraz glutation - tripeptyd odpowiedzialny za usuwanie wolnych rodników.

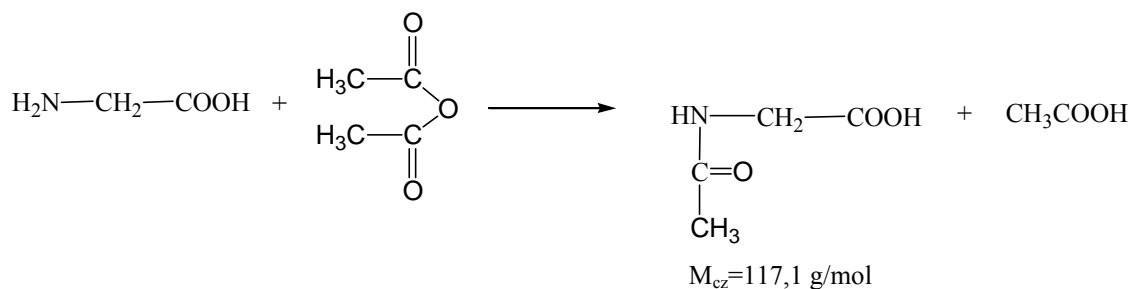
Glicyna jest substancją krystaliczną, dobrze rozpuszczalną w wodzie. Ma słodki smak i w postaci soli sodowej jest używana w przemyśle spożywczym jako przyprawa (*glukum-słodki*).

Niektóre aminokwasy wchodzą w skład układów utrzymujących stały potencjał oksydacyjno-redukcyjny w mitochondrium komórki. Przykładem takiego układu może być glutation (glutaminylo-cysteinylo-glicyna, Glu-Cys-Gly). Składnikiem aktywnym tego tripeptydu jest cystyna, a proces utleniania glutationu zredukowanego do glutationu utlenionego polega na utworzeniu mostków siarkowych pomiędzy dwiema cząsteczkami cysteiny:





### 5.1.5.1 OTRZYMYWANIE ACETYLOGLICYNY



ODCZYNNIKI:	ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Bezwodnik octowy	$M_{\text{cz}} = 102,1 \text{ g/mol}$ $T_w = 138-140^\circ\text{C}$ $d = 1,082 \text{ g/cm}^3$	$15 \text{ cm}^3$ (0,156mola)
Glicyna	$M_{\text{cz}} = 75 \text{ g/mol}$ $T_f = 240^\circ\text{C}$ z rozkładem	<b>5 g</b> (0,067 mola)
Acetyloglicyna	$M_{\text{cz}}=117,1 \text{ g/mol}$	

W małej kolbie stożkowej umieszczamy 5g glicyny i  $25 \text{ cm}^3$  wody. Zawartość kolby mieszamy energicznie aż do prawie całkowitego rozpuszczenia się osadu. Następnie do roztworu dodajemy w jednej porcji  $15 \text{ cm}^3$  bezwodnika octowego i całość mieszamy energicznie jeszcze przez 15-20 minut. Roztwór ogrzewa się samorzutnie i niekiedy pojawiają się już kryształy acetyloglicyny. Kolbę wstawiamy do lodówki, najlepiej na noc.

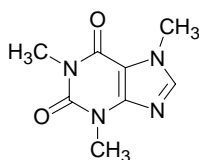
Wydzielone kryształy acetyloglicyny odsączamy na lejku Büchnera. Ponieważ z przesączu otrzymujemy drugą frakcję acetyloglicyny, należy zwrócić szczególną uwagę na czystość kolby ssawkowej i lejka, jak również nie dopuścić do zassania wody z kranu do kolby ssawkowej (najlepiej wybrać zestaw ze stosowną płuczką zabezpieczającą). Po odsączeniu, produkt przemywamy lodowatą wodą, jeszcze na sączku, po czym suszymy w temperaturze  $100^\circ\text{C}$ . W pierwszej frakcji otrzymujemy około 5g acetyloglicyny o temperaturze topnienia  $207-208^\circ\text{C}$ .

Połączone przesącze odparowujemy do sucha (wyparka, łaźnia wodna o temperaturze  $50-60^\circ\text{C}$ ), a suchą pozostałość krystalizujemy z wrzącej wody. Wydzielone kryształy odsączamy, przemywamy i suszymy, jak poprzednio. W ten sposób uzyskujemy około 1 g drugiej frakcji acetyloglicyny o temperaturze topnienia  $207-208^\circ\text{C}$ .

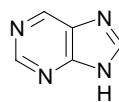
Obydwie frakcje łączymy, ważymy, a następnie obliczamy całkowitą wydajność reakcji.

## 5.2 IZOLACJE Z PRODUKTÓW NATURALNYCH

### 5.2.1 KOFEINA



Kofeina



Puryna

Kofeina jest pochodną puryny, dlatego w literaturze chemicznej można spotkać jej nazwy systematyczne wywiedzione od tej zasady azotowej: 1,3,7-trimetylo-3,7-dihidropuryno-2,6-dion, 1,3,7-trimetyloksantyna (ksantyna = 2,6-dihydroksypuryna). Jest to alkaloid, który występuje w wielu roślinach, m.in. w herbacie, kawie, kamelii chińskiej (*Camelia sinensis*), liściach mate (*Ilex paraguayensis*), guaranie (*Paulius cupan*), orzeszkach cola. Kofeina jest silnym stymulatorem centralnego układu nerwowego, związkiem uzależniającym, jedną z najpopularniejszych używek ze względu na obecność w kawie, herbacie i napojach orzeźwiających.

**Tabela 4 Ilość kofeiny w 355 cm<sup>3</sup> porcji napoju<sup>1</sup>**

Napój	mg <sup>a</sup>
Coke	27.0±1.6
Diet Coke	43.9±2.5
Pepsi	31.4±1.6
Mountain Dew (Górska rosa)	39.0±1.7
Caffeine-Free Diet Coke	<sup>b</sup>
Herbata	110±15
Kawa	164±17

<sup>a</sup> przeciętna z trzech oznaczeń ± odchylenie standardowe przy użyciu kapilarnej elektroforezy strefowej

<sup>b</sup> poniżej poziomu wykrywalności

Stosuje się ją w medycynie m.in. w leczeniu astmy i migren, do podwyższania ciśnienia krwi oraz jako środek moczopędny. Kofeina jest toksyczna. Podana doustnie, śmiertelna dawka dla przeciętnego dorosłego człowieka wynosi 10 g<sup>2</sup>.

Rozpuszczalność kofeiny w 100g wody w 25°C wynosi 2,1 g; w temp. 40°C 4,6g, w etanolu 1,05 g /100 g (25°) w chloroformie 12,5 g /100g(25°).

Do izolacji wykorzystuje się różnice w podziale kofeiny pomiędzy niemieszające się fazy: chloroform i wodę. Proces ekstrakcji przebiega w dwóch etapach. Pierwszy, polega na otrzymaniu esencji herbacianej (ekstrakcji ciało stałe – ciecz), w jego trakcie oddzielona zostaje również część tanin. Te ostatnie, to złożone polifenole, które podobnie jak kofeina rozpuszczają się w wodzie. W celu ich usunięcia dodaje się związki z dwuwartościowym kationem metalu (takie np. jak: MgO, Pb(CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>, Ca(OH)<sub>2</sub>), z którymi taniny dają nierozpuszczalne w wodzie połączenia i mogą być odsączone. Drugi etap polega na ekstrakcji kofeiny chloroformem CHCl<sub>3</sub> z esencji herbacianej (ekstrakcja ciecz – ciecz). Współczynnik podziału kofeiny pomiędzy CHCl<sub>3</sub> i fazy wodne wynosi w przybliżeniu 9.

$$k = \frac{[\text{kofeina}]_{\text{CHCl}_3}}{[\text{kofeina}]_{\text{H}_2\text{O}}} = 9$$

Oznacza to, że przy jednakowej objętości wody i chloroformu 90% kofeiny znajdzie się w warstwie chloroformowej. Należy zwrócić uwagę, iż w ok. 0,01 M kwasie siarkowym kofeina nie wykazuje właściwości zasadowych, natomiast w ok. 0,5 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> prawie cała kofeina ulega protonowaniu, a więc występuje w formie kationu (soli). Sole mają duże powinowactwo do wody i w związku z tym współczynnik podziału *k* zmniejsza się do ok. 2, ograniczając znacznie efektywność ekstrakcji. Stąd nie należy nadmiernie zakwaszać warstwy wodnej przed ekstrakcją chloroformem ale dodawać kwas siarkowy do pH~2 (kontrola papierkiem uniwersalnym). Przemycanie połączonych ekstraktów chloroformowych 3 M roztworem NaOH ma na celu usunięcie z warstwy CHCl<sub>3</sub> resztki tanin, które nie wytrąciły się w pierwszym etapie oczyszczania. Wodę usuwa się susząc ekstrakt bezwodnym MgSO<sub>4</sub>.

1. Conte, E.D.; Barry, E.F.; Rubinstein, H. *J. Chem. Educ.* **1996**, *73*, 1169
2. Le Couteur P.; Burreson J. *Guziki Napoleona. Jak 17 Cząsteczek Zmieniło Historię.* Wyd. Twój Styl, Warszawa **2004**

### 5.2.1.1 EKSTRAKCYJA KOFEINY Z HERBATY

ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Herbata		<b>Ok. 40 g</b> (20 dwugramowych torebek)	Przynoszą studenci (torebki dowolnej herbaty)
Chloroform	$M_{cz}=61\text{ }^{\circ}\text{C}$ $T_w=119,38\text{ g/mol}$	<b>75 cm<sup>3</sup></b>	Pokój laboranta
Etanol ok. 95%	$M_{cz}=46,07\text{ g/mol}$ $T_w=78\text{ }^{\circ}\text{C}$		
Eluent i płytki do chromatografii	chloroform : metanol w proporcji 16:1		
MgO		<b>20 g</b>	Pracownia
3 M wodny NaOH		<b>5 cm<sup>3</sup></b>	
Celit*			
Aceton			
HCl, H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>			
MgSO <sub>4</sub> bezwodny			

\* - Celit jest to bardzo drobna krzemionka zawierająca różne domieszki nieorganiczne. Stosowana jest do wspomaganie sączenia roztworów organicznych.

Do zlewki (500 cm<sup>3</sup>) z 20 torebkami herbaty oraz 20 gramami MgO, wlewamy gorącą wodę (300 cm<sup>3</sup>) i gotujemy przez 10-15 minut. Roztwór z nad torebek dekantujemy, sącąc na gorąco na lejku Büchnera. Torebki starannie wyciskamy, nie dopuszczając do ich pęknięcia. Operację z torebkami powtarzamy dwukrotnie używając za każdym razem 100 cm<sup>3</sup> gorącej wody.

Następnie, połączone ekstrakty wodne, zakwaszamy 10% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nie przekraczając pH~2 (kontrola papierkiem uniwersalnym).

Otrzymany roztwór sączymy pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera, przez podwójną warstwę bibuły. Jeśli odsączony roztwór nadal jest mętny, ponawiamy sączenie przez około 1,5 centymetrową warstwę Celitu, umieszczoną na lejku piankowym<sup>2</sup>.

Filtrat przenosimy do rozdzielacza (500 cm<sup>3</sup>) i ekstrahujemy trzema kolejnymi porcjami chloroformu (3 razy po 25 cm<sup>3</sup>).

Połączone ekstrakty organiczne przenosimy ponownie do rozdzielacza, przemywamy 5 cm<sup>3</sup> 3 M wodnego roztworu NaOH, a następnie dwukrotnie 5 cm<sup>3</sup> wody.

<sup>2</sup> Przygotowanie zestawu do sączenia: Około dwie łyżki Celitu przenosimy do zlewki, zalewamy w przybliżeniu 200 cm<sup>3</sup> wody. Powstałą zawiesinę energicznym ruchem wylewamy na lejek piankowy umieszczony na kolbie ssawkowej podłączonej do pompki wodnej.

Warstwę organiczną przenosimy do kolby stożkowej zaopatrzonej w korek, po czym suszymy przez co najmniej 30 minut bezwodnym  $\text{MgSO}_4$ .

Następnie, w celu usunięcia środka suszącego, roztwór sączymy na szklanym lejku z sączkiem karbowanym do suchej kolby kulistej ( $250 \text{ cm}^3$ ).

Rozpuszczalnik oddestylowujemy za pomocą wyparki obrotowej pod zmniejszonym ciśnieniem lub prostego układu do destylacji pod ciśnieniem atmosferycznym.

Pozostałość po destylacji wypłukujemy możliwie jak najmniejszą ilością acetonu i ekstrakt odpipetowujemy do mniejszej kolbki okrągłodennej lub odpowiedniej probówki w zależności od sposobu dalszego oczyszczania surowej kofeiny (krystalizacja lub sublimacja). Następnie, usuwamy aceton odparowując go na wyparce lub wydmuchując suszarką.

Otrzymaną surową kofeinę krystalizujemy z alkoholu etylowego i wody zmieszanych w stosunku 1:3. Na 1 g krystalizowanej substancji używamy około  $4 \text{ cm}^3$  rozpuszczalnika.

Otrzymujemy igły o temperaturze topnienia  $234^\circ\text{C}$ . W przypadku, gdy związek nie krystalizuje, roztwór zatężamy.

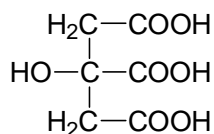
W przypadku oczyszczania drogą sublimacji odparowaną, surową kofeinę zeszkrobujemy bagietką ze ścianek probówki na jej dno. Wewnątrz probówki umieszczamy drugą (zestaw udostępnia laborant), zachowując między nimi odstęp. Po umocowaniu zestawu w łapie, wewnętrzną probówkę wypełniamy zimną wodą za pomocą pipety Pasteur'a i zestaw ogrzewamy od spodu czasą grzejącą, utrzymując surową kofeinę w stanie stopionym. W razie potrzeby wymieniamy wodę chłodzącą za pomocą pipety. Kiedy wysublimowana kofeina osadzi się na zewnętrznej powierzchni wewnętrznej probówki, ostrożnie, tak by kryształki wysublimowanej kofeiny nie opadły na dno, odstawiamy grzanie. Po zakrzepnięciu pozostałej na dnie surowej kofeiny, wodę z wewnętrznej probówki odpipetowujemy. Po tym zestaw przechylamy, wewnętrzną probówkę wysuwamy i przenosimy nad kawałek bibuły zeszkrobując na nią przesublimowaną kofeinę. Sublimację można powtórzyć z pozostałą na dnie zewnętrznej probówki surową kofeiną.

Sublimację, a także chromatografię cienkowsarstwową otrzymanego produktu w układzie  $\text{SiO}_2$ /chloroform-metanol (16:1) wykonujemy pod nadzorem prowadzącego ćwiczenia.

#### Reakcja charakterystyczna:

Do 10 mg kofeiny dodajemy 10 kropli 5%  $\text{H}_2\text{O}_2$ , 1 kroplę stężonego kwasu solnego i odparowujemy. Sucha pozostałość zwilżona niewielką ilością roztworu amoniaku przybiera barwę purpurową.

## 5.2.2 KWAS CYTRYNOWY



Kwas cytrynowy jest naturalnym składnikiem, obecnym w tkankach roślinnych oraz organizmach ludzkich i zwierzęcych. Występuje w sporych ilościach w owocach, szczególnie cytrusowych - stąd pochodzi jego nazwa zwyczajowa. W cytrusach, w których jest kwasem dominującym, stanowi około 8% suchej masy.

Ze względu na fakt, iż izolacja kwasu cytrynowego z owoców jest bardzo droga, dla celów przemysłowych jest on otrzymywany z cukrów: glukozy lub maltozy przez fermentację za pomocą pewnych gatunków pleśni (*Citromyces*).

Kwas ten niezbędny jest organizmowi w szeregu reakcji cyklu kwasu cytrynowego, zwanego również cyklem kwasów trójkarboksylowych lub cyklem Krebsa, w których cukier jest utleniany do dwutlenku węgla i wody z uwolnieniem energii. Cykl kwasu cytrynowego jest końcowym, wspólnym szlakiem utleniania substratów energetycznych- aminokwasów, kwasów tłuszczowych i węglowodanów. Większość tych cząsteczek wchodzi do cyklu w postaci acetylo-CoA (acetylokoenzym A). Dostarcza także produktów pośrednich do biosyntezy. Komórki żywe potrzebują energii, zawartej w formie wiązań estru fosforowego znanego jako ATP (adenozynotrójfosforan). Zachodzi to głównie w reakcjach następujących po cyklu Krebsa, dlatego też cykl ten jest niezbędny do oddychania.

### Zastosowanie kwasu cytrynowego

Kwas cytrynowy, oznaczany symbolem E330, jest najszerszej stosowanym kwasem i odczynnikiem do obniżania wartości pH w przemyśle spożywczym. Jest to regulator kwasowości w wielu produktach takich jak galaretki, napoje, kremy, ciasta. Wzmacnia działanie antyutleniający, np.: kwasu L- askorbinowego (E300) i zapobiega brązowieniu owoców; używany jest również jako środek zakwaszający przy produkcji piwa i dżemów.

Kwas cytrynowy używany jako stabilizator zapobiega krystalizacji cukru w cukierkach i wyrobach cukierniczych.

Właściwości buforujące kwasu cytrynowego wykorzystywane są w kompozycjach środków czystości dla gospodarstw domowych oraz w przemyśle farmaceutycznym.

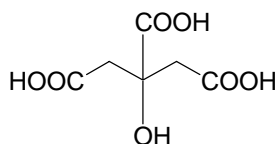
Jony cytrynianowe tworzą sole z wieloma metalami o nazwie ogólnej - cytryniany. Jednym z ważniejszych jest cytrynian wapnia, zwany też „kwaśną solą”, który jest szeroko stosowany w przemyśle spożywczym jako środek konserwujący i smakowy.

Właściwości chelatujące wobec jonów metali (tworzenie kompleksów kleszczowych), czynią go użytecznym w produkcji wszelakiego rodzaju mydeł i środków piorących. Usuwanie metali z wody na drodze ich kompleksowania przez ligandy chelatujące, ułatwia pienienie się środków piorących i myjących, prowadząc tym samym do skuteczniejszego ich działania, bez zastosowania dodatkowych zmiękczaczy.

Kwas cytrynowy, używany jest ponadto jako regeneratory wymienniczy jonowych w środkach zmiękczeniowych. Jego działanie polega na odrywaniu jonów metali w postaci kompleksów cytrynianowych. Używany jest także jako środek do czyszczenia i polerowania stali nierdzewnej i innych metali, do produkcji żywic aldehydowych oraz nietoksycznych zmiękczaczy do tworzyw sztucznych.

### **Fizyko-chemiczne właściwości kwasu cytrynowego**

Poniżej przedstawiono wzór strukturalny kwasu cytrynowego o wzorze ogólnym  $C_6H_8O_7$ . Nazwa systematyczna zgodna z systemem IUPAC to kwas 2-hydrokso-1,2,3-propanotrikarboksylowy.



Kwasowość kwasu cytrynowego wynika z obecności w jego cząsteczce 3 grup karboksylowych COOH, z których każda ma zdolność do odszczepiania w roztworze wodnym protonu. W wyniku dysocjacji powstaje jon cytrynianowy.

**Tabela 5 Właściwości fizykochemiczne kwasu cytrynowego**

Wzór sumaryczny	$C_6H_8O_7$
Masa cząsteczkowa	192,13 g/mol
Temperatura topnienia	153°C
Temperatura rozkładu	175°C
Właściwości kwasowo-zasadowe	$pK_{a1} = 3,15$ $pK_{a2} = 4,77$ $pK_{a3} = 5,19$

W temperaturze pokojowej, kwas cytrynowy jest białą, krystaliczną substancją. Jest bardzo dobrze rozpuszczalny w wodzie, alkoholu i eterze. Może on występować zarówno w postaci bezwodnej jak i jednowodnego hydratu. Kwas bezwodny, krystalizuje z gorącej wody, podczas gdy postać monohydratu, otrzymuje się poprzez krystalizację z wody zimnej. Kwas cytrynowy jednowodny, można z łatwością przeprowadzić w postać bezwodną poprzez ogrzewanie go powyżej temperatury 74°C.

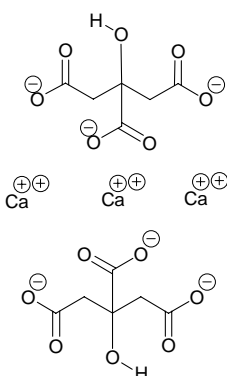
Kwas cytrynowy posiada właściwości chemiczne, identyczne z innymi kwasami karboksylowymi, wynikające z obecności grupy karboksylowej. Jeśli podgrzewać go powyżej temperatury 175°C ulega rozkładowi z wydzieleniem  $CO_2$  i wody.



### 5.2.2.1 IZOLACJA KW. CYTRYNOWEGO Z OWOCÓW CYTRUSOWYCH

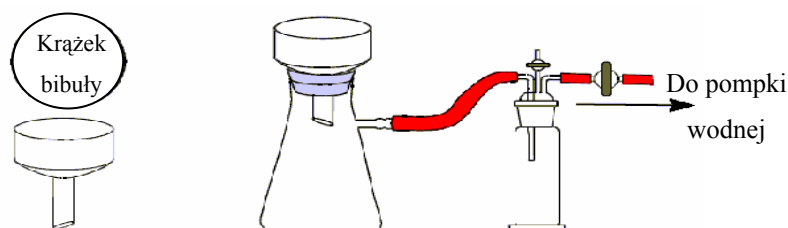
ODCZYNNIKI:	ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Sok z cytryny	ok. 100 cm <sup>3</sup> (3 cytryny)	Przynoszą studenci
CaCl <sub>2</sub>	5 g	Pracownia
NaOH 10%		
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> (roztwór mianowany ok. 2M)		
HCl 2M, NaOH 2M		
Kwas cytrynowy	M <sub>cz</sub> =192,13 g/mol	

Zadanie polega na wyizolowaniu kwasu cytrynowego z soku owoców cytrusowych. Kwas ten można wyizolować w postaci dość trudno rozpuszczalnej soli wapniowej- cytrynianu wapnia.



Do odmierzonej i zważonej ilości soku z cytryny (około 100 cm<sup>3</sup>) w zlewce o pojemności 250 cm<sup>3</sup> dodajemy, ostrożnie mieszając, wobec papierka uniwersalnego, 10% roztwór NaOH do uzyskania lekko alkalicznego roztworu <sup>(1)</sup> (papierek uniwersalny powinien mieć barwę lekko zieloną). Rozpoznanie tego momentu ułatwia zmiana barwy roztworu z żółtej na pomarańczową.

Otrzymany roztwór odsączamy na lejku Büchnera przez sączone bibułowe <sup>(2)</sup>. Pory bibuły mogą się zapychać. W takim przypadku należy sączone wymieniać na nowy tyle razy, ile będzie to konieczne.



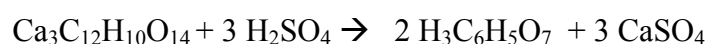
<sup>(1)</sup> pK<sub>3</sub> kwasu cytrynowego wynosi 5.19

<sup>(2)</sup> zwrócić uwagę na czystość sprzętu, kolbka ssawkowa powinna być oddzielona od pompki wodnej płuczką

Przesącz przelamy do zlewki i dodajemy, mieszając, około 50 cm<sup>3</sup> 10% roztworu CaCl<sub>2</sub>. Następnie, roztwór ogrzewamy do wrzenia <sup>(3)</sup> i odsączamy na gorąco, osad cytrynianu wapnia (Ca<sub>3</sub>C<sub>12</sub>H<sub>10</sub>O<sub>14</sub>), na lejku Büchnera. Na koniec, wydzielony osad przemywamy niewielką ilością wrzącej wody.

Otrzymany surowy produkt **rozpuszczamy na zimno** w minimalnej ilości 2M HCl. Następnie, neutralizujemy nadmiar dodanego kwasu solnego poprzez dodanie 2M NaOH, do minimalnie alkalicznego odczynu (sprawdzić papierkiem uniwersalnym). Roztwór ogrzewamy do wrzenia (3). Odsączony osad cytrynianu wapnia, suszymy na powietrzu i ważymy.

Otrzymywanie kwasu cytrynowego z wyizolowanego cytrynianu wapnia przeprowadzamy za pomocą reakcji wypierania jonów wapniowych silnym kwasem siarkowym. W wyniku reakcji, powstaje nierozpuszczalny siarczan wapnia, który można z łatwością oddzielić poprzez odsączanie.



Aby przekształcić sól w kwas, do odważonej ilości cytrynianu wapnia, dodajemy odpowiednią, obliczoną zgodnie z równaniem reakcji i dokładnie odmierzoną, ilość mianowanego roztworu H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ok. 2M) . Uzyskaną mieszaninę odstawiamy na kilka minut, następnie odsączamy wydzielony osad CaSO<sub>4</sub> i zateżamy przesącz przez wygotowanie wody w zlewce do małej objętości (ok. 10 cm<sup>3</sup>). Zateżony ciepły roztwór przenosimy do małej zlewki. Roztwór pozostawiamy do krystalizacji. Wydzielone kryształy kwasu cytrynowego odsączamy i ważymy.

Mierzmy temperaturę topnienia kryształów. Czysty kwas cytrynowy topi się w temperaturze 152-154 °C.

Obliczamy zawartość otrzymanego kwasu cytrynowego w użytej ilości soku z cytryn.

---

<sup>(3)</sup> osad cytrynianu wapnia, pomimo tego, że jest trudno rozpuszczalny w zimnej wodzie, na zimno wytrąca się dość trudno; trzeba roztwór ogrzewać (właściwości nietypowe- dodatnia entalpia krystalizacji).

### 5.2.3 LAKTOZA

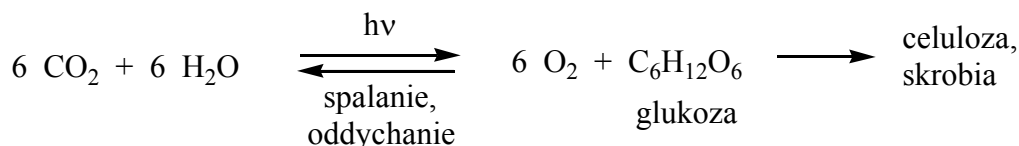
(1,4'-β-glikozyd, 4-O-(β-D-galaktopiranozylo)-β-D-glukopiranoza)

## WĘGLOWODANY

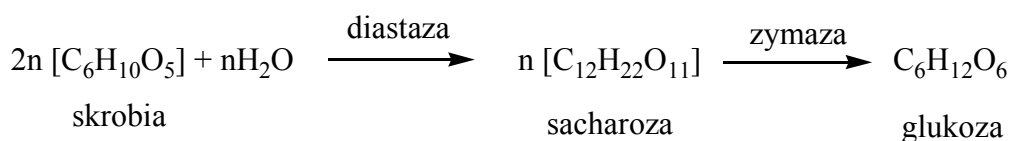
Węglowodany, popularnie zwane cukrami, stanowią grupę związków szeroko rozpowszechnionych w przyrodzie. Występują w każdym żywym organizmie, zarówno roślinnym jak i zwierzęcym. Prawie czystymi chemicznie węglowodanami są cukier i skrobia występujące w żywności oraz celuloza w drewnie, papierze i bawełnie. Zmodyfikowane węglowodany tworzą część pokrycia żyjących komórek, inne znajdują się w DNA, który przenosi informację genetyczną, jeszcze inne wykorzystywane są jako leki.

Pod względem chemicznym węglowodany są polihydroksyaldehydami lub polihydroksyketonami, bądź też pochodnymi tych związków.

Węglowodany powstają w roślinach zielonych podczas złożonego procesu fotosyntezy, w którym światło słoneczne dostarcza energii do przekształcenia dwutlenku węgla i wody w glukozę. Wiele cząsteczek glukozy łączy się, tworząc materiał zapasowy rośliny, w postaci celulozy albo skrobi.



Węglowodany, dostarczane jako pożywienie, po procesach metabolicznych, są głównym źródłem energii potrzebnej organizmom żywym. Glukoza może być bezpośrednio po spożyciu zużytkowana do wytworzenia energii na potrzeby organizmu, albo składowana w postaci glikogenu jako materiał zapasowy. Ponieważ organizm człowieka, i większości ssaków, nie wytwarza enzymów koniecznych do trawienia celulozy, przeto źródłem węglowodanów jest dla nich sacharoza, fruktoza oraz skrobia, która pod wpływem enzymów ulega rozkładowi do glukozy:

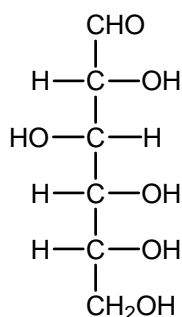


## KLASYFIKACJA WĘGLOWODANÓW

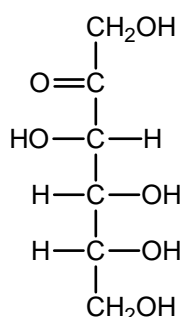
Węglowodany, ogólnie dzieli się na dwie grupy: *cukry proste* i *cukry złożone*. **Cukry proste** albo **monosacharydy**, są to węglowodany, takie jak glukoza i fruktoza, które nie hydrolizują na mniejsze cząsteczki. Są podstawowymi elementami budowy wielocukrów. **Cukry złożone** składają się z dwóch lub więcej cukrów prostych, połączonych ze sobą wiązaniem eterowym. Na przykład sacharoza jest **disacharydem (dwucukrem)** złożonym z jednej cząsteczki glukozy połączonej z jedną cząsteczką fruktozy. Celuloza z kolei, jest **polisacharydem (wielocukrem)** składającym się z kilku tysięcy cząsteczek glukozy połączonych wiązaniem eterowym. Hydroliza tych polisacharydów powoduje ich fragmentację na jednostki monosacharydowe.

Cukry proste można podzielić na aldozy albo ketozy. Monosacharydy, które zawierają w cząsteczce grupę aldehydową nazywane są **aldozami**, natomiast te zawierające grupę ketonową noszą ogólną nazwę **ketozy**.

W zależności od liczby atomów węgla w cząsteczce, monosacharydy określa się jako pentozy (pięć atomów węgla), heksozy (sześć atomów węgla), heptozy (siedem atomów węgla) itp. Na przykład:



glukoza  
aldoheksoza



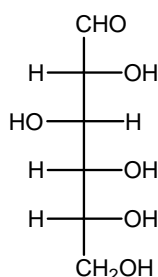
fruktoza  
ketoheksoza

## SPOSOBY RYSOWANIA WZORÓW CUKRÓW

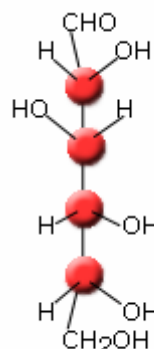
Atomy węgla w cząsteczkach cukrów prostych mogą mieć różne ułożenie przestrzenne i tworzyć łańcuchy lub zamknięte pierścienie. Najczęściej używaną metodą przedstawiania łańcuchowych form monosacharydów jest **projekcja Fischera**, która umożliwia przedstawienie struktury centrów chiralnych na płaszczyźnie.

We wzorach Fischera atomy węgla, łańcucha głównego, ułożone są pionowo w ten sposób, że grupa aldehydowa (lub ketonowa) znajduje się jak najbliżej górnej części rysunku. Pozostałe

atomy lub grupy atomów zapisujemy po lewej albo po prawej stronie łańcucha głównego, pamiętając o tym, że linia pozioma reprezentuje wiązania wychodzące przed płaszczyznę, a linia pionowa reprezentuje wiązania wchodzące za płaszczyznę.



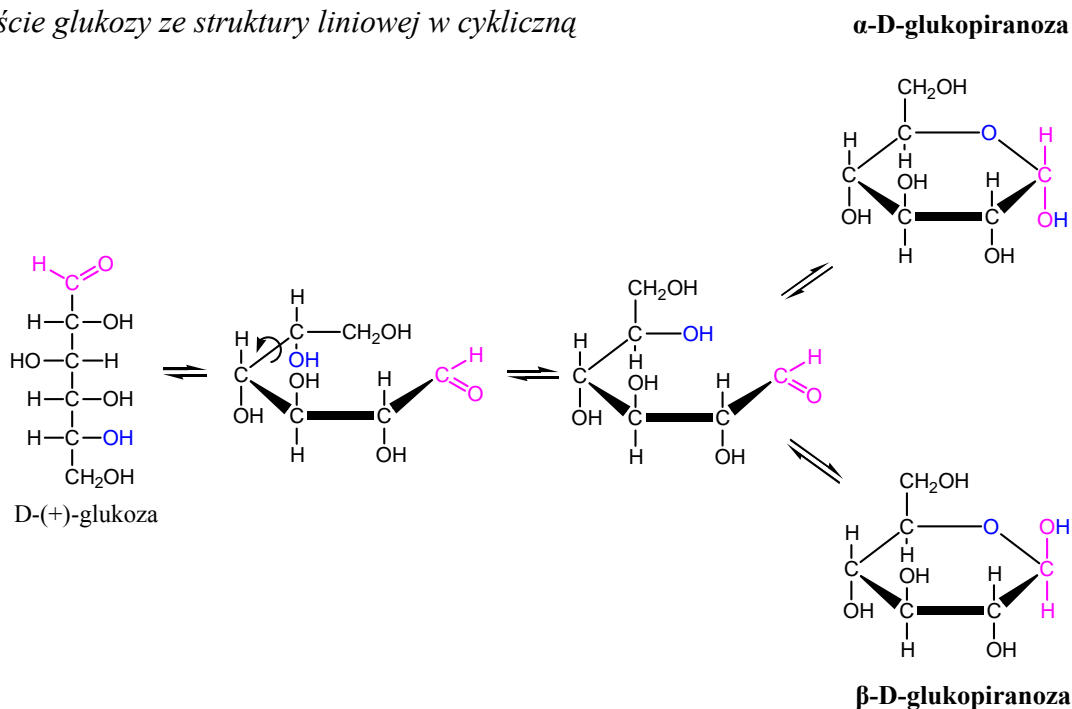
Wzór D-glukozy w projekcji Fischera



Struktura przestrzenna D-glukozy

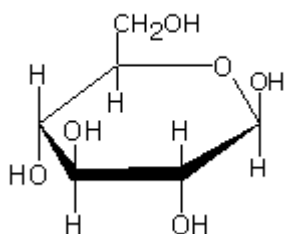
Grupa aldehydowa (lub ketonowa) może reagować z grupą hydroksylową związaną z węglem C<sub>4</sub> lub C<sub>5</sub> w cząsteczce monosacharydu. W wyniku tej wewnątrzcząsteczkowej reakcji tworzy się tzw. wiązanie półacetalowe. W ten sposób monosacharydy tworzą półketale o budowie pierścieniowej (furanozy, piranozy). Półacetale są uprzywilejowaną formą istnienia monosacharydów w roztworach i jedyną ich formą w stanie krystalicznym. Strukturalne wzory cukrów, określające przestrzenne rozmieszczenie podstawników, są przedstawiane wzorami Hawortha.

*Przejście glukozy ze struktury liniowej w cykliczną*

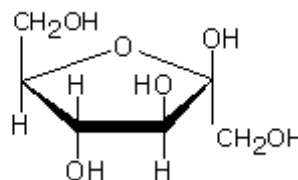


W projekcji Hawortha, pierścień półacetalowy, rysuje się jako strukturę płaską, widzianą ukośnie z boku, z atomem tlenu znajdującym się w prawej górnej części. Grupy –OH, które były po prawej stronie w projekcji Fischera są skierowane na dół w projekcji Hawortha, a grupy –OH będące po lewej stronie w projekcji Fischera są skierowane do góry w projekcji Hawortha. Dla D-cukrów końcowa grupa –CH<sub>2</sub>OH jest zawsze skierowana do góry w projekcji Hawortha, podczas gdy dla L-cukrów ta grupa –CH<sub>2</sub>OH jest skierowana na dół.

Odmiany półacetalowe cukrów mają pierścienie sześciocłonowe lub pięciocłonowe. Ponieważ pierścień sześciocłonowy ma układ uwodornionego piranu, a pierścień pięciocłonowy układ uwodornionego furanu, w celu określenia wielkości pierścienia występującego w cząsteczce cukru do nazwy cukru dodaje się końcówkę **piranoza** lub, odpowiednio, **furanoza**.

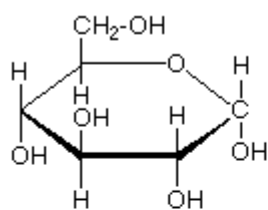


**Glukopiranoza**

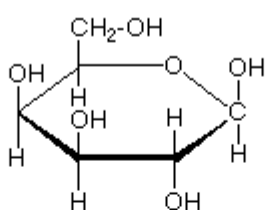


**Fruktofuranosa**

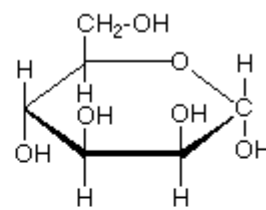
Mimo, że sposób Hawortha jest wygodny, nie odzwierciedla dokładnie rzeczywistej struktury, gdyż pierścienie piranozowe są w rzeczywistości pofałdowane i przyjmują **konformację krzesłową**, podobnie jak w cykloheksanie.



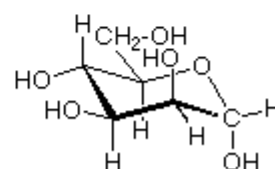
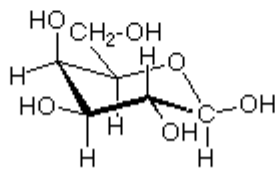
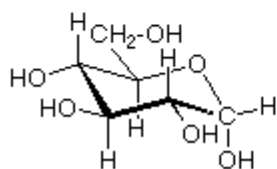
$\alpha$ -D-glukopiranoza



$\beta$ -D-galaktopiranoza



$\alpha$ -D-mannopiranoza



Niemniej, projekcje Hawortha są szeroko stosowane, ponieważ pozwalają łatwo określić zależności *cis-trans* między grupami hydroksylowymi pierścienia.

## IZOMERIA WŚRÓD WĘGLOWODANÓW

Węglowodany posiadają wiele chiralnych atomów węgla, co powoduje, że występują w postaci wielu stereoizomerów. Dlatego do nazw wprowadza się dodatkowe informacje w postaci przedrostków  $\alpha$ -,  $\beta$ -, D-, L- i znaków (+), (-), które zawierają informacje o konfiguracji cząsteczki oraz kierunku skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego (+, -).

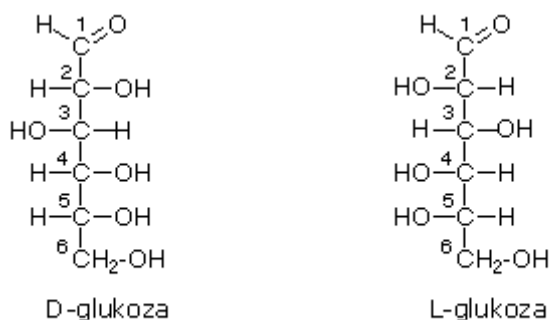
### IZOMERY D i L

Punktem odniesienia dla konfiguracji **D**- i **L**- jest budowa cząsteczki aldehydu glicerynowego a konkretnie położenie podstawników **H**- oraz **HO**- przy środkowym atomie węgla.

Bezwzględna konfiguracja aldehydu glicerynowego, wyznaczona rentgenograficznie, zgadzała się z założeniem, że izomer prawoskrętny (+) można przedstawić w projekcji Fishera tak, jak na rysunku po lewej stronie:



Izomer ten nazwano D-(+)- aldehydem glicerynowym (**D** od słowa „dexter” – prawy), a jego enancjomer, L-(-)– aldehydem glicerynowym (**L** od słowa „laevus” – lewy). Stąd, jeżeli cząsteczki cukrów prostych swoją budową nawiązują do D-(+)-aldehydu glicerynowego, tzn. grupa hydroksylowa przy najbardziej oddalonym od grupy karbonylowej centrum chiralnym (czyli graficznie zaznaczonym najniżej atom C<sub>5</sub>) jest skierowana na prawo, **zaliczane są do szeregu D**. Natomiast te, których budowa nawiązuje do L-(-)-aldehydu glicerynowego, grupa na najniższym centrum chiralnym skierowana jest w lewo, **zaliczane są do szeregu L**.



Wynika stąd, że L-cukier jest odbiciem lustrzanym (enancjomerem) D-cukru i różni się od niego konfiguracją na wszystkich centrach chiralnych. Należy zauważyć, że określenie D lub L nie ma związku z obserwacją doświadczalną, w którą stronę zostaje skręcona płaszczyzna polaryzacji światła (+,-). D-cukier może być zarówno prawo- jak i lewoskrętny. Przedrostek D określa jedynie, że stereochemia najniższego chiralnego atomu węgla w projekcji Fischera jest taka sama, jak w D-aldehydzie glicerynowym.

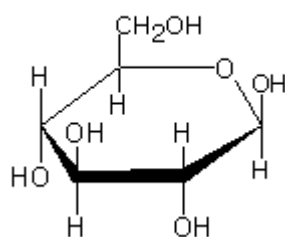
### Izomery (+) i (-)

Znaki (+) i (-) oznaczają kierunek skręcania płaszczyzny światła spolaryzowanego. Związki skręcające płaszczyznę światła zgodnie z ruchem wskazówek zegara (w prawo) zaznacza się symbolem (+) przed nazwą związku, skręcające w stronę przeciwną (w lewo) symbolem (-). Stąd często nazwy D(+)-glukoza, D(-)-fruktoza, itd. Izomery takie noszą nazwę enancjomerów i mają się do siebie tak, jak obraz i jego lustrzane odbicie. Równomolowa mieszanina enancjomerów (+) i (-), nazywana racematem, nie wykazuje czynności optycznej.

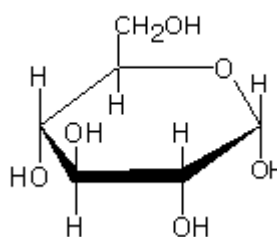
### Izomery $\alpha$ i $\beta$

Przy zamknięciu pierścienia powstaje nowe centrum chiralne na atomie węgla, który przedtem był atomem karbonylowym. Wskutek tego możliwe są znowu dwie izomeryczne odmiany, które nazywamy **anomerami**. Nowo powstały chiralny atom węgla nazywany jest **centrum anomerycznym**.

Anomer z grupą -OH przy węglu anomerycznym, która znajduje się w pozycji *trans* do podstawnika -CH<sub>2</sub>OH na atomie C<sub>5</sub> (podstawniki -OH i -CH<sub>2</sub>OH leżą po przeciwnej stronie płaszczyzny pierścienia w projekcji Hawortha), nazywany jest **anomerem  $\alpha$** . Anomer z grupą -OH przy węglu anomerycznym w pozycji *cis* do podstawnika -CH<sub>2</sub>OH na atomie C<sub>5</sub> (podstawniki -OH i -CH<sub>2</sub>OH leżą po tej samej stronie płaszczyzny pierścienia), nazywany jest **anomerem  $\beta$** .



$\beta$ -D-(+)-glukopiranoza



$\alpha$ -D-(+)-glukopiranoza



Izomery  $\alpha$  i  $\beta$  łatwo ulegają hydrolizie pod wpływem wody. Każdy z anomerów w roztworze wodnym, poprzez formę o otwartym łańcuchu, ulega przekształceniu w mieszaninę pozostającą w stanie równowagi, zawierającą oba izomery o strukturze pierścieniowej. Zjawisko to nosi nazwę mutarotacji. Mutarotacja, proces powolny w środowisku obojętnym, jest jednak katalizowana zarówno przez kwas, jak i przez zasadę.

## GLUKOZA

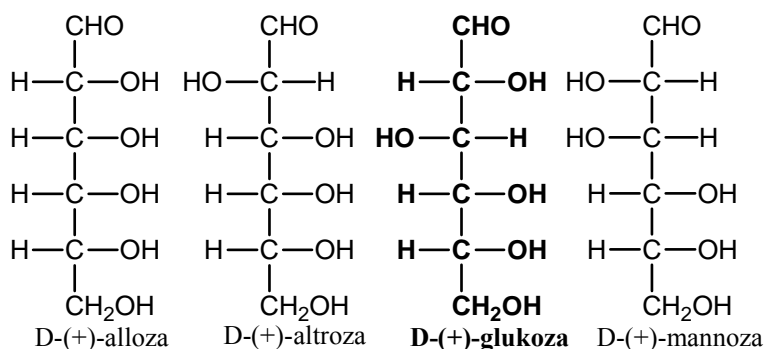
Najbardziej rozpowszechnionym w przyrodzie monosacharydem jest  **$\alpha$ -D-glukoza** (z greckiego „glukus” – *słodki*), występująca w stanie wolnym w sokach roślin (np. w winogronach, stąd nazywana również **cukrem gronowym**), miodzie pszczelim oraz krwi i moczu zwierząt. Powstaje ona również w wyniku hydrolizy sacharozy, celulozy, skrobi i innych cukrów złożonych.

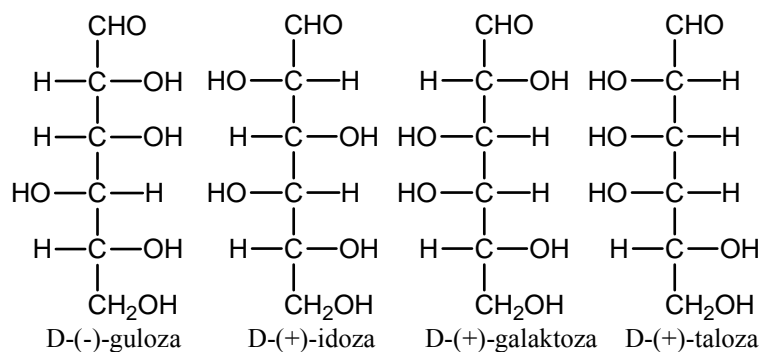
Glukoza jest substancją białą, krystaliczną o temperaturze topnienia  $140^{\circ}\text{C}$ , rozpuszczalną w wodzie, o słodkim smaku. Jest dobrze przyswajalna przez organizm, jednak aktywność biologiczną wykazuje wyłącznie glukoza szeregu D.

D-(+)-Glukoza jest podstawowym związkem energetycznym dla większości organizmów. Jest rozkładana w procesie glikolizy na kwas pirogronowy ( $\alpha$ -ketokwas,  $\text{CH}_3\text{COCO}(\text{OH})\text{COOH}$ ) w wyniku czego uwalniana jest energia pokrywająca zapotrzebowanie energetyczne komórek. W organizmach zwierzęcych, glukoza jest magazynowana w postaci glikogenu (cukru mięśniowego), polisacharydu zbudowanego z 12-18 jednostek D-glikozydowych, i uwalniana w miarę zapotrzebowania metabolicznego.

Z chemicznego punktu widzenia glukoza jest cukrem prostym, aldoheksozą o wzorze sumarycznym  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  (zawiera sześć atomów węgla oraz grupę aldehydową).

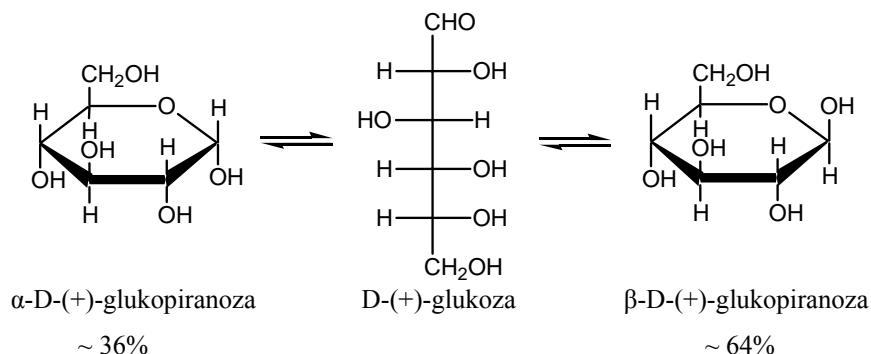
*Glukoza i inne izomery jej szeregu aldoheksoz:*





Jak stwierdzono, D-glukoza, zarówno w stanie stałym jak i w roztworze, nie zawiera wolnej grupy aldehydowej, lecz występuje w postaci cyklicznej odmiany półacetalowej, powstającej na skutek wewnątrzcząsteczkowej reakcji pomiędzy grupą aldehydową a grupą hydroksylową, przy piątym atomie węgla.

Po utworzeniu pierścienia półacetalowego, węgiel pierwszy staje się asymetryczny, w związku z czym, powstają dwie stereoizomeryczne odmiany D-glukozy:  $\alpha$ -D-glukopiranoza i  $\beta$ -D-glukopiranoza. Każdy z dwu trwałych w stanie krystalicznym anomerów D-glukopiranozy w roztworze przechodzi w mieszaninę anomerów  $\alpha$  i  $\beta$  o składzie 36:64. Zawartość formy otwartołańcuchowej w roztworze wodnym jest znikoma.



## WYBRANE REAKCJE CUKRÓW PROSTYCH

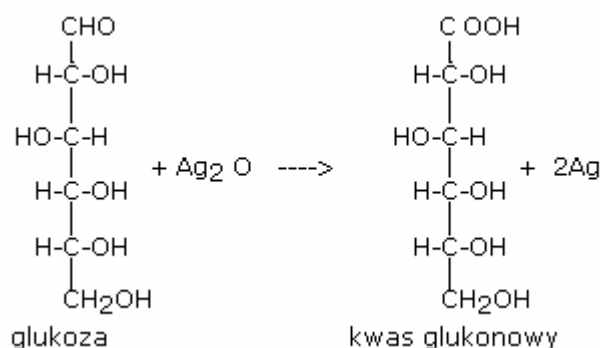
Ponieważ węglowodany zawierają tylko dwa rodzaje grup funkcyjnych: grupy hydroksylowe i karbonylowe, większość właściwości chemicznych monosacharydów to chemia alkoholi i związków karbonylowych.

Aldozy, podobnie jak i inne aldehydy, łatwo ulegają reakcji utleniania, dając odpowiednie kwasy karboksylowe, zwane kwasami aldonowymi. Aldozy reagują z odczynnikiem Tollensa ( $\text{Ag}^+$  w wodnym roztworze amoniaku,  $\text{NH}_4\text{OH}$ ), odczynnikiem Fehlinga ( $\text{Cu}^{2+}$  w wodnym roztworze winianu sodu) i odczynnikiem Benedicta ( $\text{Cu}^{2+}$  w wodnym roztworze

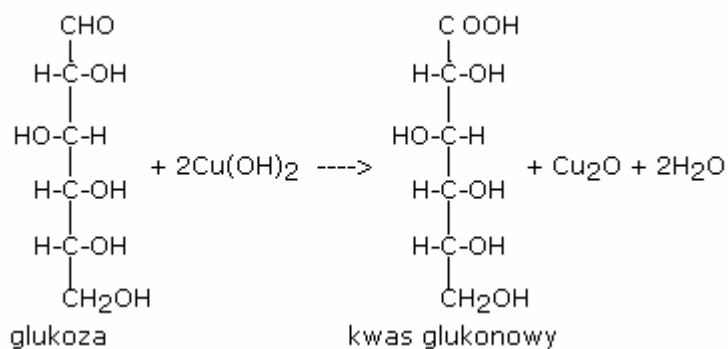
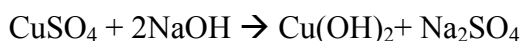
cytrynianu sodu), dając utleniony cukier oraz produkty redukcji jonów metalu. Wszystkie trzy reakcje są wykorzystywane jako proste testy chemiczne na tak zwane cukry redukujące (*redukujące*, ponieważ cukier redukuje czynnik utleniający).

Mimo nieznacznej zawartości w roztworze łańcuchowej odmiany aldehydowej, glukoza również daje reakcje charakterystyczne dla aldehydów, bowiem usuwany w wyniku przemian izomer łańcuchowy jest odtwarzany wskutek ciągłego ustalania się nowego stanu równowagi. Podobnie jak inne cukry proste, glukoza redukuje roztwór Fehlinga i Benedicta oraz odczynnik Tollensa.

Jeżeli używa się odczynnika Tollensa, na ściankach probówki tworzy się metaliczne srebro w postaci lśniącego lustra:

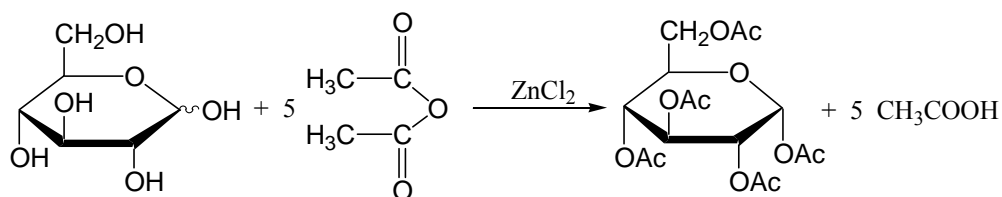


W przypadku odczynników Fehlinga i Benedicta czerwony osad  $\text{Cu}_2\text{O}$  jest oznaką pozytywnego wyniku testu:

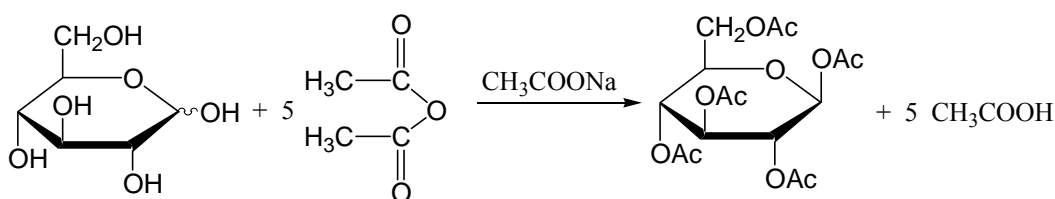


W dużym stopniu, monosacharydy zachowują się pod względem chemicznym jak proste alkohole. Na przykład, grupy hydroksylowe węglowodanów mogą być przekształcone w estry lub etery. **Reakcje estryfikacji** zwykle przeprowadza się, traktując cukier chlorkiem lub bezwodnikiem kwasowym. Reakcji tej ulegają wszystkie grupy hydroksylowe, łącznie z

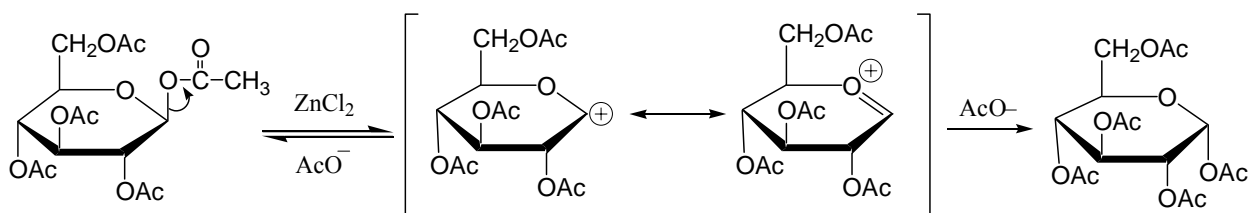
grupą anomeryczną. Na przykład, działając na D-glukozę bezwodnikiem octowym w obecności chlorku cynku, otrzymuje się z niezłą wydajnością pięciooetan  $\alpha$ -D-glukopiranozy:



Natomiast, acetylowanie D-glukozy bezwodnikiem octowym w obecności octanu sodu daje w przewadze anomer  $\beta$ .



Interesujące, że anomer  $\beta$  ogrzewany w mieszaninie bezwodnika octowego i chlorku cynku przechodzi w anomer  $\alpha$ . Pięciooetan  $\beta$ -D-glukopiranozy, w obecności katalizatora, jakim jest kwas Lewisa – chlorek cynku, traci łatwo grupę acetoksyłową na anomerycznym atomie węgla, przechodząc w stabilizowany przez mezomerię karbokation. Rekombinacja karbokationu z grupą acetoksyłową prowadzi do termodynamicznie bardziej trwałego anomeru  $\alpha$ .

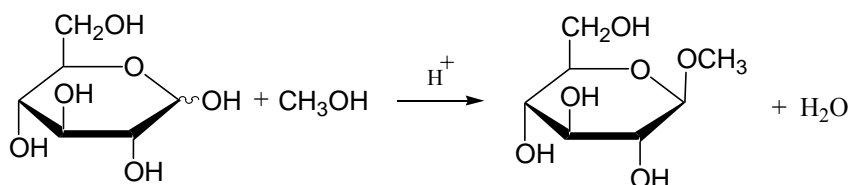


Octan sodu nie sprzyja powstawaniu takiego karbokationu, dlatego w obecności tego katalizatora powstaje anomer  $\beta$ .

Monosacharydy, ze względu na obecność wielu grup hydroksylowych, zwykle dobrze rozpuszczają się w wodzie, ale nie są rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych, takich jak eter etylowy. Trudne są też do oczyszczenia i podczas usuwania wody, mają tendencję do tworzenia syropów, a nie kryształów. Pochodne estrowe natomiast są rozpuszczalne w rozpuszczalnikach organicznych i łatwo się je oczyszcza i krystalizuje.

W niektórych reakcjach, glukoza zachowuje się w sposób charakterystyczny dla półacetalu. Traktowanie monosacharydowego hemiacetalu alkoholem i kwasem daje acetal, w

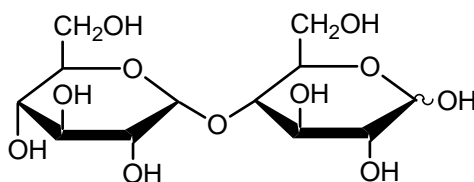
którym anomeryczna grupa  $-OH$  została zastąpiona grupą  $-OR$ . W ten sposób powstają **O-glikozydy**. Podstawnik niecukrowy R, połączony z resztą kwasową poprzez atom tlenu, nazywany jest **aglikonem**, a nowo powstałe wiązanie – wiązaniem **O-glikozydowym**. Na przykład, reakcja glukozy z metanolem daje  $\beta$ -D-glukopiranozyd metylowy:



O-glikozydy, jak wszystkie acetale, są trwale w obojętnym środowisku wodnym. Nie znajdują się w termodynamicznej równowadze z formą otwartołańcuchową i nie wykazują mutarotacji. W związku z tym nie redukują ani płynu Fehlinga, ani też odczynnika Tollensa. Można je jednak przekształcić ponownie w wolny monosacharyd, przez hydrolizę wodnym roztworem kwasu.

Wiązanie O-glikozydowe, może się utworzyć pomiędzy węglem anomerycznym jednej cząsteczki monosacharydu i jakąkolwiek grupą hydroksylową  $-OH$  drugiej cząsteczki cukru. Produktem takiego połączenia jest **disacharyd**. Disacharydy, można więc traktować jak O-glikozydy, w których rolę aglikonu odgrywa reszta cukru prostego. Szczególnie często spotykane w przyrodzie jest wiązanie **1,4'-O-glikozydowe**. Jest to połączenie pomiędzy atomem C1 pierwszego cukru i grupą hydroksylową  $-OH$  na atomie C4 drugiego cukru.

Wiązanie tego typu występuje, na przykład, w maltozie (dwie D-glukopiranozy połączone wiązaniem 1,4'- $\alpha$ -glikozydowym) oraz w celobiozie (dwie D-glukopiranozy połączone wiązaniem 1,4'- $\beta$ -glikozydowym).



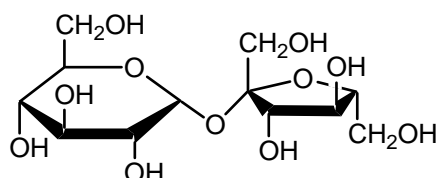
**Maltoza**, 1,4'- $\alpha$ -glikozyd

[4-O-( $\alpha$ -D glukopiranozylo)- $\alpha$ -D-glukopiranoza]

Zarówno maltoza jak i celobioza są cukrami redukującymi, ponieważ anomeryczne atomy węgla na jednostkach aglikonowych mają wolne grupy hemiacetalowe. Obydwie są zatem w równowadze termodynamicznej z łańcuchowymi formami aldehydowymi, które mogą redu-

kować odczynniki Tollensa i Fehlinga. Z podobnego powodu zarówno maltoza, jak i celobioza wykazują mutarotację anomerów  $\alpha$  i  $\beta$  - jednostki glukopiranozowej.

W przypadku, gdy dwie cząsteczki cukru połączone są ze sobą poprzez dwa anomeryczne atomy węgla, disacharyd traci właściwości redukujące. Połączenie takie występuje, na przykład, w sacharozie. W cząsteczce tego disacharydu zarówno D-glukoza, jak i D-fruktoza są glikozydami. Jest to możliwe jedynie wtedy, gdy te dwa cukry połączone są ze sobą wiązaniem 1,2'-glikozydowym



**Sacharoza**, 1,2'-glikozyd

[2-O-( $\alpha$ -D-glukopiranozylo)- $\beta$ -D-fruktofuranozyd]

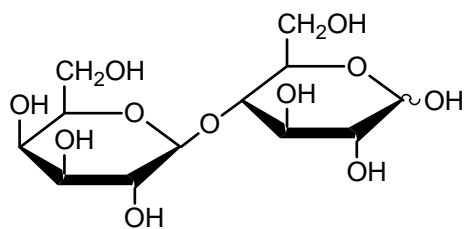
Wszystkie disacharydy podczas hydrolizy rozpadają się na cząsteczki cukrów prostych.

Jednym z najpopularniejszych disacharydów jest **laktoza**, nazywana również **cukrem mlekowym** (z łac. *lac* – mleko). Cukier ten, występuje naturalnie w mleku ludzkim (5.5-7.5%) i krowim (4.5%) i można go wyodrębnić z serwatki powstającej podczas produkcji sera. Jest to substancja stała, bezbarwna, nieco słodka, o temperaturze topnienia 225°C, rozpuszczalna w wodzie, słabo rozpuszczalna w alkoholu i nierozpuszczalna w eterze.

Pod wpływem bakterii mlekowych laktoza ulega fermentacji z wytworzeniem kwasu mlekowego. Nie fermentuje natomiast pod wpływem drożdży. Enzym trawienny, laktaza, rozkłada laktozę na cukry proste, które ulegają wchłanianiu. Niedobór tego enzymu prowadzi do schorzenia- nietolerancji laktozy.

Cukier mlekowy jest szeroko stosowany w cukrownictwie i jako składnik sztucznych odżywek dla niemowląt, a także w przemyśle farmaceutycznym (jako wypełniacz) i również w pirotechnice.

Laktoza, podobnie jak maltoza i celobioza, jest cukrem redukującym. Wykazuje mutarotację i jest 1,4'- $\beta$ -glikozydem występujących w odmianach  $\alpha$  i  $\beta$ . W odróżnieniu od maltozy i celobiozy, laktoza zawiera dwie różne jednostki monosacharydowe: D-glukozę i D-galaktozę połączone wiązaniem  $\beta$ -glikozydowym między atomami C1 galaktozy i C4 glukozy.

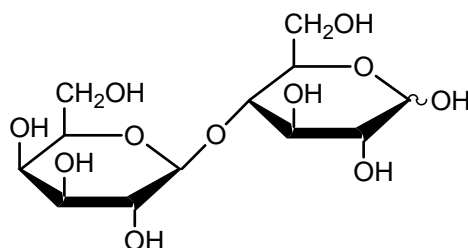


**Laktoza, 1,4'- $\beta$ -glikozyd**

[4-O-( $\beta$ -D-galaktopiranozylo)- $\beta$ -D-glukopiranoza]

W wyniku hydrolizy kwasowej i obecności emulsyny (+)-laktoza przekształca się w równe ilości D-(+)-glukozy i D-(+)-galaktozy.

### 5.2.3.1 IZOLACJA LAKTOZY Z MLEKA



ODCZYNNIKI:	ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Mleko	0,5% tłuszczu	200 cm <sup>3</sup> (przynoszą studenci)
Kwas octowy 10%		Pracownia
Etanol 95%	200 cm <sup>3</sup>	Pokój laboranta
CaCO <sub>3</sub>	5g	Pracownia
Węgiel aktywny		Pokój laboranta
Ziemia okrzemkowa		Pracownia
Laktoza, sacharoza, HCl		
Fehlinga I i II, Benedicta roztwory		

W zlewce o pojemności 600 cm<sup>3</sup>, ogrzewamy 200 cm<sup>3</sup> odtłuszczonego mleka (0,5%), do temperatury 40°C. Następnie, powoli dodajemy 10% kwas octowy, aż do pojawienia się znacznej ilości kazeiny (zbyt duży nadmiar kwasu może spowodować hydrolizę disacharydu do glukozy i galaktozy). Roztwór mieszamy do chwili, aż kazeina utworzy dużą bezkształtną masę. Wydzieloną w ten sposób kazeinę odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem. Po sączeniu, laktoza znajdzie się w przesączu, dlatego należy zwrócić szczególną uwagę na czystość lejka i kolby ssawkowej, jak również nie dopuszczać do zassania wody z kranu do kolby ssawkowej (najlepiej wybrać zestaw ze stosowną płuczką zabezpieczającą).

Przesącz przenosimy do zlewki. W celu wyklarowania roztworu dodajemy 5g CaCO<sub>3</sub> i ogrzewamy do łagodnego wrzenia przez około 10 minut. Z roztworu wypadają albuminy, które wraz z pozostałością CaCO<sub>3</sub> odsączamy na gorąco, na lejku Büchnera (laktoza znajdzie się w przesączu).

Ciągle mętny przesącz zatężamy do ok. 30 cm<sup>3</sup>, uważając aby nie doprowadzić do zbyt gwałtownego wrzenia, ponieważ roztwór ma tendencję do pienienia się i może wykipieć. Jeśli zatężanie następuje w zlewce, powinna ona mieć pojemność 600 cm<sup>3</sup> (należy pamiętać o dodaniu porcelanki).

Do zatężonego, gorącego roztworu, dodajemy 180 cm<sup>3</sup> 95% etanolu i 2g węgla aktywnego, mieszamy i ogrzewamy przez kilka minut nie doprowadzając do wrzenia. Ciepły roztwór sączymy na szklanym lejku piankowym, pod zmniejszonym ciśnieniem, przez warstwę mokrego filtra z ziemi okrzemkowej. W tym celu sporządzamy gęstą zawiesinę ziemi okrzem-



kowej w wodzie, wylewamy na lejek piankowy i podłączamy próżnię (na utworzoną warstwę można dodatkowo położyć krążek z bibuły). Tak sporządzoną warstwę ziemi okrzemkowej przemywamy wodą, aż do chwili, gdy wodny przesącz będzie klarowny. Kolbę ssawkową przepłukujemy wodą, nakładamy na nią przygotowany lejek z ziemią okrzemkową, podłączamy do próżni i przystępujemy do sączenia roztworu laktozy.

Klarowny, ciepły przesącz, po przeniesieniu do zlewki, odstawiamy do czasu wykrystalizowania laktozy. Kryształki laktozy, które pojawiają się na dnie i ściankach zlewki, odsączamy, przemywamy na lejku 10 cm<sup>3</sup> 25% etanolu i pozostawiamy do wysuszenia.

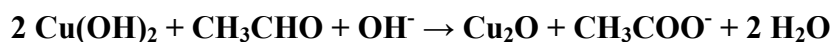
Po zważeniu suchego produktu obliczamy wydajność procentową procesu (zakładając, że gęstość mleka wynosi 1.03 g/cm<sup>3</sup>).

Wyizolowany cukier, identyfikujemy poprzez zmierzenie jego temperatury topnienia (temperatura topnienia monohydratu  $\alpha$ -D-laktozy wynosi 219°C i przebiega z rozkładem) oraz wykonanie testu Fehlinga lub Benedicta.

#### TEST FEHLINGA (BENEDICTA):

**Roztwór Fehlinga** to mieszanina równych ilości roztworu CuSO<sub>4</sub> i alkalicznego roztworu winianu sodowo-potasowego. Otrzymuje się w ten sposób Cu(OH)<sub>2</sub> w postaci kompleksu z winianem, przez co jest lepiej rozpuszczalny i bardziej reaktywny. Odczynnik Fehlinga dodajemy do roztworu i gotujemy. Ewentualna obecność ceglastoczerwonego osadu Cu<sub>2</sub>O świadczy o obecności aldehydu lub cukru redukującego. Formaldehyd (metanal) jest tak silnym reduktorem, że powoduje wytrącenie metalicznej miedzi.

Utlenianie aldehydu octowego:



Obecnie, próba została wyparta przez próbę Benedicta.

**Roztwór Benedicta** to mieszanina CuSO<sub>4</sub> i przesączonej mieszaniny uwodnionego cytrynianu sodu z uwodnionym Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Odczynnik Benedicta dodajemy do roztworu i doprowadzamy do wrzenia. Duże stężenie cukrów redukujących lub aldehydu powoduje powstanie czerwonego osadu Cu<sub>2</sub>O, mniejsze żółtego osadu.

Niektóre testy dla diabetyków sprzedawane w aptekach do samodzielnego użytku wykorzystują właśnie test Benedicta. Ich czułość jest dość znaczna: nawet tak mała ilość jak 0.1% glukozy w moczu daje wynik pozytywny.

**Wykonanie testu Fehlinga lub Benedicta:**

W pięciu probówkach umieszczamy kolejno:

wodę,

ok. 10 mg wyizolowanej z mleka laktozy ,

ok. 10 mg glukozy,

ok. 10 mg sacharozy,

ok. 10 mg sacharozy + kilka kropeł 2 M HCl.

Do probówek 2,3,4,5 dodajemy po kilka mililitrów wody. Piątą probówkę, dodatkowo ogrzewamy przez kilka minut, na łaźni wodnej.

Następnie, do wszystkich probówek dodajemy po ok. 5 cm<sup>3</sup> roztworu Fehlinga I i II (lub Benedicta) i ogrzewamy probówki w łaźni z wrzącą wodą przez ok. 3 minuty.

Notujemy wyniki i wyciągamy wnioski z poczynionych obserwacji.

## 5.3 PREPARATY DWUETAPOWE

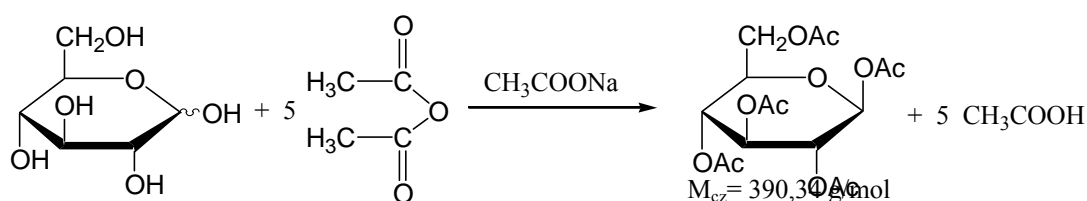
### 5.3.1 PIĘCIOOCTAN-D-GLUKOZY

(1,2,3,4,6-Penta-O-acetylo-β-D-glukopiranoza)

(1,2,3,4,6-Penta-O-acetylo-α-D-glukopiranoza)

Materiał teoretyczny patrz rozdział [LAKTOZA](#)

#### 5.3.1.1 OTRZYMYWANIE PIĘCIOOCTANU β-D-GLUKOZY/ETAP I



ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Bezwodnik octowy	$M_{cz} = 102,1 \text{ g/mol}$ $T_w = 138-140^\circ\text{C}$ $d = 1,082 \text{ g/cm}^3$	<b>25 cm<sup>3</sup></b> (0,26mola)	Pokój laboranta
Etanol		<b>ok. 30 cm<sup>3</sup></b>	
Octan sodu bezwodny	$M_{cz} = 82,0 \text{ g/mol}$	<b>4g</b> (0,049 mola)	Pracownia
α-D-glukoza bezwodna	$M_{cz} = 180,2 \text{ g/mol}$ $T_1 = 146^\circ\text{C}$	<b>5g</b> (0,028 mola)	
CaCl <sub>2</sub>			

W suchym, porcelanowym moździerzu ucieramy 4 g bezwodnego octanu sodu z 5 g suchej α-D-glukozy. Sproszkowaną mieszaninę, przenosimy do suchej kolby kulistej o pojemności 250 cm<sup>3</sup>, dodajemy 25 cm<sup>3</sup> bezwodnika octowego i ogrzewamy przez dwie i pół godziny na wrzącej łaźni wodnej, pod chłodnicą zwrotną, zabezpieczoną przed dostępem wilgoci (na chłodnicę zwrotną zakładamy suszkę wypełnioną środkiem suszącym, np. CaCl<sub>2</sub>). Ogrzewanie prowadzimy, aż do uzyskania niemal klarownego roztworu, wstrząsając kolbą od czasu do czasu.

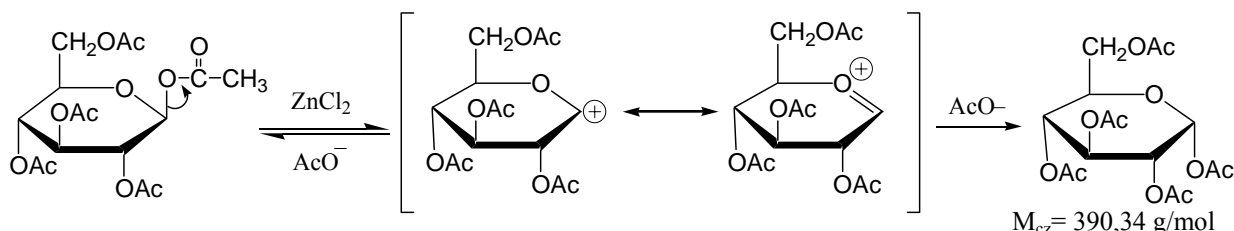
Zawartość kolby wylewamy następnie cienkim strumieniem, ciągle mieszając, do 250 cm<sup>3</sup> wody z lodem umieszczonej w zlewce. Krzepnący olej rozgniatamy, mieszamy i pozostawiamy w wodzie, przynajmniej przez godzinę.

Osad odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem, przenosimy do zlewki z zimną wodą, dokładnie rozgniatamy grudki i pozostawiamy na około godzinę. Następnie, osad ponownie odsączamy na lejku Büchnera i kilkakrotnie przemywamy zimną wodą.

Po przekrystalizowaniu surowego produktu z alkoholu etylowego, otrzymujemy bezbarwne kryształy pentaoctanu  $\beta$ -D-glukozy o temperaturze topnienia 130-132 °C.

Produkt suszymy przez kilka dni w eksykatorze próżniowym, nad środkiem suszącym ( $\text{CaCl}_2$ ).

### 5.3.1.2 OTRZYMYWANIE PIĘCIOOCTANU $\alpha$ -D-GLUKOZY/ ETAP II



ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Bezwodnik octowy	$M_{cz.} = 102,1 \text{ g/mol}$ $T_w = 138-140^\circ\text{C}$ $d = 1,082 \text{ g/cm}^3$	<b>25 cm<sup>3</sup></b> (0,26mola)	Pokój laboranta
Etanol		<b>ok. 30 cm<sup>3</sup></b>	
ZnCl <sub>2</sub> <b>bezwodny!</b>	$M_{cz.} = 136,2 \text{ g/mol}$	<b>0,5g</b> (0,004mola)	Pracownia
Pięciooctan $\beta$ -D-glukozy <b>bezwodny!</b>	$M_{cz.} = 390,3 \text{ g/mol}$ $T_t = 130-132^\circ\text{C}$	<b>5g</b> (0,028 mola)	
CaCl <sub>2</sub>			

Niewielką ilość **bezwodnego** chlorku cynku, szybko ucieramy w moździerzu (chlerek cynku łatwo rozplywa się na powietrzu), odważamy w zamkniętym naczynku wagowym 0,5g i jak najszybciej wprowadzamy do kolby kulistej o pojemności 250 cm<sup>3</sup>. Następnie, do kolby reakcyjnej wprowadzamy 25 cm<sup>3</sup> bezwodnika octowego. Mieszaninę ogrzewamy na wrzącej łaźni wodnej, pod chłodnicą zwrotną, przez 5-10 minut, wstrząsając od czasu do czasu, aż większość chlorku cynku ulegnie rozpuszczeniu. Wówczas, dodajemy 5g czystego i wysuszonego uprzednio w eksykatorze pięciooctanu  $\beta$ -D-glukozy. Mieszaninę ogrzewamy przez kolejne 30 minut.

Przemianę jednego anomeru w drugi, śledzimy za pomocą chromatografii cienkowarstwowej na płytkach pokrytych żelom krzemionkowym, stosując jako układ rozwijający mieszaninę cykloheksan : aceton (7:3). Po uwidocznieniu plamek, na wysuszonej płytce w komorze wypełnionej parami jodu, widać wędrujące blisko siebie dwie plamy odpowiadające obydwu anomeroom.

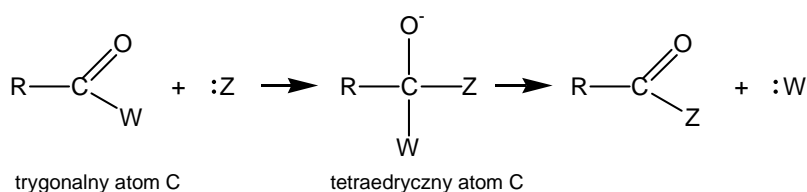
Zawartość kolby chłodzimy i wylewamy do zlewki zawierającej około 250 cm<sup>3</sup> pokruszonego lodu z wodą i mieszamy energicznie aby ułatwić hydrolizę nieprzereagowanego bezwodnika octowego. Wydziela się olej, który podczas mieszania stopniowo się zestala (ciecz nad krzepnącego oleju dekantujemy i przemywamy kilkakrotnie lodowatą wodą).

Stały produkt odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywamy dokładnie zimną wodą i krystalizujemy z etanolu.

Otrzymujemy bezbarwne kryształy pięciooctanu  $\alpha$ -D-glukozy o temperaturze topnienia 110-111°C.

### 5.3.2 ACETANILID

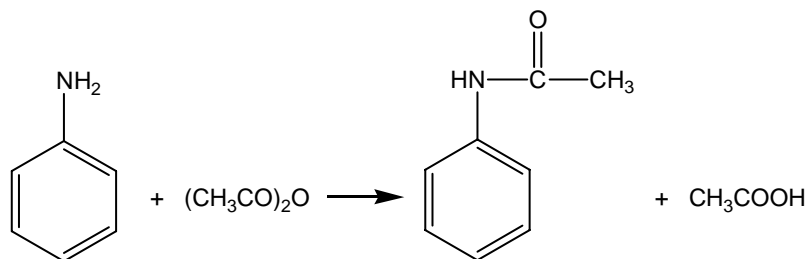
Charakterystyczną reakcją związków acylowych– kwasów karboksylowych i ich pochodnych jest substytucja nukleofilowa, podczas której grupa OH, Cl, OCOR, NH<sub>2</sub>, OR zostaje podstawiona inną grupą o charakterze zasadowym. Atak nukleofilowy, na trygonalnie zhybrydizowany atom węgla grupy arylovej, zachodzi dość łatwo, gdyż prowadzi do powstania tetraedrycznego związku przejściowego z przyłączonym reagentem nukleofilowym (czwarta grupa):



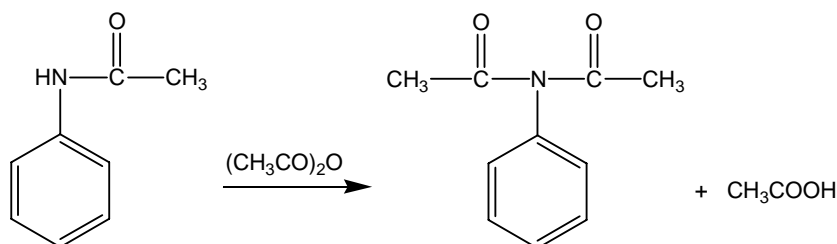
gdzie W = OH, Cl, OCOR, NH<sub>2</sub>, OR.

Łatwość odszczepiania się podstawnika W zależy od jego zasadowości. Im jest słabszą zasadą, tym łatwiej się odszczepia. W przypadku chlorków kwasowych, bezwodników, estrów i amidów grupa W jest: bardzo słabą zasadą Cl<sup>-</sup>, dość słabą zasadą RCOO<sup>-</sup> oraz mocną zasadą OR<sup>-</sup> i NH<sub>2</sub><sup>-</sup>.

Acetylowanie amin aromatycznych zachodzi pod wpływem bezwodnika octowego. Pierwszorzędowe aminy, np. anilina, reagują łatwo, podczas ogrzewania z bezwodnikiem octowym:

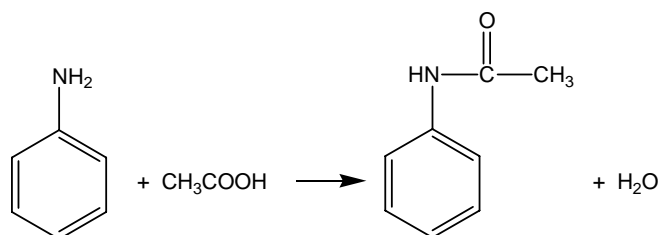


Podczas acetylowania mogą powstawać również pochodne diacetylowe:



Pochodne diacetylowe są jednak mniej trwałe i w obecności wody hydrolizują do monopochodnych. Dlatego też, krystalizacja surowego produktu, zawierającego pochodne diacetylowe prowadzona z rozpuszczalnika zawierającego wodę, daje czysty związek- pochodną monoacetylową.

Zamiast drogiego odczynnika, jakim jest bezwodnik octowy można stosować tani lodowaty kwas octowy. Aby przesunąć równowagę reakcji w prawo należy oddestylować wodę.

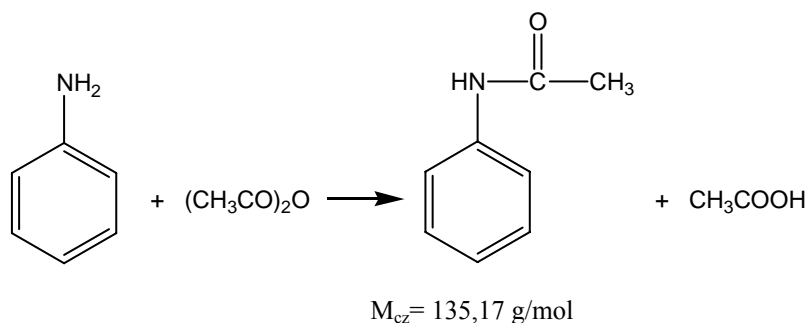


Najczęściej stosuje się mieszaninę bezwodnika octowego i lodowatego kwasu octowego.

Acetylowanie grupy aminowej ułatwia reakcje monopodstawienia pod wpływem odczynników elektrofilowych. Bardzo często reakcja acetylowania amin aromatycznych jest wykorzystywana w celu blokowania reaktywnej grupy aminowej. Można wtedy przeprowadzić reakcję substytucji a następnie zhydrolizować utworzony amid do podstawionej aminy. I tak nitrowanie acetanilidu prowadzi do otrzymania p-nitroanilidu. Izomer orto, który również może powstawać w niewielkich ilościach, należy oddzielić przez krystalizację. Hydroliza p-nitroacetanilidu prowadzi do powstania p-nitroaniliny.

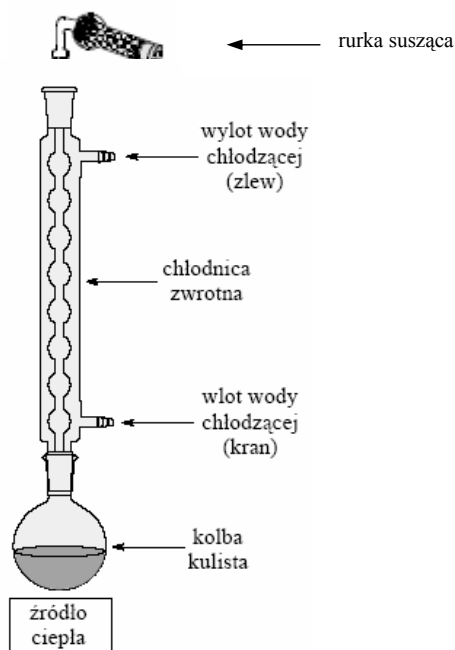


### 5.3.2.1 OTRZYMYWANIE ACETANILIDU /ETAP I



ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Anilina	M=93,13g/mol d=1,02 g/cm <sup>3</sup> T <sub>w</sub> =184 °C	10 cm <sup>3</sup>	Pokój laboranta
Bezwodnik octowy	M=102,09g/mol d=1,08 g/cm <sup>3</sup>	10 cm <sup>3</sup>	
Kwas octowy lodowaty	M=60,05g/mol d=1,05 g/cm <sup>3</sup>	10 cm <sup>3</sup>	Pracownia
Pył cynkowy		ok. 0,05 g	Pokój laboranta
Etanol		6 cm <sup>3</sup>	

W kolbie kulistej o poj. 250 cm<sup>3</sup> zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną z rurką suszącą, umieszczamy 10,25 g (10 cm<sup>3</sup>) aniliny, 10,5 g (10 cm<sup>3</sup>) bezwodnika octowego, 10,5g (10 cm<sup>3</sup>) lodowatego kwasu octowego oraz 0,05 g pyłu cynkowego.



Mieszaninę ogrzewamy łagodnie do wrzenia, w ciągu 30 min., a następnie gorącą ciecz wlewamy cienkim strumieniem, stale mieszając, do zlewki zawierającej 250 cm<sup>3</sup> zimnej wody.

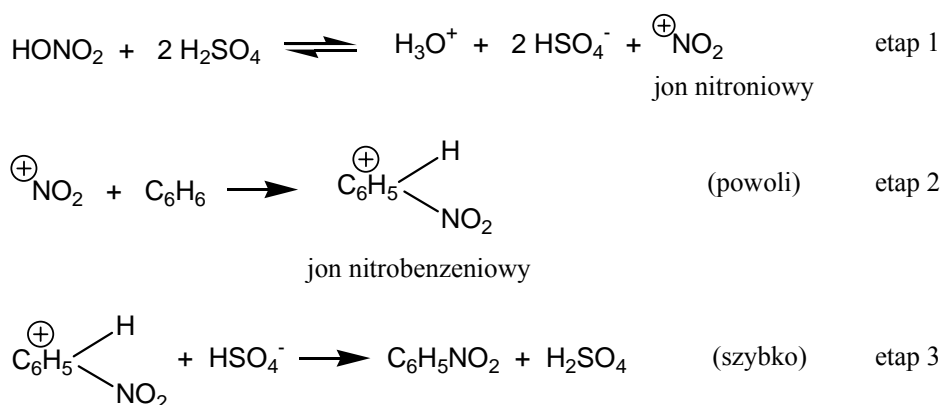
Po oziębieniu, surowy produkt odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywamy niewielką ilością zimnej wody, dobrze odciskamy, rozkładamy na bibule i suszymy na powietrzu.

Surowy acetanilid krystalizujemy z 250 cm<sup>3</sup> wody z dodatkiem 6 cm<sup>3</sup> alkoholu etylowego. Otrzymujemy czysty związek o temp. topnienia 114°C.

### 5.3.3 p-NITROACETANILID

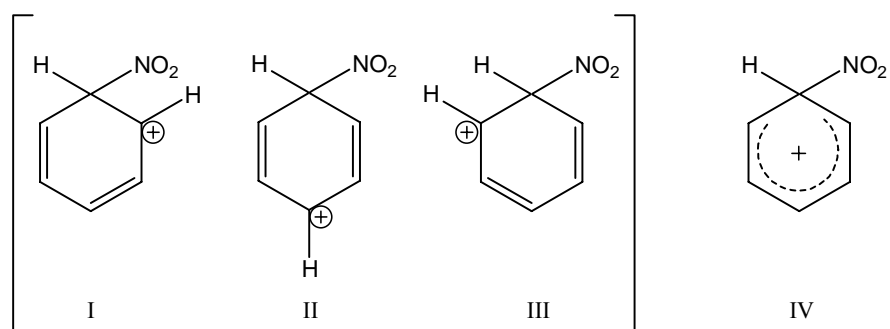
Reakcja nitrowania jest powszechnie stosowana w syntezie organicznej. Związki aromatyczne, ulegają bardzo łatwo reakcji nitrowania i to już w temperaturze pokojowej. Mechanizm reakcji nitrowania, za pomocą mieszaniny nitrującej, składającej się z kwasu azotowego (V) i siarkowego (VI) obejmuje etapy, jak przedstawiono na Schemacie 4.

**Schemat 4** Reakcja nitrowania na przykładzie benzenu.



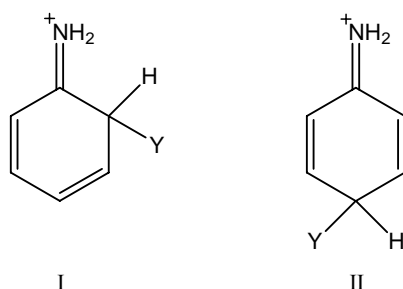
W pierwszym etapie, powstaje jon nitroniowy  $\text{NO}_2^{\oplus}$ , który ma właściwości elektrofilowe i jest właściwym czynnikiem atakującym cząsteczkę związku organicznego, wchodzącego w reakcję nitrowania. Jest to nietypowa reakcja kwas-zasada pomiędzy kwasem siarkowym (VI) i kwasem azotowym (V). Reakcja ta nie podlega pod teorię Brönsteda ponieważ brak jest protonoakceptora. W drugim etapie elektrofilowy jon nitroniowy atakuje pierścień benzenowy, przyłączając się do jednego z atomów węgla, dając karbokation - jon nitrobenzeniowy. W ostatnim etapie reakcji nitrowania protonoakceptor (zasada)  $\text{HSO}_4^-$  odrywa od karbokationu jon wodorowy, dając produkt - nitrobenzen. Ostatni etap reakcji jest szybkim procesem, natomiast najtrudniej zachodzi tworzenie karbokationu.

Strukturę karbokationu powstającego w drugim etapie można przedstawić za pomocą trzech struktur rezonansowych. W rzeczywistości karbokation musi być hybrydą tych struktur (I, II, III) i może go zobrazować struktura IV:



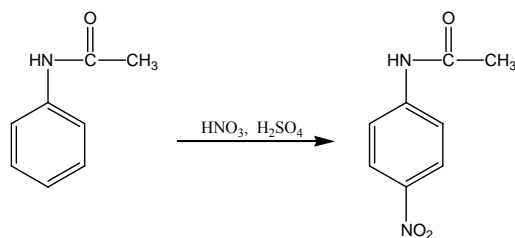
W przypadku substytucji elektrofilowej, w aminach aromatycznych, należy zwrócić uwagę na silne działanie aktywujących grup  $\text{NH}_2$ ,  $\text{NHR}$  i  $\text{NR}_2$ . Kierują one podstawnik w położenie orto i para. Spowodowane jest to stabilizacją karbokationu przez trwałe struktury (I i II), w których atom azotu obdarzony jest ładunkiem dodatnim, związany jest z pierścieniem wiązaniem podwójnym (Schemat 5).

**Schemat 5** Struktury protonowanej aminy.



Grupa acetamidowa występująca w cząsteczce acetanilidu, jest również grupą aktywującą. Kieruje podstawnik w pozycję orto i para, lecz w mniejszym stopniu niż czyni to niepodstawiona grupa aminowa. Jest to efekt grupy karbonylowej, która wyciąga elektrony i destabilizuje dodatni ładunek na atomie azotu aminowego. Stąd, amidy są słabszymi zasadami niż aminy. Powoduje to spadek rozpuszczalności amidów kwasów karboksylowych w wodnych roztworach kwasów.

### 5.3.3.1 OTRZYMYWANIE p-NITROACETANILIDU / ETAP II



$$M_{cz} = 180,16 \text{ g/mol}$$

ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Acetanilid	M=135,17 g/mol T <sub>f</sub> =114-5 °C	7 g (0,05 mola)	Preparat wykonany w pierwszym etapie
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> stężony	d=1,84 g/cm <sup>3</sup>	15 cm <sup>3</sup>	Pracownia
HNO <sub>3</sub> stężony	mieszanina nitrująca	4 cm <sup>3</sup>	Pracownia
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> stężony		2,5 cm <sup>3</sup>	
Etanol			Pokój laboranta

W kolbie stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, umieszczamy 15 cm<sup>3</sup> stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> i następnie małymi porcjami, przy stałym chłodzeniu i mieszaniu, dodajemy 7g drobno sproszkowanego, suchego acetanilidu. Podczas rozpuszczania acetanilidu temperaturę utrzymujemy w zakresie 10-20°C (wyższa temperatura może wywołać hydrolizę związku).

Otrzymany, przezroczysty roztwór, chłodzimy lodem do temperatury 0°C i następnie do oziębionego roztworu dodajemy **kroplami**, przy stałym mieszaniu, oziębioną mieszaninę nitrującą składającą się z 2,5 cm<sup>3</sup> stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1,84 g/cm<sup>3</sup>) i 4 cm<sup>3</sup> stężonego HNO<sub>3</sub> (d=1,4 g/cm<sup>3</sup>). W czasie nitrowania, utrzymujemy temperaturę **2-3°C** (wyższa temperatura mieszaniny reagującej powoduje powstawanie niepożądanego orto- izomeru!!).

Po dodaniu całej ilości mieszaniny nitrującej, całość mieszamy przez 2 godziny w temp. 2-3°C. Następnie, do kolby dodajemy 50g pokruszonego lodu oraz 50g wody. Surowy p-nitroacetanilid, zanieczyszczony pewną ilością izomeru orto krystalizuje natychmiast.

Jasnożółty osad odsączamy na lejku Büchnera, przemywamy kilkakrotnie wodą, aż do zaniku obecności kwasów (sprawdzamy za pomocą papierka wskaźnikowego). Żółty o-nitroacetanilid pozostaje w przesączu. Przeprowadzamy krystalizację otrzymanego osadu z alkoholu etylowego w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 cm<sup>3</sup> zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną.

Kryształy p-nitroacetanilidu przemywamy zimnym alkoholem i suszymy na powietrzu. Otrzymujemy bezbarwny, krystaliczny p-nitroacetanilid o temperaturze topnienia 214-216°C. Temperatura topnienia, niepożądanego izomeru o-nitroacetanilidu wynosi 93-94°C.

### 5.3.4 KWAS SULFANILOWY

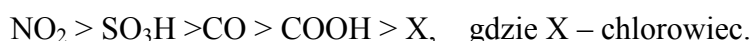
#### (kwas p-aminobenzenosulfonowy)

Sulfonowanie związków organicznych jest reakcją podstawienia elektrofilowego. Polega na wprowadzeniu grupy sulfonowej  $-SO_3H$  na miejsce wodoru, przez bezpośrednie działanie odczynnika sulfonującego na związek organiczny. Do sulfonowania, najczęściej używany jest stężony kwas siarkowy (98 %). Czynnikiem sulfonującym może być również oleum (stężony kwas siarkowy zawierający od 5 do 40 % wolnego  $SO_3$ ), które sulfonuje nawet w niskich temperaturach, zwykle w przedziale od  $0^\circ$  do  $50^\circ$  C. Niska temperatura, sprzyja reakcjom tworzenia pochodnych monopodstawionych. Zastosowanie oleum, może również prowadzić do powstawania niepożądanych produktów ubocznych, np. sulfonów. Przy sulfonowaniu stężonym kwasem siarkowym należy pamiętać, że jest silnie higroskopijny i może zwęgląć produkt reakcji. Oprócz tego, reakcja sulfonowania jest reakcją egzotermiczną, co powoduje znaczny wzrost temperatury mieszaniny reakcyjnej. Dlatego też, należy przestrzegać warunków reakcji, podanych w opisie wykonania preparatu.

Związki aromatyczne bardzo łatwo poddają się sulfonowaniu. Zdolność ulegania sulfonowaniu pochodnych węglowodorów aromatycznych zależy od grup funkcyjnych. Sulfonowanie ułatwiają następujące grupy:

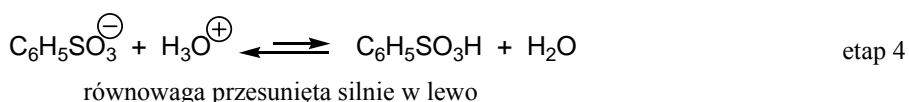
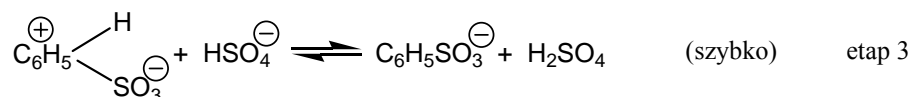
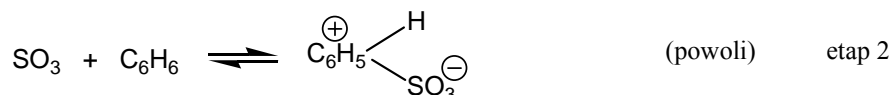
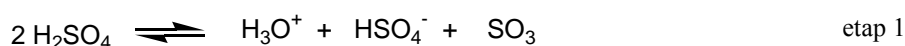


Znacznie trudniej zachodzi sulfonowanie związków zawierających grupy elektroujemne:



Mechanizm reakcji sulfonowania związków aromatycznych (Schemat 6) zachodzi w kilku etapach. W pierwszym etapie, w wyniku reakcji kwasowo-zasadowej pomiędzy dwiema cząsteczkami kwasu siarkowego powstaje czynnik elektrofilowy  $SO_3$ , który jest cząsteczką obojętną lecz wykazującą deficyt elektronów. W drugim etapie  $SO_3$  przyłącza się do pierścienia benzenowego tworząc jon obojnaczy. Utworzony jon, w następnym etapie, bardzo szybko traci proton przekształcając się w produkt, którym jest anion kwasu benzenosulfonowego (mocny kwas). Ostatni etap tworzenia anionu, ma miejsce na skutek umieszczenia reagentów w wodzie (wylania roztworu do wody). Co powoduje dysocjację silnego kwasu benzenosulfonowego.

Schemat 6 Mechanizm reakcji sulfonowania związków aromatycznych

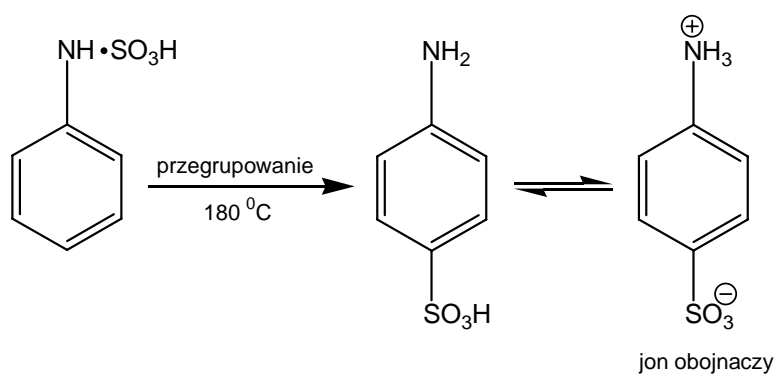
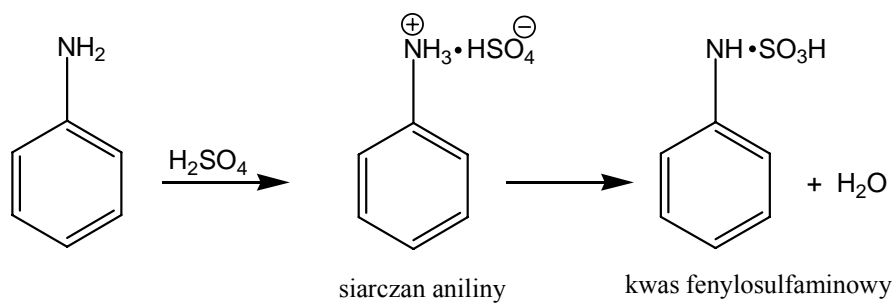


Aminy aromatyczne sulfonuje się najefektywniej poprzez ogrzewanie siarczanu aminy, w wysokiej temperaturze, zwykle od 170 – 220°C. Wolna grupa aminowa, silnie aktywuje pierścień aromatyczny na podstawienie elektrofilowe, co prowadzi do powstawania mono lub wielopodstawionych pochodnych. Monopodstawione pochodne, otrzymuje się prowadząc reakcję z mniej reaktywnymi odczynnikami elektrofilowymi.

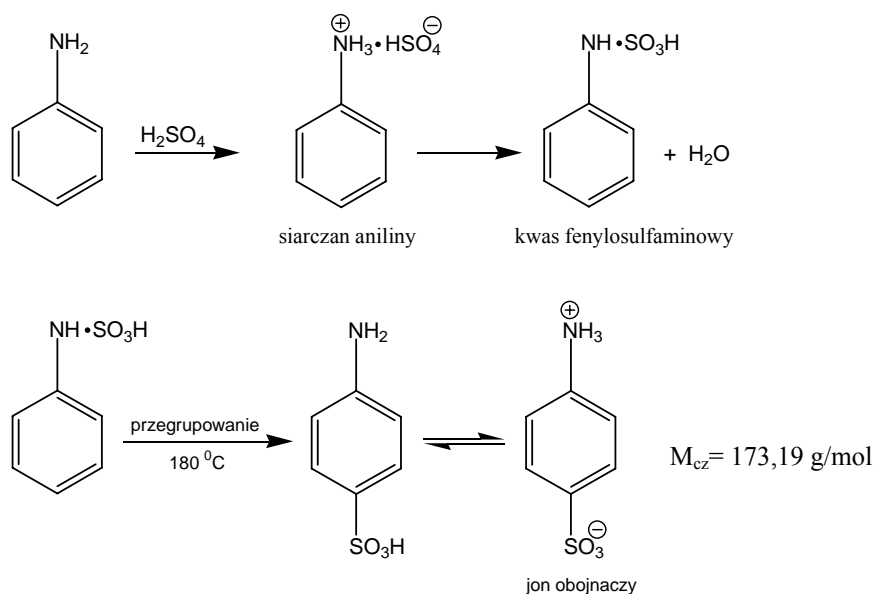
Jeśli reakcja podstawienia elektrofilowego przebiega w silnie kwaśnym środowisku, to z powodu protonowania wolnej pary elektronowej na atomie azotu grupy aminowej, zmniejsza się jej działanie aktywujące. I tak, ogrzewając mieszaninę aniliny i stężonego kwasu siarkowego (siarczan aniliny) powstaje monopodstawiona pochodna aniliny – kwas sulfanilowy. Mechanizm tej reakcji nie jest dokładnie znany. Według preparatyki A. I. Vogela, prawdopodobnie polega na powstawaniu kwasu fenylosulfaminowego, który pod wpływem ogrzewania w wysokiej temperaturze ulega przegrupowaniu do kwasu sulfanilowego. Otrzymany produkt występuje w postaci jonu obojnaczego (Schemat 7).



**Schemat 7** Proponowany mechanizm reakcji sulfonowania aniliny

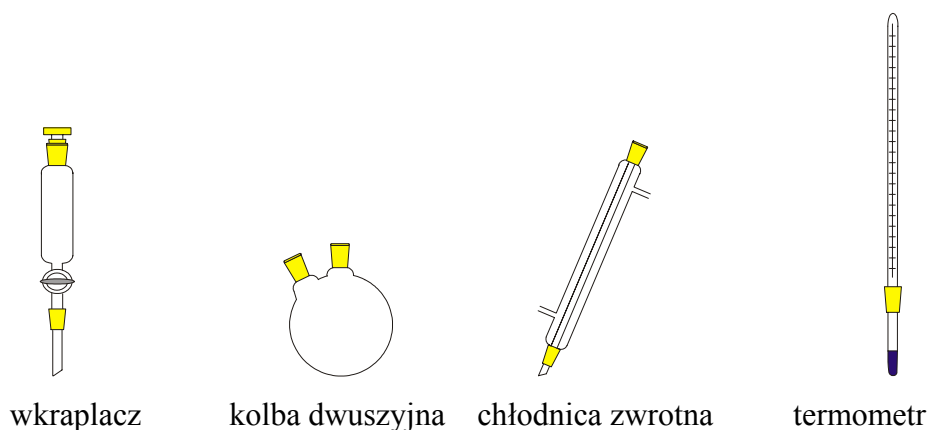


### 5.3.4.1 OTRZYMYWANIE KWASU SULFANILOWEGO /ETAP I



ODCZYNNIKI:	ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
anilina	M=93,13 g/mol d=1,02 g/cm <sup>3</sup> T <sub>w</sub> =184°C	14 cm <sup>3</sup> (ok. 0,15 mola)
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> stężony		20 cm <sup>3</sup> (ok. 0,32 mola)
NaOH 3M		Pracownia
węgiel aktywny		

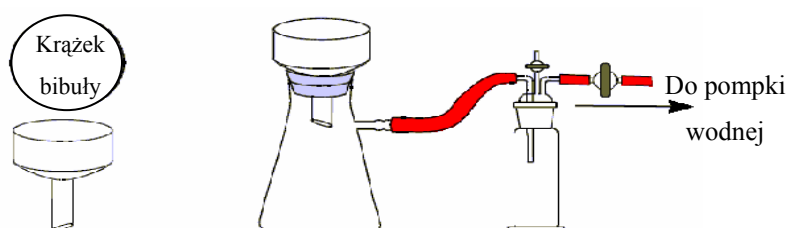
Do dwuszyjnej kolby kulistej o poj 250 cm<sup>3</sup>, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i wkraplacz, wprowadzamy 14 cm<sup>3</sup> aniliny.



Następnie, z wkraplacza dodajemy powoli 20 cm<sup>3</sup> stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Podczas dodawania kwasu siarkowego, zawartość kolby mieszamy, poruszając ją ruchem wirowym i chłodzimy, zanurzając ją co pewien czas w wodzie. Następnie, w miejsce wkraplacza umieszczamy termometr i całość ogrzewamy **do temperatury 180–190°C**, przez ok. 4 godziny. Należy

ściśle przestrzegać temperatury, gdyż zbyt wysoka temperatura powoduje zwęglenie produktu. Podczas ogrzewania obficie wydziela się para wodna. Sulfonowanie jest zakończone, gdy pobrana z mieszaniny reakcyjnej próbka (2 krople) rozpuszcza się całkowicie, bez zmętnienia w 3-4 cm<sup>3</sup> 3 M roztworu NaOH.

Mieszaninę reakcyjną pozostawiamy do ostygnięcia do ok. 50°C i następnie mieszając, wlewamy do zlewki z 400 cm<sup>3</sup> zimnej wody lub pokruszonego lodu. Po upływie ok. 10 minut odsączamy wytrącony surowy kwas sulfanilowy przez lejek Büchnera, przemywamy starannie wodą i odsysamy.



Otrzymany, surowy kwas sulfanilowy, rozpuszczamy w możliwie jak najmniejszej ilości wrzącej wody (ok. 400 cm<sup>3</sup>). Jeśli powstały roztwór jest zabarwiony, dodajemy około 2 g węgla aktywnego i ogrzewamy do wrzenia przez około 10- 15 minut. Gorący roztwór sączymy przez uprzednio **ogrzany** lejek Büchnera.

Po ochłodzeniu, z przesączu krystalizuje bezbarwny, **dwuwodny** kwas sulfanilowy. Po całkowitym oziębieniu roztworu, wydzielone kryształy odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywamy ok. 10 cm<sup>3</sup> zimnej wody i starannie odciskamy szklanym korkiem. Produkt suszymy pomiędzy kilkoma warstwami bibuły filtracyjnej.

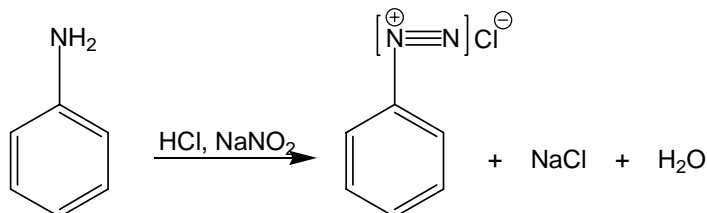
Produkt ten topi się nieostro i nie należy próbować oznaczać jego temperatury topnienia. Ogrzewany powyżej 200°C ciemnieje i zwęgla się. Temperatura rozkładu wynosi 288°C. Rozpuszczalność w wodzie 10 g/dm<sup>3</sup> (20°C), w rozpuszczalnikach organicznych, np. w etanolu - prawie nierozpuszczalny.

**Uwaga !** Kryształy kwasu sulfanilowego wietrzeją na powietrzu.

### 5.3.5 ORANŻ METYŁOWY

#### SOLE DIAZONIOWE

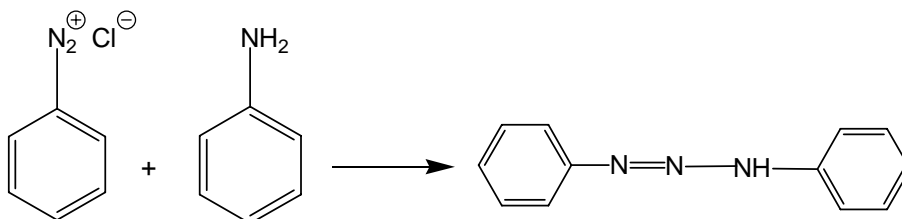
Pierwszorzędowe aminy aromatyczne reagują z kwasem azotowym (III) (azotawym) lub azotanem (III) (azotytem) w obecności kwasu solnego, dając w temperaturze ok. 0°C sole diazoniowe, które łatwo wyodrębnić jako związki przejściowe w syntezie organicznej, np:



W przypadku alifatycznych amin pierwszorzędowych sole diazoniowe natychmiast ulegają rozkładowi (nawet w niskiej temperaturze) z wydzielaniem azotu, prowadząc do powstawania odpowiednich alkoholi lub innych produktów rozkładu.

Reakcja diazowania kwasu sulfanilowego prowadzi do powstania odpowiedniej soli diazoniowej. Jednak z uwagi na fakt, że kwas ten jest słabo rozpuszczalny w wodzie, przeprowadza się go najpierw do soli sodowej, przez dodanie do zawiesiny kwasu w wodzie np. węglanu sodu lub wodorotlenku sodu, a następnie poddaje diazowaniu.

Nadmiar kwasu solnego (0,5-1 równoważnika) podczas reakcji diazowania zapewnia właściwą kwasowość środowiska, niezbędną dla stabilizacji soli diazoniowych i eliminuje reakcje wtórne, jak np. zachodzącą łatwo w środowisku obojętnym reakcję sprzęgania pomiędzy solą diazoniową a nie przereagowaną aminą, co prowadzi do powstawania związku diazoaminowego:

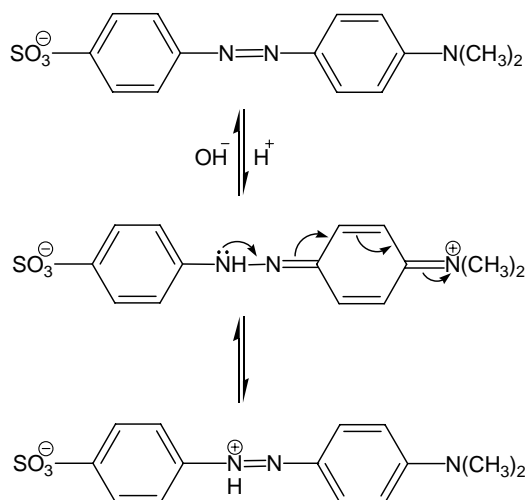


Podczas reakcji diazowania wymaga jest niska temperatura mieszaniny reagującej, aby uniknąć hydrolizy soli diazoniowej.

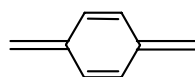
## REAKCJE SPRZĘGANIA SOLI DIAZONIOWYCH

Sole diazoniowe dają reakcję sprzęgania z aminami lub fenolami, prowadząc do powstawania związków azowych. Reakcja sprzęgania jest reakcją podstawienia elektrofilowego, w której jon diazoniowy podstawia się w pozycję orto lub para do donorowej grupy aminowej. Produktami reakcji sprzęgania są związki azowe, mające znaczenie praktyczne, głównie jako barwniki. Wadą ich jest słaba rozpuszczalność w wodzie. Jednak obecność, np. grupy sulfonowej w cząsteczce barwnika, mimo że nie wpływa na jego barwę, zwiększa rozpuszczalność i znaczenie praktyczne. Można więc użyć w reakcji diazowania takiej aminy, w której grupa sulfonowa jest już obecna, jak np. kwas sulfanilowy. Reakcja sprzęgania zdiazowanego kwasu sulfanilowego z N,N-dimetyloaniliną prowadzi do powstania oranżu metylowego (heliantyna).

Oranż metylowy wykorzystywany jest jako wskaźnik alkacymetryczny zmieniający barwę przy pH 3,1-4,4. W środowisku kwaśnym zmienia barwę z żółtej na czerwoną, co związane jest z przekształceniem w sól wewnętrzną stabilizowaną poprzez delokalizację elektronów:



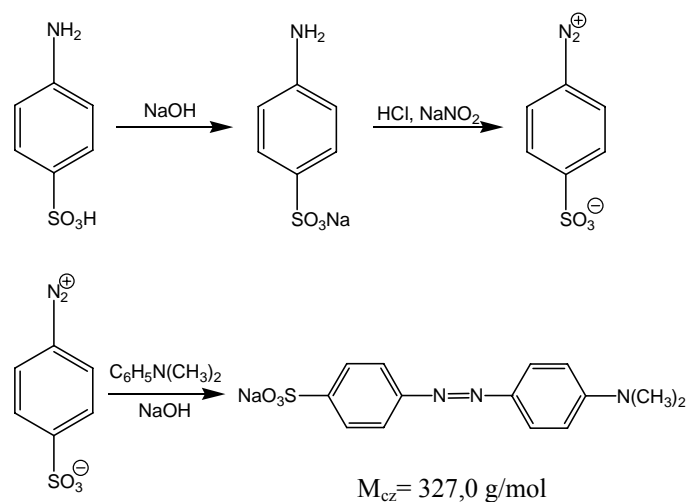
Barwa powyższych związków związana jest z obecnością ugrupowań będących silnymi chromoforami (z łac. *chroma* – barwa, *foros* – niosący): ugrupowanie chinoidowe



powodujące pomarańczową barwę związku oraz grupa  $-\text{N}=\text{N}-$  (barwa żółta).

Związki azowe łatwo zredukować, np. roztworem chlorku cyny (II) w kwasie solnym. Z oranżu metylowego powstaje wówczas kwas sulfanilowy i p-amino-N,N-dimetyloanilina.

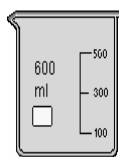
### 5.3.5.1 OTRZYMYWANIE ORANŻU METYLOWEGO/ ETAP II



ODCZYNNIKI:		IŁOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Kwas sulfanilowy	M=173,19 g/mol	6 g	Pracownia
NaOH		1 g	
Azotan (III) sodu (azotyn sodu)		2,1 g	
HCl stężony		5 cm <sup>3</sup> ; 2,5 cm <sup>3</sup>	
N,N-dimetyloanilina	M=121,18 g/mol T <sub>w</sub> =193-5°C d=0,96 g/cm <sup>3</sup>	3 cm <sup>3</sup>	Pokój laboranta
Chlorek sodu		5 g	Pracownia

#### ETAP 1 - DIAZOWANIE

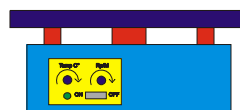
W zlewce o pojemności 100 cm<sup>3</sup> umieszczamy 6g kwasu sulfanilowego, 1g NaOH oraz 40 cm<sup>3</sup> wody i całość ogrzewamy na **łaźni wodnej**, aż do otrzymania przezroczystego roztworu. Następnie, roztwór chłodzimy do temperatury pokojowej pod bieżącą wodą, badamy odczyn papierkiem wskaźnikowym (obojętny lub zasadowy), dodajemy 2,1 g azotanu (III) sodu w 10 cm<sup>3</sup> wody, po czym cały roztwór wlewamy do wkraplacza.



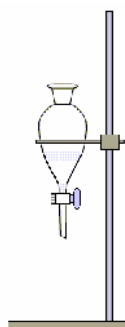
zlewka



krystalizator lub kociołek z wodą



piecyk elektryczny



wkrapłacz

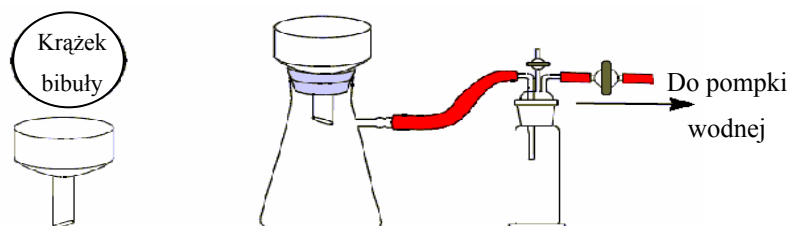
W zlewce o pojemności  $250\text{ cm}^3$  umieszczamy  $30\text{ g}$  drobno pokruszonego lodu oraz  $5\text{ cm}^3$  stężonego HCl. Zlewkę chłodzimy w łaźni z lodem. Do zawartości zlewki mieszanej energicznie bagietką, dodajemy roztwór z wkrapłacza tak, by temperatura nie przekroczyła  $5^\circ\text{C}$ . Po zakończeniu wkraplania mieszaninę pozostawiamy na 15 minut, po czym papierkiem jodokrobiowym sprawdzamy obecność kwasu azotowego (III) (azotawego). Jeśli papierek się nie zabarwia dodajemy kwas solny po kropli, aż do wystąpienia zabarwienia papierka (niedobór  $\text{HNO}_2$  prowadzi do niepożądanych produktów ubocznych). Wkrótce zaczynają wypadać drobne kryształy sulfonianu benzenodiazoniowego, którego nie trzeba odsączać, gdyż w następnym etapie ulegają rozpuszczeniu.

## ETAP II - SPRZĘGANIE Z N,N-DIMETYLOANILINĄ

N,N-dimetyloanilinę przeprowadza się w chlorowodorek. W tym celu, w zlewce o pojemności  $50\text{ cm}^3$  przygotowujemy roztwór N,N-dimetyloaniliny ( $3\text{ cm}^3$ ) w  $5\text{ cm}^3$  rozcieńczonego HCl (1:1). Roztwór ten wlewamy, energicznie mieszając, do soli diazoniowej. Powstaje czerwony osad, czyli kwasowa forma barwnika. Zawartość zlewki mieszamy przez 10 minut, a następnie dodajemy powoli roztwór NaOH (ok.  $3\text{ M}$ ) aż do momentu zmiany zabarwienia mieszaniny na pomarańczową, wskutek wydzielania się cząsteczek soli sodowej oranżu metylowego.

W celu otrzymania oranżu metylowego w postaci krystalicznej, zawartość zlewki ogrzewamy prawie do wrzenia (łaźnia wodna), cały czas mieszając. Następuje rozpuszczenie większości oranżu metylowego. Następnie, dodajemy  $5\text{ g}$  chlorku sodowego (aby ułatwić późniejsze wydzielenie się oranżu metylowego przez tzw. wysolenie) i ogrzewamy w temperaturze  $80\text{--}90^\circ\text{C}$  aż do całkowitego rozpuszczenia soli. Mieszaninę pozostawiamy, aby spokojnie stygła w ciągu ok. 15 minut, a potem chłodzimy w wodzie z lodem. W ten sposób powstaje łatwy do sączenia osad. Wydzielone kryształy sączymy na lejku Büchnera, stosując jednak łagodne ssanie, aby zapobiec zatykaniu się porów sączka. Zlewkę popłukujemy niewielką ilością nasycy-

nego roztworu NaCl, przemywamy nim osad na sączku, po czym osad na sączku dobrze odciskamy.



Otrzymany oranż, oczyszczamy z chlorku sodowego przez krystalizację z wody. Surowy produkt rozpuszczamy w ok. 75 cm<sup>3</sup> gorącej wody, sączymy na gorąco. W miarę ochładzania się przesączu wypadają czerwono - pomarańczowe kryształy oranżu metylowego, które odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem, starannie odciskamy, przemywamy niewielką ilością etanolu i suszymy na powietrzu. Oranż metylowy jako sól nie ma ściśle określonej temperatury topnienia.

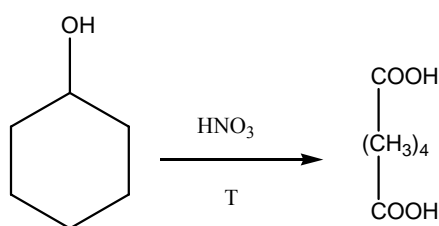
Przeprowadź próbę przygotowując w dwóch probówkach roztwór wodny otrzymanego oranżu. Do pierwszej probówki dodaj kroplę 1 M roztworu kwasu solnego, do drugiej kroplę 1 M roztworu NaOH. Wynik eksperymentu omów w zeszycie laboratoryjnym.



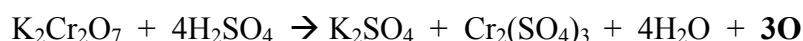
### 5.3.6 CYKLOHEKSANON

Reakcje utleniania są stosowane w preparatyce organicznej do otrzymywania aldehydów, ketonów i kwasów karboksylowych. Utlenianie alkoholi pierwszorzędowych prowadzi do powstania aldehydów, drugorzędowych – do ketonów. Dalsze utlenianie prowadzi do powstania kwasów karboksylowych. Jako środki utleniające stosowane są najczęściej: kwas chromowy, dichromian potasu lub sodu, kwas azotowy (V), chloran (I) sodu (podchloryn), nadmanganian potasu, nadtlenek wodoru, ozon. Dobór środka utleniającego zależy od charakteru chemicznego związku organicznego, który ma być utleniony oraz od produktu jaki ma powstać. Z kolei, od warunków prowadzenia utlenienia (temperatura, pH, rodzaj utleniacza i jego stężenie) zależy jakie produkty powstaną. I tak, utlenianie aniliny za pomocą dichromianu w środowisku kwaśnym prowadzi do powstania chinonu, natomiast w wyniku utleniania w obecności nadmanganianu w środowisku kwaśnym, otrzymuje się czerń anilinową, a w środowisku alkalicznym lub obojętnym – azobenzen obok nitrobenzenu. Utlenianie kwasem chlorowym (I) (HClO, kwas podchlorawy) daje nitrobenzen, zaś kwasem chlorowym (V) (HClO<sub>3</sub>, kwas chlorowy) – p-aminofenol. Z kolei, utlenianie cykloheksanolu w warunkach opisanych w części doświadczalnej, prowadzi do otrzymania cykloheksanonu, natomiast w wyniku utleniania za pomocą kwasu azotowego (V) otrzymuje się dikarboksylowy kwas adypinowy (wskutek utleniania został rozerwany pierścień) Schemat 8.

**Schemat 8** Reakcja utleniania cykloheksanolu za pomocą kwasu azotowego (V)



Dobłą metodą przekształcania alkoholi drugorzędowych w odpowiednie ketony jest utlenienie kwasem chromowym. Jeden mol dichromianu potasu jest źródłem trzech moli tlenu:

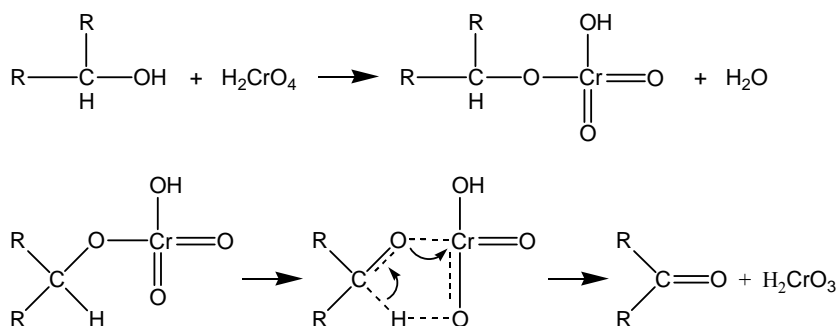


Reakcję przeprowadza się używając stechiometryczną ilość kwasu chromowego, obliczoną na podstawie równania reakcji. Kwas chromowy przygotowuje się z mieszaniny wodnego roztworu dichromianu potasu lub sodu i stężonego kwasu siarkowego. Zmiana barwy mieszaniny reagującej na kolor zielony (Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) wskazuje na koniec reakcji. Wstrząsanie lub mieszanie w

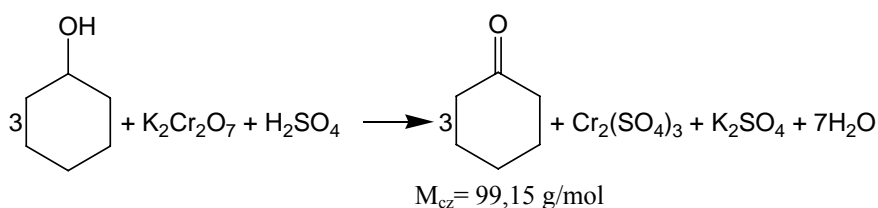
czasie utleniania umożliwia prowadzenie procesu w niezbyt wysokiej temperaturze, ze wzrostem wydajności. Mieszanina chromowa, często też, jest używana do utleniania alkoholi pierwszorzędowych do odpowiednich aldehydów.

Mechanizm utleniania alkoholi kwasem chromowym (Schemat 9) polega na utworzeniu w pierwszym etapie estrów kwasu chromowego, w których następuje przemieszczenie protonu i przesunięcie par elektronowych prowadzące do utworzenia wiązania C=O i do odłączenia związku chromu (IV). Dalszy etap procesów redox nie jest do końca poznany, ale prowadzi do redukcji Cr (IV) do Cr (III).

**Schemat 9** Mechanizm utleniania alkoholi kwasem chromowym

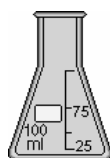


### 5.3.6.1 OTRZYMYWANIE CYKLOHEKSANONU /ETAP I



ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Cykloheksanol	M=100,16 g/mol d=0,94 g/cm <sup>3</sup>	17 cm <sup>3</sup>	Pokój laboranta
K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub>	M=294,19 g/mol	34 g	Pracownia
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> stężony	d=1,84 g/cm <sup>3</sup>	17 cm <sup>3</sup>	
NaCl		20 g	
Eter dietylowy	T <sub>w</sub> =34,6°C	30 cm <sup>3</sup>	Pokój laboranta
MgSO <sub>4</sub> bezwodny			Pracownia

W kolbie stożkowej o pojemności 300 cm<sup>3</sup> przygotowujemy roztwór 34 g K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> (rozdrobionego w moździerzu) w 160 cm<sup>3</sup> wody oraz **ostrożnie** dolewamy 17 cm<sup>3</sup> stężonego H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (d=1,84 g/cm<sup>3</sup>). Następnie, mieszając, dodajemy ostrożnie 17 cm<sup>3</sup> cykloheksanolu. Kolbę zamykamy szklanym korkiem i **ostrożnie** wstrząsamy w celu dokładnego wymieszania jej zawartości. Następnie, sprawdzamy temperaturę mieszaniny reakcyjnej. Jeżeli temperatura wzrośnie do 55°C, kolbę chłodzimy zimną wodą, utrzymując temperaturę w granicach 55 - 60°C. Jeśli po zaprzestaniu chłodzenia, temperatura nie wzrasta powyżej 60°C, kolbę pozostawiamy na okres 1 godziny, co pewien czas mieszając jej zawartość.



kolba stożkowa ze szlifem  
zaopatrzona w korek



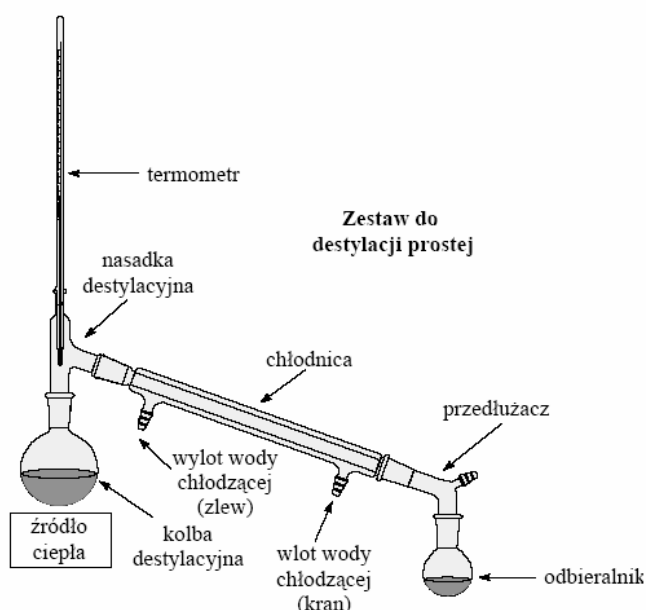
termometr



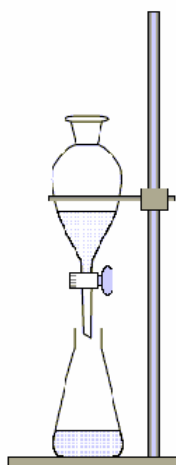
krystalizator lub kociołek  
z zimną wodą

Następnie, mieszaninę poreakcyjną umieszczamy w kolbie kulistej o pojemności 500 cm<sup>3</sup>, dodajemy 150 cm<sup>3</sup> wody, kolbę zaopatrujemy w chłodnicę i przeprowadzamy destylację

z parą wodną. Zbiera się około 80 cm<sup>3</sup> destylatu, który tworzy dwie warstwy (górną stanowi cykloheksanon, dolną woda z pewną ilością cykloheksanonu).



Destylat przenosimy do rozdzielacza z dopasowanym korkiem, dodajemy około 20 g NaCl i oddzielamy górną warstwę (keton) do suchego odbieralnika ze szlifem. Wodną warstwę (dolną), przenosimy ponownie do rozdzielacza i ekstrahujemy za pomocą 30 cm<sup>3</sup> eteru dietylowego. Ekstrakt eterowy (górną warstwą), łączymy z warstwą ketonu i suszymy bezwodnym MgSO<sub>4</sub> przez ok. 30 min.



Wysuszony roztwór eterowy sącymy do kolby kulistej o pojemności 100 cm<sup>3</sup>, oddzielając środek suszący. Następnie budujemy zestaw do destylacji i ogrzewając łagodnie kolbę oddestylowujemy eter dietylowy. Gdy temperatura wzrośnie do 60 - 70°C zmieniamy odbieralnik i zwiększając grzanie kontynuujemy destylację zbierając frakcję o temperaturze wrzenia 153 - 156°C (cykloheksanon).

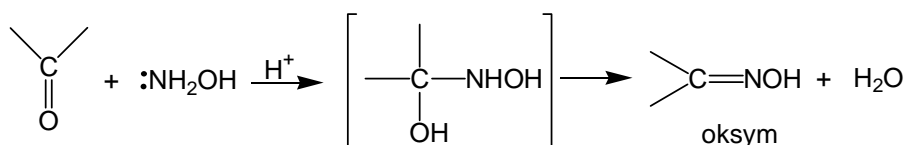
**Tabela 6 Wybrane właściwości fizykochemiczne cykloheksanonu**

Masa cząsteczkowa	98,15 g/mol
Barwa	bezbarwna
Temperatura wrzenia	156°C
Gęstość w temp. 20°C	0,95 g/cm <sup>3</sup>
Rozpuszczalność w wodzie w temperaturze 20°C	9% wag.
Rozpuszczalność w innych rozpuszczalnikach	rozpuszcza się w większości rozpuszczalników organicznych.
Zapach	podobny do zapachu acetonu, często określany jako ostry zapach sera

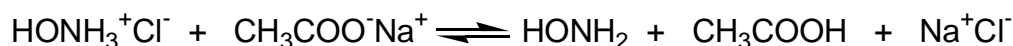
### 5.3.7 OKSYM CYKLOHEKSANONU

#### OKSYMY

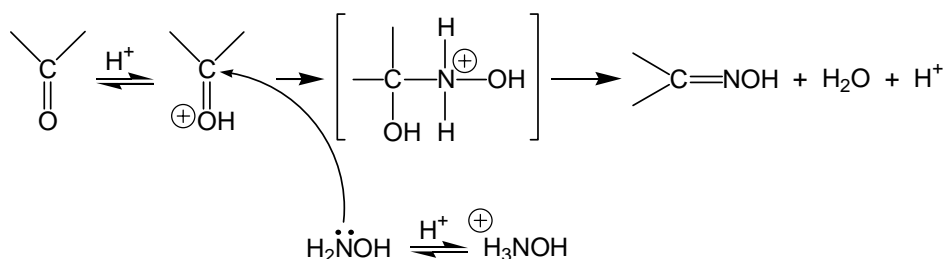
Produktami addycji hydroksylaminy, pochodnej amoniaku do grupy karbonylowej są oksymy:



Początkowo, tworzy się produkt, który na skutek eliminacji cząsteczki wody przekształca się w oksym, zawierający podwójne wiązanie węgiel-azot. Hydroksylamina ma charakter zasadowy, dlatego łatwo reaguje z kwasami dając sole, które są bardziej trwałe niż sama hydroksylamina. Stosując w syntezie sól hydroksylaminy, wpierw należy przeprowadzić ją w wolną hydroksylaminę za pomocą buforu np. octanu sodu:



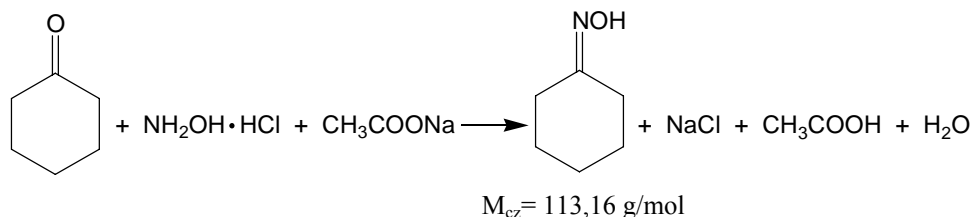
Silnie kwaśne środowisko sprzyja reakcji addycji, gdyż protonowanie atomu tlenu grupy karbonylowej ułatwia atak nukleofilowy. Z drugiej strony, hydroksylamina może również ulegać protonowaniu z wytworzeniem jonu amoniowego  $^+\text{H}_3\text{N-OH}$ , który nie ma wolnej pary elektronowej i traci właściwości nukleofilowe. Z tego względu lepsze dla reakcji addycji będzie mniej kwaśne środowisko.



Warunki reakcji muszą być zatem odpowiednio dobrane, w zależności od zasadowości odczynnika i reaktywności związku karbonylowego. Reasumując, reakcje powstawania oksymów przebiegają najszybciej przy pewnym optymalnym pH~5, przy którym stężenie protonowanej formy związku karbonylowego jest już dostatecznie duże, a jednocześnie w roztworze znajduje się jeszcze wystarczająca ilość cząsteczek wolnej zasady. Oksymy są wykorzystywane w analizie jakościowej i ilościowej aldehydów i ketonów z uwagi na łatwość wydzie-

lenia tych krystalicznych substancji. Oprócz tego, oksymy znajdują zastosowanie w syntezie organicznej.

### 5.3.7.1 OTRZYMYWANIE OKSYMU CYKLOHEKSANONU /ETAP II



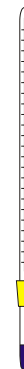
ODCZYNNIKI:		ILOŚĆ:	LOKALIZACJA:
Chlorowodorek hydroksylaminy	M=69,49 g/mol T <sub>i</sub> =157°C	5 g	Pracownia
Octan sodu		8 g	
Cykloheksanon	M=98,15 g/mol T <sub>w</sub> = 156°C; d=0,95 g/cm <sup>3</sup>	5 g (ok. 5 cm <sup>3</sup> )	Pokój laboranta
Etanol lub metanol			Pokój laboranta

W kolbie okrągłodennej o poj. 100 cm<sup>3</sup>. umieszczamy 20 cm<sup>3</sup> wody i rozpuszczamy w niej 5 g chlorowodoru hydroksylaminy oraz 8 g krystalicznego octanu sodu. Roztwór ogrzewamy do temperatury 50-60°C (nie przekraczać 60°C), a następnie dodajemy do niego 5 g (ok. 5 cm<sup>3</sup>) cykloheksanonu. Kolbę zamykamy szczelnie korkiem i wytrząsamy energicznie przez kilka minut.



czasza grzejna

kolba okrągłodenna  
zaopatrzona w korek

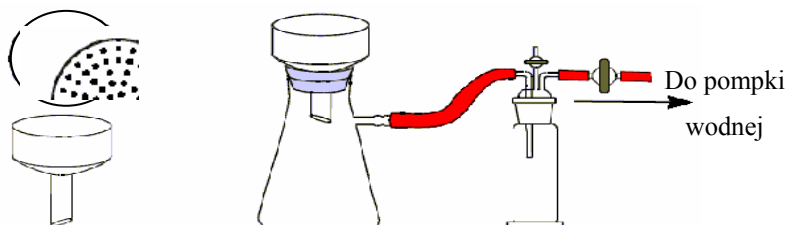


termometr

Oksym wypada jako krystaliczny osad. Po ochłodzeniu kolby wodą, około 15 minut, kryształy oksymu odsączamy na lejku Büchnera. Osad pozostały w kolbie na ściankach, przemywamy niewielką ilością wody. Ciecz z przemywania kolby przenosimy na lejek Büchnera. Połączone osady przemywamy wodą. Odsączony osad przenosimy do zlewki, dodajemy alkohol do rozpuszczenia. Do pozostałości osadu w kolbie, dodajemy alkohol do całkowitego rozpuszczenia.



czenia kryształów a następnie roztwór łączymy z roztworem oksymu. Kolejno, do alkoholowego roztworu oksymu, dodajemy porcjami wodę do momentu wypadnięcia osadu (objętość wody i alkoholu użytych do krystalizacji powinna w przybliżeniu wynosić  $V_{\text{woda}}:V_{\text{alk.}} = 1:1$ ). Kryształy oksymu odsączamy na lejku Büchnera i przemywamy niewielką ilością zimnej wody.



Temperatura topnienia wysuszonych kryształów oksymu wynosi 89-90°C.

## 6 KARTY CHARAKTERYSTYK

### SUBSTANCJE NIEBEZPIECZNE W MYŚL DYREKTYWY 1999/45/EEG

- **ACETON**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz łatwo palna. Pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe do powietrza – gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Aceton działa narkotycznie na ośrodkowy układ nerwowy (OUN) oraz drażniąco na skórę, oczy i drogi oddechowe. Po spożyciu silnie podrażnia błony śluzowe przewodu pokarmowego, a po wchłonięciu zakłóca pracę serca, wątroby i nerek.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Aceton działa szkodliwie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne. W środowisku ulega biologicznej degradacji.

- **ACETYLOOCTAN ETYLU**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja wysoce łatwopalna, pary cięższe od powietrza. Z powietrzem tworzy mieszaniny wybuchowe. Trzymać z dala od źródeł ognia. W przypadku pożaru może nastąpić rozkład substancji do kwasu octowego i etanolu stwarzając wtórne zagrożenia pożarowe.

**Zagrożenie toksykologiczne:** LD50 (doustnie, szczury) 3960 mg/kg, LD50 (skóra, króliki) >5000 mg/kg. Przy wdychaniu objawy podrażnienia błon śluzowych, kaszel, duszności. Przy kontakcie ze skórą: słabe podrażnienia, efekt odtłuszczenia. Przy kontakcie z oczami: podrażnienia. Po spożyciu słabe podrażnienia. Przy absorpcji: bóle i zawroty głowy.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Dobra biodegradowalność powyżej 90% w ciągu 28 dni. Nie jest spodziewana bioakumulacja. Toksyczny dla ryb i alg. Nie dopuścić do przedostania się do ujęć wody pitnej, gleby i ścieków.

- **4-AMINOFENOL [p-aminofenol, 4-hydroksyanilina]**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja stała, palna. Spalając się, wydzielają toksyczne gazy, pary i dymy.

**Zagrożenie toksykologiczne:** 4-aminofenol jest substancją szkodliwą. Działa silnie drażniąco na skórę i płuca. Ma ostry, nieprzyjemny zapach. Powoduje groźne uszkodzenia skóry i oczu.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** 4-aminofenol działa bardzo toksycznie na organizmy wodne; może wywołać długo utrzymujące się zmiany w środowisku wodnym.

- **ANILINA**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz palna. Pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe od powietrza – gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń. W ogniu wydzielają się toksyczne gazy, pary i dymy, w tym tlenki węgla i gazy nitrozowe.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Anilina szczególnie silnie działa na krew i układ krwiotwórczy. Potencjalny kancerogen. Silnie wchłania się przez skórę.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Anilina działa szkodliwie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne. W środowisku stopniowo ulega biologicznej degradacji.

- **AZOTAN(III) SODU [azotyn sodu]**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja stała, krystaliczna. Posiada własności utleniające. W ogniu powstają toksyczne gazy, pary i dymy.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Azotan(III) sodu powoduje u człowieka rozszerzenie wszystkich naczyń krwionośnych oraz bezpośrednie działanie rozkurczowe na mięśnie gładkie.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Substancja działająca toksycznie na żywe organizmy, w szczególności wodne. Nietrwała w środowisku.

- **BENZALDEHYD [aldehyd benzoesowy]**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz palna. Składniki z powietrzem tworzą mieszaniny wybuchowe. W wyniku działania podwyższonej temperatury pojemniki mogą ulec rozszczelnieniu z wydzielaniem szkodliwych gazów i par.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Benzaldehyd działa drażniąco na błony śluzowe, układ oddechowy. Do organizmu człowieka przedostaje się przez przewód pokarmowy i drogi oddechowe.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Działa szkodliwie na organizmy wodne i lądowe.

- **BEZWODNIK OCTOWY [bezwodnik kwasu octowego, tlenek acetylu]**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz łatwo palna. Pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe od powietrza – gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Bezwodnik kwasu octowego i jego pary działają żrąco na żywą tkankę. Bezwodnik octowy i jego pary działają drażniąco na skórę, oczy i drogi oddechowe, jest bakteriobójczy.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Bezwodnik octowy wywiera stosunkowo słabe, szkodliwe działanie w środowisku naturalnym.

- **CHLOREK WAPNIA [chlorek wapnia bezwodny]**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja stała, niepalna. Pod wpływem wysokiej temperatury wydzielają się toksyczne gazy, pary i dymy HCl.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Chlorek wapnia na organizm człowieka działa drażniąco.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Chlorek wapnia działa szkodliwie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne i glebowe.

- **CHLOROFORM [trichlorometan, trójchlorometan]**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja ciekła, niepalna. W ogniu wydzielają się toksyczne gazy, pary i dymy HCl.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Substancja szkodliwa, rakotwórcza kat.3. Chloroform działa narkotycznie, usypiająco. Wywiera miejscowe działanie drażniące.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Chloroform działa silnie szkodliwie na organizmy wodne i glebowe.

- **CYKLOHEKSANOL [alkohol cykloheksylowy, heksahydrofenol]**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz palna. Pary są cięższe od powietrza – gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Cykloheksanol (alkohol cykloheksylowy) znacząco szkodliwie działa w dużych stężeniach. Z łatwością przedostaje się też do organizmu przez powierzchnię ciała.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Cykloheksanol działa niekorzystnie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne. W środowisku ulega biologicznej degradacji.

- **CYKLOHEKSANON [keton pimelinowy]**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz palna. Pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe od powietrza – gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Substancja szkodliwa. Cykloheksanon powoduje przede wszystkim zakłócenie działania układu nerwowego.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Cykloheksanon działa szkodliwie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne. W środowisku ulega biologicznej degradacji.

- **CYNKOWY PYŁ [Cynk- proszek stabilizowany] (8\*)**

**Zagrożenie pożarowe:** Cynk sproszkowany może spontanicznie zapalać się w kontakcie z powietrzem lub wilgocią.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Pył cynku działa szkodliwie, o ile przedostanie się do układu oddechowego człowieka. W kontakcie ze skórą mogą wystąpić podrażnienia.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Cynk sproszkowany nie działa szkodliwie na organizmy wodne i lądowe.

- **DICHROMIAN(VI) POTASU**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja stała, niepalna, utleniająca.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Pył i mgła dichromianu potasu działają żrąco na skórę i błony śluzowe dróg oddechowych. Wywołują silne podrażnienie i zmiany zapalne skóry i błon śluzowych. Rakotwórczy. Toksyczny. Niebezpieczny dla środowiska.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Dichromian(VI) potasu działa toksycznie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne i glebowe. Dichromian(VI) potasu zakłóca funkcjonowanie wszelkich form życia. Szczególnie szkodliwy dla ssaków i ryb.

- **ETANOL 96,6% [alkohol etylowy 96,6%]**

**Zagrożenie pożarowe:** Etanol 96,6% jest substancją wysoce łatwopalną, tworzącą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe od powietrza i gromadzą się przy powierzchni.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Etanol 96,6% działa drażniąco na skórę, oczy i drogi oddechowe. Bakteriobójczy.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Etanol 96,6% nie wywiera szczególnie szkodliwego działania w środowisku naturalnym. Jest produktem naturalnej fermentacji. Większe ilości zrzucone do wód mogą spowodować odtlenienie środowiska.

- **ETER DIETYLOWY [eter etylowy]**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz skrajnie łatwopalna. Pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe do powietrza - gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Eter dietylowy wywiera działanie narkotyczne. W przypadku spożycia wystąpią objawy silnego podrażnienia błon śluzowych przewodu pokarmowego, a po wchłonięciu zakłócenia w pracy serca, ośrodkowego układu nerwowego oraz zakłócenie pracy wątroby i nerek.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Eter dietylowy działa szkodliwie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne. Eter nie jest trwały w środowisku. Bardzo szybko odparowuje do atmosfery gdzie ulega biologicznej degradacji.

- **KWAS AZOTOWY(V) 65%**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz żrąca, utleniająca i toksyczna, niepalna. W kontakcie z wieloma substancjami może wywołać pożar. W ogniu wydzielają się żrące i toksyczne gazy.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Kwas azotowy(V) 65% w kontakcie z żywą tkanką działa żrąco, powodując uszkodzenie skóry i błon śluzowych oczu, dróg oddechowych, układu pokarmowego.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Kwas azotowy(V) 65% uszkadza wszelkie formy życia. Pary działają żrąco.

- **KWAS OCTOWY LODOWATY**

**Zagrożenie pożarowe:** W temperaturze pokojowej ciecz łatwo palna. Pary tworzą z powietrzem mieszaniny wybuchowe. Pary są cięższe od powietrza – gromadzą się przy powierzchni i w dolnych partiach pomieszczeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Kwas octowy lodowaty i jego pary działają żrąco na żywą tkankę.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Nie wywiera szczególnie szkodliwego działania w środowisku naturalnym. Kwas octowy jest naturalnym produktem fermentacji biologicznej.

- **KWAS SALICYLOWY [kwas 2-hydroksybenzoesowy]**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciało stałe, palne. Pyły i pary, w określonych sytuacjach, mogą tworzyć mieszaniny wybuchowe z powietrzem.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Kwas salicylowy jest substancją szkodliwą. Działa żrąco. Może wywoływać poparzenia chemiczne. Może wywoływać uczulenia.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Kwas salicylowy działa szkodliwie na zwierzęta, w szczególności ssaki.

- **KWAS SIARKOWY(VI) 98%**

**Zagrożenie pożarowe:** Ciecz żrąca, silny utleniacz, nie palna. W ogniu wydzielają się żrące i toksyczne gazy.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Kwas siarkowy(VI) 98% i jego pary działają żrąco na żywą tkankę. Kwas rozcieńczony i jego pary działa drażniąco na skórę, oczy i drogi oddechowe. Bakteriobójczy. Dawka trująca wprowadzona do organizmu człowieka wynosi 2 - 3 g, dawka śmiertelna wynosi 4 - 8 g.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Niebezpieczny dla środowiska naturalnego. W bezpośredniej styczności zabija wszelkie formy życia. Zwęгла substancje organiczne (higroskopijny).

- **KWAS SOLNY 36% [kwas chlorowodorowy]**

**Zagrożenie pożarowe:** Kwas solny 36% jest substancją niepalną, żrącą. Wskutek działania wysokiej temperatury wydzielają się żrące i toksyczne pary, gazy i dymy.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Kwas solny 36% w kontakcie z żywą tkanką działa żrąco, powodując uszkodzenie skóry i błon śluzowych oczu, dróg oddechowych, układu pokarmowego. Doustna dawka śmiertelna wynosi 12-15g stężonego kwasu solnego.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Kwas solny 36%, stężony działa żrąco na wszelkie formy życia. W wodzie szybko ulega rozcieńczeniu, stąd zagrożenie dla życia wodnego jest stosunkowo niewielkie.

- **KWAS SULFANILOWY (kwas 4-aminobenzenosulfonowy, kwas anilino-4-sulfonowy)**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja stała, niepalna.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Kwas sulfanilowy jest substancją drażniącą. Drażni błony śluzowe oczu, dróg oddechowych, układu trawiennego.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Kwas sulfanilowy działa drażniąco na zwierzęta, szczególnie wodne.

- **N,N DIMETYLOANILINA [Dimetylaminobenzen]**

**Zagrożenie pożarowe:** substancja palna. W razie pożaru możliwe powstawanie niebezpiecznych palnych gazów lub par. W razie pożaru mogą powstawać tlenki azotu.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Działa toksycznie w przypadku narażenia drogą oddechową, kontaktu ze skórą i po spożyciu. Możliwe ryzyko powstania nieodwracalnych zmian w stanie zdrowia.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Działa toksycznie na organizmy wodne; może wywoływać długo utrzymujące się zmiany w środowisku wodnym.

- **NADTLENEK WODORU 35% [woda utleniona 35%]**

**Zagrożenie pożarowe:** Nadtlenek wodoru ma silne własności utleniające. Granice stężeń wybuchowych z powietrzem 40,00-100% obj.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Ostre zatrucia powodują mniej lub więcej rozległe uszkodzenie tkanek na skutek oparzenia chemicznego i wywołują liczne skutki ogólnoustrojowe.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Nadtlenek wodoru 35% działa na wszelkie formy życia w zetknięciu bezpośrednim. W wodzie rozpuszcza się szybko, nie wywołując działań szkodliwych.

- **OKSYM CYKLOHEKSANONU**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja palna. W ogniu wydzielają się toksyczne i żrące gazy i dymy (tlenki azotu).

**Zagrożenie toksykologiczne:** Działa szkodliwie w przypadku spożycia.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Stanowi zagrożenia dla środowiska.

- **WĘGLAN SODU [węglan sodowy, soda bezwodna, soda kalcynowana, soda amoniakalna]**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja niepalna, żrąca. W ogniu powstają toksyczne pyły i szkodliwe gazy.

**Zagrożenie toksykologiczne:** W przypadku spożycia węglanu sodu wystąpią objawy silnego podrażnienia błon śluzowych przewodu pokarmowego, do perforacji narządów wewnętrznych włącznie, mogące być przyczyną zgonu. Wystąpią zakłócenia w pracy organów wewnętrznych.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Węglan sodu nie stanowi szczególnego zagrożenia w środowisku, o ile nie został zrzucony w nadmiernej ilości.

- **WĘGLAN WAPNIA [kreda]**

**Zagrożenie pożarowe:** Substancja stała, niepalna.

**Zagrożenie toksykologiczne:** Węglan wapnia w postaci pylistej jest substancją słabo drażniącą błony śluzowe oraz skórę.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Substancja praktycznie nierozpuszczalna w wodzie. Nie działa szkodliwie na żywe organizmy wodne.

- **WODOROTLENEK SODU [zasada sodowa, soda kaustyczna, roztwór – ług sodowy]**

**Zagrożenie pożarowe:** Wodorotlenek sodu bezpośrednio nie stwarza zagrożenia pożarowego. W obecności wilgoci, w kontakcie z wieloma metalami, wydziela się wodór – gaz tworzący mieszaniny wybuchowe z powietrzem w szerokim zakresie stężeń.

**Zagrożenie toksykologiczne:** W przypadku spożycia wystąpią natychmiast objawy silnego podrażnienia błon śluzowych przewodu pokarmowego, do perforacji narządów wewnętrznych włącznie, mogące być przyczyną zgonu. Wystąpią zakłócenia w pracy organów wewnętrznych.

**Zagrożenie ekotoksykologiczne:** Wodorotlenek sodu działa silnie szkodliwie na organizmy żywe, w szczególności organizmy wodne i glebowe. Wodorotlenek sodu nie jest trwały w środowisku. Ulega degradacji środowiskowej.



## 7 PIŚMIENNICTWO

1. R. J. Hamilton, P. A. Sewell, Wysokosprawna chromatografia cieczowa, PWN, Warszawa 1982
2. A. I. Vogel, Preparatyka organiczna, WNT, styczeń 2006
3. J. Opieńska-Blauth; H. Kraczkowski; H. Brzuszkiewicz, Zarys chromatografii cienko-warstwowej, Państwowe Wyd. Rolnicze i Leśne, Warszawa 1971
4. P. Biginelli, Ber., 1891, 24, 1317, 2962; 1893, 26, 447
5. M. S. Holden ; R. D. Crouch, J. Chem. Educ. 2001, 78, 1104-1105
6. E. D. Conte, E.F. Barry, H. Rubinstein, J. Chem. Educ. 1996, 73, 1169
7. P. Le Couteur; J. Burreson Guziki Napoleona. Jak 17 Cząsteczek Zmieniło Historię. Wyd. Twój Styl, Warszawa 2004
8. S. D. Murray; P.J. Hansen, J. Chem. Educ. 1995, 72, 851-852 Hampp, A. J. Chem. Educ. 1996, 73, 1172
9. R. T. Morrison, R. N. Boyd, Chemia Organiczna, PWN, Warszawa 1985
10. P. Mastalerz, Chemia Organiczna, PWN, Warszawa 1986
11. Praca zbiorowa, pod redakcją Wandy Placzkowej, Preparatyka Organiczna, PWT, Warszawa 1954
12. L. Gattermann, H. Wieland, Preparatyka Chemiczna Organiczna, PWN, Warszawa 1952
13. M. Dziańkowski, Pracownia Preparatyki Organicznej, WSiP, Warszawa 1986
14. J. D. Roberts, M. C. Caseiro, Chemia Organiczna, PWN, Warszawa 1962
15. J. McMurry, Chemia Organiczna, PWN, Warszawa 2000
16. G. Kupryszewski, M. Sobocińska, R. Walczyna, Podstawy Preparatyki Organicznych Związków Chemicznych, Wydawnictwo Gdańskie, Gdańsk 1998
17. Praca zbiorowa, Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Organicznej dla studentów biofizyki, inżynierii materiałowej, Biologii z geografią oraz biologii kurs podstawowy, [www.chemia.uj.edu.pl/dydaktyka](http://www.chemia.uj.edu.pl/dydaktyka), Kraków 2006
18. P. Kreitmeier, Einführung in die apparativen Methoden in der Organischen Chemie, Ein tutorial zum Organischen Praktikum als Hypertextsystem, Univeristat Regensburg, [www-oc.chemie.uni-regensburg.de](http://www-oc.chemie.uni-regensburg.de), Regensburg 2001
19. Karty charakterystyk substancji niebezpiecznych i preparatów niebezpiecznych, [www.am.wroc.pl/bhp.html](http://www.am.wroc.pl/bhp.html)
20. W. Mizerski, Tablice chemiczne, Adamantan, Warszawa 1997

21. Praca zbiorowa, Poradnik fizyko- chemiczny, WNT, Warszawa, 1974
22. J. Gawroński, K. Gawrońska, K. Kacprzak, M. Kwit, Współczesna Synteza Organiczna, Wybór eksperymentów, PWN, Warszawa, 2004
23. M. Soroka, Samouczek BHP w laboratorium chemii organicznej, Laboratoria, aparatura, badania, 2002, 3, 24-31
24. W. Szczepaniak, Metody instrumentalne w analizie chemicznej, PWN, Warszawa, 1996
25. S. Zawadzki, K. Kociołek , Laboratorium z chemii organicznej, Politechnika Łódzka, Łódź, 2002
26. P. Tomasik, Mechanizmy Reakcji Organicznych, PWN, Warszawa, 1998

## 8 INDEKS

- 3,4-dihydropirymidyn-2-on, 53
- 4-aminofenol, 138
- 5-etoksykarbonyl-4-fenyl-6-metyl-3,4-dihydropyrimidyn-2(1H)-on, *Patrz* 3,4-dihydropirymidyn-2-on, *Patrz* 3,4-dihydropirymidyn-2-on
- acetanilid, 111
- otrzymywanie*, 113
- aceton, 138
- acetyloglicyna, 70
- otrzymywanie*, 81
- acetylooctan etylu, 138
- acetylowanie, 62, 111
- acylowa grupa, 64, 111
- alanina, 71, 77
- aldozy, 92
- alkaloid, 82
- amidowa grupa, 78
- aminokwasy, 70
- aminokwasy  $\alpha$ , 71
- aminokwasy  $\beta$ , 71
- egzogenne, 74, 77
- endogenne, 74, 77
- klasyfikacja, 71
- L- $\alpha$ -aminokwasy, 73
- N-acylopo pochodne, 78
- naturalne, 71
- szereg konfiguracyjny D lub L, 73
- aminowa grupa, 70, 74
- anilina, 139
- anomery, 96
- anomeryczne centrum, 96
- arginina, 72, 77
- aspargina, 72, 77

asparginian, 77  
aspiryna, 59  
    *otrzymywanie*, 62  
asymetryczny atom węgla, 73  
azotan (III) sodu, 139  
Benedicta  
    odczynnik, 98  
    roztwór, 105  
    test *wykonanie*, 105  
benzaldehyd, 139  
bezwodnik octowy, 139  
celuloza, 91, 92  
chelatujące właściwości, 87  
chiralność, 73  
chlorek wapnia, 139  
chloroform, 140  
chromatografia, 42  
    adsorpcyjna, 44  
    bibułowa, 48  
    cieczowa, 42, 47  
    cienkowarstwowa, 49  
    cienkowarstwowa *wykonanie*, 50  
    fluidalna, 42  
    gazowa, 42  
    GLC, 43  
    GSC, 43  
    jonowymienna, 45  
    kolumnowa, 46, 52  
    komora chromatograficzna *przygotowanie*, 50  
    LLC, 43  
    LSC, 44  
    planarna, 46  
    płytk chromatograficzna *przygotowanie*, 50  
    podziałowa, 44

sitowa, 46  
szybkosprawna cieczowa, FPLC, 47  
wysokosprawna cieczowa, HPLC, 46  
żelowa, 46  
chromofor, 125  
Claisen'a nasadka, 38  
cukier gronowy, 97  
cukry  
  cukry proste, 92  
  cukry proste *reakcje*, 98  
  cukry złożone, 92  
  estryfikacji reakcje, 99  
cukry redukujące, 99  
cykl Krebsa, cykl kwasów trójkarboksylowych, 86  
cykloheksanol, 140  
cykloheksanon, 129, 140  
  *otrzymywanie*, 131  
  właściwości fizykochemiczne, 133  
cysteina, 72, 77  
cystyna, 80  
cytrynian wapnia, 89  
cytrynowy kwas, *Patrz* kwas cytrynowy  
czynność optyczna, 73  
destylacja  
  pod chłodnicą zwrotną, 41  
  pod ciśnieniem atmosferycznym, 36  
  pod zmniejszonym ciśnieniem, 37  
  próżniowa, 37  
  z parą wodną, 39  
diazoniowe sole, 124  
diazowanie, 126  
dichromian (VI) potasu, 141  
ekstrakcja, 14, 31, 84  
elektrofilowe podstawienie, 120, 125

reakcja, 119  
eluent, 42  
enancjomer, 73  
ester etylowy kwasu 6-metylo-2-okso-4-fenylo-1,2,3,4-tetrahydropiryminy-5-  
karboksylowego, *Patrz* 3,4-dihydropiryminy-2-on  
estry, 64  
estryfikacja, 64  
etanol, 141  
eter dietylowy, 141  
faza ruchoma, 42  
faza stacjonarna, 42  
Fehlinga  
    odczynnik, 98  
    roztwór, test, 105  
    test *wykonanie*, 105  
fenyloalanina, 72, 77, 78  
Fischera projekcja, 92  
FPLC, 47  
fruktoza, 91, 92, 96, 102  
furanosa, 94  
GLC, 43  
glicyna, 71, 77, 78, 79, 81  
glikogen, 91, 97  
glukoza, 91, 92, 96, 97, 98, 99, 100, 102, 107  
glutamina, 72, 77  
glutaminian, 77  
glutation, 80  
GSC, 43  
Hawortha wzory, 93  
heksozy, 92  
hemiacetale, 94  
heptozy, 92  
histrydyna, 72, 77  
HPLC, 46

izoleucyna, 72, 77  
izomery (+) i (-), 96  
izomery  $\alpha$  i  $\beta$ , 96  
jon  
    dipolowy, 75  
    obojnaczy, 75  
    zwiterjon, 75  
karboksylowa grupa, 70, 74  
ketozy, 92  
kofeina, 82  
    otrzymywanie, 84  
kolagen, 79  
kompleksowanie, 87  
konformacja krzesłowa, 94  
krówka destylacyjna, 39  
krystalizacja, 24, 27, 28  
kwas acetylosalicylowy, 59, *Patrz* aspiryna  
kwas aminooctowy, 79  
kwas asparginowy, 72  
kwas azotowy, 141  
kwas cytrynowy, 86  
    fizykochemiczne właściwości, 87  
    otrzymywanie, 89  
    zastosowanie, 86  
kwas glutaminowy, 72  
kwas L-askorbinowy, 86  
kwas octowy lodowaty, 142  
kwas p-aminobenzenosulfonowy, 119  
kwas p-aminobenzoowy, PAB, 74  
kwas p-aminosalicylowy, PAS, 74  
kwas salicylowy, 142  
kwas siarkowy, 142  
kwas solny, 142  
kwas sulfanilowy, 119, 143

*otrzymywanie*, 122

laktoza

*izolacja*, 104

lejek Büchnera, 29

leucyna, 71, 77

lizyna, 72, 77

LLC, 43

LSC, 44

ług pokrystaliczny, 24

metionina, 72, 77

mieszaniny chłodzące, 13

monosacharydy, 92

mutarotacja, 97

N,N-dimetyloanilina, 125, 143

nadtlenek wodoru, 143

Nernsta podział, 44

nukleofile, 64

    czynnik nukleofilowy, 64

octan etylu, 64

*otrzymywanie*, 67

oksym cykloheksanonu, 134, 143

*otrzymywanie*, 136

oleum, 119

oranż metylowy, 124

*otrzymywanie*, 126

paracetamol, 56

*otrzymywanie*, 58

pentozy, 92

peptydowe wiązanie, 78

peptydy, 78

pięciooctan- $\alpha$ -D-glukozy

*otrzymywanie*, 109

pięciooctan  $\beta$ -D-glukozy

*otrzymywanie*, 107



piranoza, 94  
pirogronowy kwas, 97  
płuczka, 30  
p-nitroacetanilid, 115  
    *otrzymywanie*, 117  
podział Nernsta, 44  
polipeptydy, 79  
polopiryna, 59  
pompa wodna, 29  
półacetale, 93  
półacetalowe wiązanie, 93  
prolina, 72, 77  
punkt izoelektryczny, 75  
puryna, 82  
pył cynkowy, 140  
sacharoza, 91, 92  
sączenie, 29  
    pod zmniejszonym ciśnieniem, 29  
sączenie molekularne, 46  
seryna, 72, 77  
skrobia, 91  
sole diazoniowe  
    sprzężanie, 125, 127  
sól wewnętrzna, 76  
stereogeniczne centrum, 96  
substytucja nukleofilowa, 111  
sulfonowania reakcja  
    *mechanizm*, 120, 121  
suszenie, 30, 32  
    rozpuszczalników i roztworów organicznych, 32  
    substancji stałych, 30  
środek suszący, 32, 34  
TLC, 49  
Tollensa próba, 98

treonina, 72, 77  
tryptofan, 72, 77  
tyrozyna, 72, 77, 78  
walina, 71, 77  
węglan sodu, 144  
węglan wapnia, 144  
węglowodany, 91  
    izomeria, 95  
    klasyfikacja, 92  
wodorotlenek sodu, 144