

دانشکده داروسازی

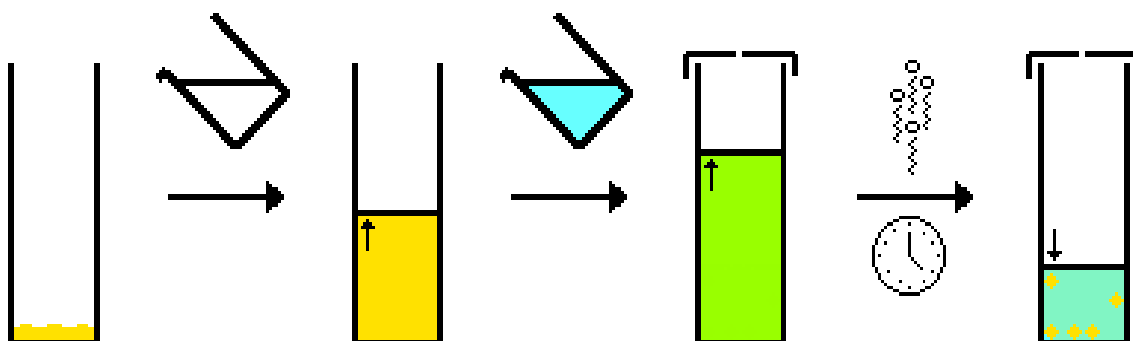
دانشگاه علوم پزشکی تبریز


## جزوه آزمایشگاه شیمی آلی ۱



تهیه و تنظیم:

خانم حکیمه رضائی اقدام





## فهرست

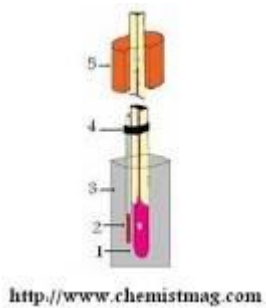
شماره صفحه	عنوان آزمایش	جلسه
۳	تعیین نقطه ذوب	۱
۸	تبلور	۲
۱۲	استخراج	۳
۱۸	تقطیر ساده	۴
۱۸	تقطیر در خلا	۵
۲۰	تقطیر جز به جز	۶
۲۲	کروماتوگرافی	۷



## آزمایش شماره ۱

### MELTING POINT

### تعیین نقطه ذوب



### تئوری آزمایش:

در اثر جذب انرژی، آرایش منظم ذرات در یک ترکیب جامد و بلوری به آرایش نامنظم (حالت مایع) تبدیل می شود. این عمل را ذوب می گویند. پدیده ذوب وقتی روی می دهد که انرژی گرمایی بر نیروهای بین ملکولی که ذرات را در حالت جامد نگه می دارند فایق آید. نقطه ذوب یک ترکیب دمایی است که در آن، جسم به صورت مایع در می آید. در این دما فشار بخار مایع و فشار بخار جامد برابرند و دو فاز مایع و جامد در حال تعادل هستند.

دمای ذوب یک جسم خالص در طول عمل ذوب ثابت می ماند. به عبارت دیگر، اگر به مخلوط مایع و جامد یک جسم خالص گرما بدهیم، تا وقتی که تمام جامد به مایع تبدیل نشود، دمای جسم بالا نمی رود و چنانچه گرم کردن متوقف شود، تا زمانی که تمامی مخلوط جامد نشده است، دما پائین نمی رود. برخی از جامدات آلی در دمای ذوب شدن یا پیش از آن بر اثر گرما تجزیه می شوند. در این صورت می توان به جای نقطه ذوب دمای تجزیه را به عنوان یک خاصیت فیزیکی مورد استفاده قرار داد. بعضی از مواد فشار بخار بالایی دارند، به طوری که در نقطه ذوب خود یا پیش از آن تصعید می شوند. در این گونه موارد تعیین نقطه ذوب در لوله در بسته انجام می شود. بعضی مواد قبل از ذوب شدن حلال تبلور خود را از دست می دهند (عرق می کنند) در این حالت اولین قطره مایع دیده شده نقطه ذوب واقعی است.

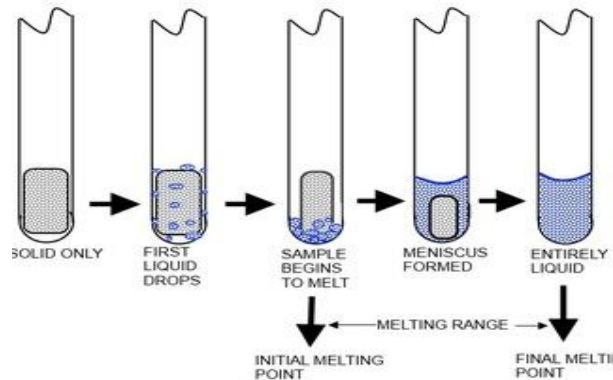
دمای ذوب را عمدتاً به دو طریق زیر تعیین میکنند:

۲- دستگاههای اندازه گیری دقیق میکروسکوپ

۱- لوله تیل یا مویین



لوله تیل وسیله ساده ای است که به سهولت قابل دسترسی است. لوله تیل به نحوی طراحی شده است که وقتی در آن رو به نحوی که توزیع دما در سراسر روغن داخل لوله یکنواخت می شود. چنانچه لوله تیل در دسترس نباشد از یک بشر کوچک ۵۰ یا ۱۰۰ میلی لیتری می توان به عنوان حمام استفاده کرد. در منبع روغن می ریزیم و لوله را گرم می کنیم، در آن تبادل گرمایی صورت می گیرد.



#### محدوده نقطه ذوب

• اولین نقطه (دمای پایین) دمایی است که اولین قطره مایع در بین کریستالها تشکیل میشود.

• نقطه دوم (دمای بالا) دمایی است که کل توده جامد به مایع شفاف تبدیل میشود.

کاربرد نقطه ذوب: • شناسایی مواد • اثبات خلوص ماده

دو ترکیب که نقطه ذوب یکسان داشته باشند، احتمالاً یک ترکیب هستند. از این رو با اندازه گیری نقطه ذوب یک ترکیب خالص مجهول و مراجعه به کتب مرجع می توان ترکیب مجهول را شناسایی کرد. تغییرات فشار محیط بر روی نقطه ذوب، تأثیر قابل ملاحظه ای ندارد، زیرا مواد جامد دارای فشار بخار ناچیزی می باشند. ناخالصیهای فرار و غیر فرار، سبب پایین آمدن دمای ذوب می شوند. لذا از این خصوصیت می توان برای تعیین خلوص مواد جامد معلوم، استفاده کرد.

نقطه ذوب خلوص ماده را از دو طریق نشان میدهد:

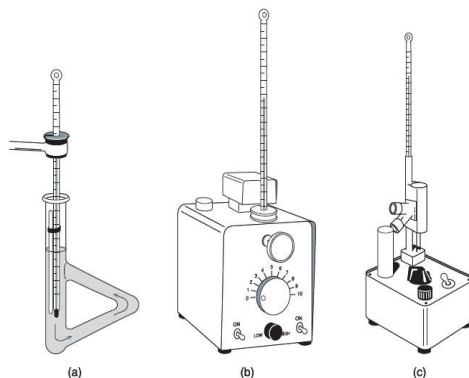
۱. مواد خالص تر نقطه ذوب بالاتری دارند.

۲. محدوده ذوب مواد خالص باریک تر است.

۳. با افزایش ماده ناخالص B نقطه ذوب کاهش مییابد.

۴. نقطه اوتکتیک محدودیت حلالیت B در A بنا براین کمترین نقطه ذوب مخلوط A/B را دارد (توجه: دراوتکتیک نقطه

Figure 3 Different types of melting point apparatus: (a) Thiele tube; (b) Thomas-Hoover; (c) Mel-Temp



ذوب تیز - محدوده ذوب نداریم).

وسایل آزمایش: لوله موئین - دماسنج - حمام روغن - نخ - گیره و پایه - نفتالین - استانیلید

### روش آزمایش:

برای این آزمایش نقطه ذوب دو ماده جامد معلوم را بدست می آورد و با استفاده از نمودار تصحیح ترمومتر و از روی نقطه ذوب استاندارد مواد، نقطه ذوب ماد مجهول را شناسایی می کنیم.

در ابتدا انتهای یک طرف لوله های موئین را که از دو طرف باز است روی شعله می بندیم. سپس طرف دیگر لوله موئین را در پودر ماده جامد فرو کرده (حدود ۳ میلی لیتر) و انتهای لوله را چند بار روی میز می زنیم تا تمام پودر در انتهای لوله قرار گیرد. سپس لوله را با نخ به یک دماسنج می بندیم. دماسنج را به پایه آویزان می کنیم و آن را درون حمام روغن قرار می دهیم و روی شعله مستقیم قرار نمی دهیم زیرا روی شعله هم ماده یکنواخت گرم نشده هم ممکن است ماده سوخته و تجزیه شود.

حمام روغن را گرم می کنیم، وقتی ماده جامد شروع به ذوب شدن کرد تا زمانی که ماده کاملاً ذوب شود دما را یادداشت می کنیم. این کار را برای دو ماده معلوم نفتالین و استانیلید و ماده مجهول انجام می دهیم.



### نتیجه گیری:

۱- نفتالین: نقطه ذوب استاندارد: ۸۰ نقطه ذوب تجربی:  $(79+82) \div 2 = 80.5$

۲- استانیلید: نقطه ذوب استاندارد: ۱۱۴ نقطه ذوب تجربی:  $(113+114) \div 2 = 113.5$

۳- مجهول: نقطه ذوب تجربی: ۱۲۰

با توجه به آنکه نقطه ذوب تجربی برابر ۱۲۰ است و نزدیک به نقطه ذوب استاندارد بنزوئیک اسید (۱۲۲) است در نتیجه ماده مجهول ما بنزوئیک اسید است.

### منابع خطا:

۱- ایزوله نبودن مکان آزمایش چون دماسنج از بالا در حمام روغن نیست.

۲- اگر حرارت حمام زیاد باشد دما به طور یکنواخت پخش نمی شود.

۳- خطای درجه بندی

### سوالات:

۱- یک کریستال سفید در ۱۱۱-۱۱۲ درجه سانتی گراد ذوب می شود. پس از خنک کردن ترکیب، نقطه ذوب دوم دمای ۱۴۰° را نشان می دهد. چرا؟

ممکن است ترکیب پس از خنک شدن به صورت ریز بلور در آمده باشد در نتیجه نظم آنها بیشتر و نقطه ذوب افزایش پیدا می کند.

۲- یک دانشجو دو بار نقطه ذوب را اندازه می گیرد. یک بار با ۱-۲ میلی لیتر ارتفاع که ۱۴۱-۱۴۲° نشان می دهد دفعه دوم با ۴-۵ میلی لیتر ارتفاع که ۱۴۱-۱۴۵° را نشان می دهد، نقطه ذوب گزارش شده ۱۴۲° است. چرا؟

چون با زیاد شدن ماده، ماده دیرتر ذوب و محدوده نقطه ذوب بیشتر می شود.

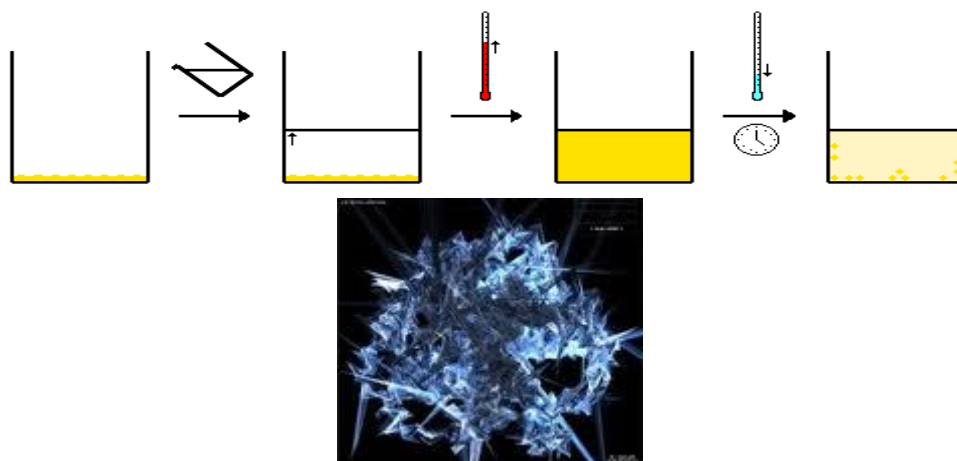


۳- دانشجویان دیگر نقطه ذوب  $136-138$  را برای همان ماده پرسش ۲ گزارش می دهند، سرعت حرارت دادن آنها ۱۲ درجه ی سانتی گراد در دقیقه بوده است. چه اتفاقی افتاده است؟ چون سرعت حرارت دادن بالا بوده دماسنج نتوانسته است دمای خود را با دمای محیط متعادل کند در نتیجه نقطه ذوب کمتری را نشان می دهد.

۴- ترکیبی در  $120-123$  در یک دستگاه و  $128-129$  در دستگاه دیگر ذوب شده است. از کجا می توانید یکسان بودن دو ترکیب را بدون کالیبراسیون مشخص کنید؟

وقتی نقطه ذوب یک ماده را در بوسیله یک دستگاه بدست می آوریم به طور طبیعی نقطه ذوب ماده دوم در دستگاه دیگر نیز باید همان مقدار باشد البته در صورتی که دو ماده از یک نوع باشند. وقتی دو ماده را با هم ترکیب کنیم اگر نقطه ذوب بدست آمده همان نقطه ذوب اولی باشد، ماهیت دو ماده یکسان است اما از ترکیب این دو ماده که به نقطه ذوب متفاوتی رسیدیم متوجه می شویم دو ماده نسبت به هم ناخالص

## تبلور مجدد (نوبلور سازی) (Recrystallization)



**تئوری:** از روش‌های جداسازی می‌توان ته‌نشینی، نوبلورسازی، انجماد، تبخیر، تقطیر، استخراج مایع-مایع، استخراج فاز جامد، استخراج قطره‌ای، میکرواستخراج با فاز جامد، استخراج با گاز، مبادله‌ی یونی، جذب سطحی، کروماتوگرافی، الکتروکروماتوگرافی، الکترودیالیز، دیالیز و ... نام برد.

در واکنش‌های آلی محصولات بندرت به صورت خالص به دست می‌آیند. وقتی ماده به صورت جامد باشد معمولاً آنرا در حلالی حل کرده و مجدداً به صورت بلور رسوب می‌دهند. این عمل را تبلور مجدد می‌نامند.

ترکیبی که می‌خواهیم متبلور کنیم را باید در یک حلال یا مخلوطی از حلال‌های داغ، محلول بوده و در حالت سرد همان حلالها نامحلول باشد. عمل تخلیص در صورتی انجام میشود که ناخالصی، یا در حلال سرد محلول باشد و یا در حلال داغ نامحلول باشد. در حالت دوم محلول را بصورت داغ صاف میکنیم تا ناخالصیهای محلول جدا شوند. اگر محلول رنگی باشد و ما بدانیم که جسم مورد نظر بیرنگ است مقدار کمی از زغال رنگبر به محلول سرد اضافه نموده سپس آنرا حرارت داده، بصورت داغ صاف میکنیم. زغال رنگبر، ناخالصیهای رنگی را جذب میکند.

انتخاب محیط تبلور کار ساده ای نیست، رفتار حلالیت ترکیب یا باید شناخته شده باشد و یا باید به طریق تجربی مشخص گردد. مثلاً وقتی که تبلور پارا دی برومبنزن مورد نظر باشد مخلوطی از اتانل و آب به کار میرود. ترکیب هم در اتانول سرد و هم در اتانل داغ محلول است: از اینرو اتانول تنها، برای این کار مفید نیست. از طرف دیگر این ترکیب چه در آب سرد و چه در آب داغ کم محلول است بنابراین این آب تنها نیز برای این کار مفید نیست. اما مخلوط مساوی از الکل و آب در حالت داغ حلال





خوبی برای جسم است و در حالت سرد حلالیت آن جزئی است از اینرو از مخلوط این دو حلال برای تبلور پارادی بروموبنزن استفاده میشود.

بعضی مواقع عمل تبلور خودبخود صورت نمیگیرد و باید آنرا بر اثر تحریک متبلور نمود. بدین منظور یا جدار داخلی ظرف در سطح محلول را میخراشند و یا ذراتی خالص از همان جسم را در محلول سرد وارد میکنند تا تبلور شروع شود. بسیاری از ترکیبات بر اثر سرد کردن محلول یا سرد کردن به همراه هم زدن به صورت بلور در میآیند. برخی ترکیبات به صورت روغن در آمده چندین ساعت و حتی گاهی چندین روز وقت لازم است تا بلور تشکیل شود.

بطور خلاصه تبلور مجدد به روش انحلال شامل مراحل زیر است:

(۱)- انتخاب حلال مناسب

(۲)- انحلال جسم مورد تخلیص در نقطه جوش حلال یا نزدیک به آن

(۳)- صاف کردن محلول داغ برای جداکردن ناخالصیهای نامحلول

(۴)- تبلور از محلولی که در حال سرد شدن است

(۵)- جداکردن بلورها از محلولی که در آن شناور هستند

(۶)- شستشوی بلورها برای خارج کردن محلولی که به آنها آغشته است

(۷)- خشک کردن بلورها

یک حلال باید واجد شرایط معینی باشد تا بتوان از آن در کریستالیزاسیون استفاده کرد:

باید ضریب حرارتی آن برای ترکیب مربوط و ناخالصی ها مناسب باشد

نقطه جوش حلال باید به اندازه کافی باشد تا در مرحله نهایی که جسم خشک میشود بتوان حلال را به اسانی از بلورها خارج کرد

بهتر است نقطه جوش حلال کمتر از نقطه ذوب جسم باشد.

از نظر شیمیایی نباید حلال با ترکیبی که خالص میشود واکنش دهد.



## روش انجام آزمایش:

مقدار 20 gr استانیلید را وزن کرده و در درون بشری میریزیم حدود ml20 اب به ان اضافه می کنیم و روی چراغ قرار میدهیم تا بجوشد وقتی جوشش را آغاز کرد به علت زیاد بودن مقدار استانیلید لکه های روغنی روی ان مشخص میشود بنابراین طی دو مرحله ml20 و در مجموع ml40 مجدداً روی ان اب می ریزیم و انرا بهم میزنیم و منتظر می مانیم تا محلول به جوش اید برای گرفتن رنگ اندک محلول به اندازه ی سر اسپاتول به ان ذغال اکتیو اضافه می کنیم و محلول در حال جوشیدن را اضافه می کنیم. مقداری از رسوب ما درهنگام صاف کردن روی کاغذ صافی می چسبد بنا براین باید بعد از صاف کردن کاغذ صافی را در بشری با اب بجوشانیم. محلول به دست آمده را زیر شیر اب سرد می کنیم تا کریستال تشکیل شود. پس از این که کریستال تشکیل شد به وسیله کاغذ صافی که قبلاً وزن شده و یک قیف معمولی صاف می کنیم برای افزایش بازده کار دوباره اندکی درون ظرف اب ریخته و کریستال های اطراف ان را شسته و روی صافی میریزیم. کاغذ صافی و رسوب را درون اون قرار میدهیم تا خشک شود سپس انرا وزن می کنیم .

۱- ارلن تصفیه (ارلن تخلیه)      ۲- قیف بوختر      ۳- شلنگ خلا

## محاسبات:

۱۰۰ گرم استانیلید گرفته شده

۰.۶۵ گرم وزن صافی

۱.۱۸ گرم کریستال و کاغذ صافی

۱.۱۸-۰.۶۵=۰.۵۳ gr وزن کریستال

بحث و نتیجه گیری:

اکثر ترکیبات الی سنتز شده ناخالص اند چون در فرایند سنتز یک سری محصولات فرعی هم تولید می شود.

غیر از کریستالیزاسیون روش هایی مانند کروماتوگرافی- استخراج- تصعید هم از روشهای تخلیص است.

حلالهای مورد استفاده باید علاوه بر شرایط گفته شده باید ارزان و بی خطر باشد هر حل شونده ای نوع حلال خود را می

خواهد حل شونده های قطبی در حلالهای قطبی و حل شونده های غیر قطبی در حلالهای قطبی



برای صاف کردن از قیف بوختر وارلن بوختر استفاده می کنیم

عمل صاف کردن باید سریع انجام شود پس باید ارلن بوختر را به خلا وصل کرد

## آزمایش شماره ۳ استخراج کافئین از چای



### تئوری:

استخراج روشی است برای جداسازی که مستلزم انتقال جسمی از یک فاز به فاز دیگر میباشد. در بعضی مواقع لازم است برای بازیابی یک جسم آلی از محلول آبی از راههایی غیر از تقطیر استفاده شود. یکی از این راهها تماس دادن محلول آبی با یک حلال غیر قابل امتزاج با آب است. اگر حلال خاصیت جداسازی را داشته باشد بیشتر مواد آلی از لایه آبی به حلال آلی (حلال غیر قابل امتزاج با آب) انتقال پیدا میکند. روش استخراج مایع - مایع در جدا کردن ترکیبهای آلی از مخلوط مصرف بسیار زیادی دارد. یکی از خواص حلال که برای استخراج به کار برده میشود این است که قابلیت حل شدن آن در آب و یا هر ماده دیگری که جسم آلی را در خود حل کرده کم باشد و یا بهتر از آن اینکه اصلا حل نشود. همچنین باید فرار باشد تا براحتی بتوان آنرا از ترکیب یا ترکیبات آلی استخراج شده، تقطیر نمود. با توجه به مطالب فوق جسم استخراج شونده باید در حلال استخراج کننده به خوبی حل شود و قابلیت انحلال در این حلال خیلی بیشتر از آب باشد. ضمناً حلال استخراج کننده هیچ نوع واکنشی با آب یا مواد قابل استخراج نباید بدهد. مهمترین حلالی که در استخراج به کار گرفته میشود دی اتیل اتر است که توانائی حل کردن تعداد زیادی از ترکیبات را در خود دارد. دی اتیل اتر نسبت به اکثر ترکیبات بی اثر بوده و به راحتی به وسیله یک تقطیر ساده از مخلوط بازیابی میشود. اما اشکال مهم آن این است که آتشگیر بوده و خیلی زود در هوا محترق میشود.

از نظر کمی پخش یک جسم بین دو حلال غیر قابل امتزاج را بر حسب ضریب پخش (ضریب تفکیک)

بدیهی است برای این که  $A$  در یکی از دو مایع غیر قابل اختلاط کاملاً حل شود، باید مقدار  $K$  بینهایت یا صفر باشد. عملاً هیچ یک از این دو مقدار به دست نمی آید با این حال تا زمانی که مقدار  $K$  بزرگتر از ۱ و حجم حلال  $S$  برابر یا بزرگتر از حلال  $S'$  باشد مقدار جسم در حلال  $S$  بیشتر خواهد بود.



یکی دیگر از نتایج قانون پخش (معادله بالا) این است که چنانچه برای جدا کردن جسم از محلول آن در 'S' باید جمعا حجم معینی از حلال S به کار رود، میتوان نشان داد که انجام چند استخراج متوالی با قسمتهایی از آن حجم بهتر از یک استخراج با تمام آن حجم است. مثلا در [استخراج](#) محلول آبی بوتیریک اسید، مقدار اسیدی که به کمک دو استخراج متوالی با قسمتهای ۵۰ میلی لیتری اتر به دست می آید، بیشتر از اسیدی است که به کمک یک استخراج با ۱۰۰ میلی لیتر اتر خارج میشود. با این حال سه [استخراج](#) متوالی با قسمتهای ۳۳ میلی لیتری بهتر خواهد بود. با این حال حدی وجود دارد که بعد از آن دیگر استخراج اضافی بازده قابل ملاحظه ای نداد. ضمنا واضح است هرچه ضریب پخش بزرگتر باشد تعداد استخراج مکرری که برای جدا کردن کامل جسم لازم است کمتر میشود.

هنگام انتخاب حلال جهت استخراج یک جزء از محلول باید چند اصل کلی را به خاطر سپرد.

(۱) حلال استخراج با حلال محلول اصلی باید غیر قابل اختلاط باشند.

(۲) حلال انتخابی باید برای جزء مورد نظر مناسبترین ضریب پخش و برای ناخالصیها یا اجزای دیگر ضرایب نامناسبی داشته باشد.

(۳) حلال انتخابی باید مانند [تبلور مجدد](#) از نظر شیمیایی با اجزای مخلوط، واکنش نامناسبی ندهد.

(۴) پس از استخراج باید بتوان حلال را به آسانی از جسم حل شده جدا کرد. معمولا حلال را با [تقطیر](#) جدا میکنند.

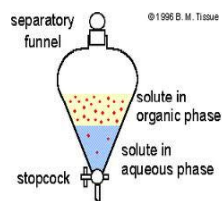
هنگامی که یکی از حلالها آب باشد، ضرایب پخش اسیدها و بازهای آلی به مقدار زیادی تحت تاثیر pH قرار میگیرد. اسید آلی که در pH برابر با ۷ در آب نامحلول باشد ممکن است در محلول آبی رقیق [سدیم هیدروکسید](#) یا سدیم بی کربنات کاملا حل شود. در چنین حالی خروج پروتون از اسید، باز مزدوج مربوط را ایجاد میکند و این باز به علت خاصیت یونی خود در آب که حلالی قطبی است بیشتر حل میشود.

باز مزدوج اسید آلی به همین روش باز آلی که در pH برابر با ۷ در آب نامحلول باشد، ممکن است در محیط اسیدی (pH کمتر از ۷) مانند [کلریدریک اسید](#) کاملا حل شود. در این حالت افزایش حلالیت به علت پروتوندار شدن باز آلی به وسیله اسید آبی و ایجاد اسید مزدوج قطبی است که در آب بیشتر محلول است.

بنابراین اسیدها و بازهای آلی را میتوان به طور انتخابی از حلالهای آلی غیر قطبی مانند [اتر](#)، [دی کلرومتان](#)، [بنزن](#) و غیره به کمک [استخراج](#) با محلول آبی که pH مناسبی داشته باشد جدا کرد. با خنثی کردن محلول آبی میتوان اسید یا باز آلی اولیه را



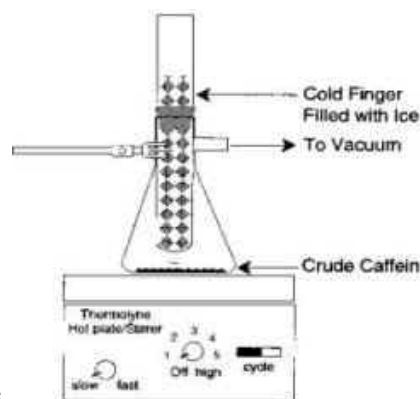
دوباره از آن به دست آورد. افزایش باز آبی به محلول اسیدی باعث آزاد شدن باز آلی میشود، در حالی که افزایش اسید آبی به محلول بازی، اسید آلی را آزاد میکند.



برای انجام استخراج محلول را در **قیف جدا کننده** میریزند (توجه کنید شیر بسته باشد) و به آن مقداری حلال استخراجی اضافه میکنند (قیف نباید بیش از سه چهارم پر شود). دهانه بالای قیف جدا کننده را با در لاستیکی یا سنباده ای که اکثر قیفها دارا هستند می بندند. هنگام تکان دادن قیف آنرا به نحو به خصوصی نگه میدارند.

قیف و محتویات آنرا به شدت تکان میدهند تا دو مایع غیر قابل اختلاط تا حد ممکن با هم تماس پیدا کنند. منظور از این تکان آن است که سطح تماس دو حلال افزایش بیشتری یابد تا جسم در زمان نسبتا کمتری در بین آنها پخش شود و به حالت تعادل برسد. باید هر چند ثانیه قیف را برگرداند (شیر به طرف بالا) و با احتیاط شیر آنرا باز کرد تا گاز قیف خارج شود و فشاری که در آن ایجاد شده از بین برود. این عمل مخصوصا وقتی حلالی با **نقطه جوش** کم به کار میرود و یا یک محلول اسیدی با سدیم بی کربنات استخراج میشود (گاز  $CO_2$  آزاد میشود) اهمیت پیدا میکند. در صورتی که این کار انجام نشود ممکن است در قیف و محتویات آن به شدت به بیرون بپرد. پس از تکان دادن کافی (حدود ۲ دقیقه تکان شدید) برای آخرین بار گاز قیف را خارج میکنند و آنرا در روی حلقه ای قرار میدهند و میگذارند تا لایه ها از هم جدا شوند. پس از آن لایه پایینی را به دقت از راه شیر به داخل ظرفی ریخته و دو لایه مایع را از هم جدا میکنند.

قاعدتا لایه ها طوری جدا میشوند که حلال سنگینتر در قسمت پایین قرار میگیرد. بنابراین، آگاهی از دانسیته حلالهای مصرفی برای تشخیص لایه ها مفید است. با وجود این، این تشخیص بدون خطا نیست زیرا ممکن است ماهیت و غلظت جسم حل شده طوری باشد که دانسیته نسبی دو حلال را معکوس کند .



Purify your caffeine by sublimation, carefully monitoring the heat so as to minimize the decomposition of your caffeine. Determine the mass of the pure product and the melting point.

هدف: استخراج کافئین از چای

وسایل و مواد مورد نیاز:

بشر - استوانه مدرج - ارلن - پایه - گیره - هیتر - ترازو - قیف - قیف جدا کننده - کاغذ صافی - آب مقطر - چای خشک -  $\text{Ca(OH)}_2$  - کلرو فرم  $\text{CHCl}_3$

استخراج کافئین از چای

۸۰ گرم چای خشک و ۸۰ گرم  $\text{Ca(OH)}_2$  را در یک بشر یک لیتری ریخته و با ۸۰ میلی لیتر آب حدود ۲۰ - ۱۵ دقیقه جوشانید. در یک بشر دیگر به وسیله قیف و کاغذ صافی آنرا صاف نمودیم و در همان حال ظرف محلول صاف شده را روی هیتر گذاشتیم تا محلول سرد نشود. سپس ۲۰ - ۱۵ میلی لیتر آب مقطر دیگر به آن اضافه نمودیم. سپس محلول را وارد یک قیف جدا کننده کردیم و ۱۵ - ۱۰ میلی لیتر کلروفرم  $\text{CHCl}_3$  به آن اضافه نمودیم درب قیف را بسته و مانند توضیحات در مقدمه آنرا هم زدیم و گاز حاصله را خارج نمودیم این کار را به دفعات انجام دادیم. حال قیف را به یک پایه به وسیله ی گیره متصل نمودیم و عمل استخراج را در مرحله اول انجام دادیم. توضیح آنکه در قیف جدا کننده محلول یا ماده ای که چگالی بیشتری دارد پایین تر و محلول یا ماده ای که چگالی کمتر دارد بالا قرار می گیرد که در این آزمایش محلول آلی که شامل کلروفرم و کافئین حل شده در آن می باشد پایین و محلول آبی که شامل آب مقطر و بقیه ی مواد شرکت کننده در واکنش در بالا قرار گرفته است. حال محلول کلروفرم و کافئین را در بشری که زیر قیف جدا کننده قرار دارد به دقت وارد می کنیم. برای اینکه دقت آزمایش بالا برود و کافئین بیشتری از چای استخراج کنیم ۱۵ - ۱۰ میلی لیتر دیگر  $\text{CHCl}_3$  دیگر به قیف افزوده و عمل همزدن را تکرار می کنیم و همچنین عمل استخراج را نیز دباره تکرار می کنیم حال بشر مورد نظر را روی هیتر حرارت می دهیم تا کلروفرم تبخیر شده و کافئین به صورت بلور زرد رنگ رسوب کند.



## عوامل ایجاد خطا:

- ۱- تمیز نبودن وسایل آزمایش
- ۲- کم دقتی در اندازه گیری مواد مورد نیاز
- ۳- وجود آب املاح دار درون وسایل شسته شده

## نتیجه آزمایش:

برای این آزمایش نتیجه می شود که یکی از مواد ی که می توان برای استخراج کافئین از چای مورد استفاده قرار گیرد کلرو فرم است زیرا فازی جدای از فاز آبی یعنی فاز آلی تشکیل می دهد و همچنین برای جداسازی دو فاز می بایست از قیف جداکننده استفاده نمود از این جهت که در قیف جدا کننده دو فاز آلی و آبی بر اساس تفاوت چگالی یکی در بالا که فاز آبی است و دارای چگالی کمتر و یکی در پایین که فاز آلی و دارای چگالی بیشتر است قرار می گیرند و می توان این دو فاز را از یکدیگر جدا نمود .

$$w_1 = w_0 (kv/kv+s)$$

$$W_n = w_0 (kv/kv+s)^n$$

$C_A$





## آزمایش شماره ۶ - ۵ - ۴ تقطیر ساده, تقطیر در خلا یا در فشار کم

### وتقطیر جز به جز الکل و آب

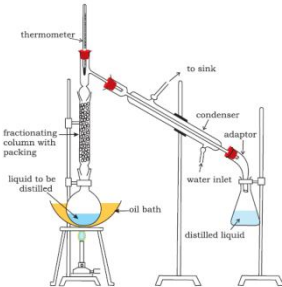


Fig.12.6 Fractional distillation. The vapours of lower boiling fraction reach the top of the column first, followed by vapours of higher boiling fractions.

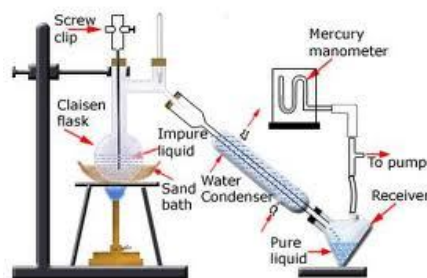
### تئوری آزمایش:

تقطیر به معنای جدا سازی مواد از هم, یکی از روش های جداسازی مخلوط مایعات از یکدیگر یا جداسازی یک جز غیر فرار از یک حلال فرار می باشد که عبارت است از دو عمل تبخیر و میعان. ابتدا با استفاده از حرارت حلال را بخار کرده و سپس با عمل سرد کردن حلال تبخیر شده را مایع می کنیم.

از انواع تقطیر می توان به تقطیر ساده, تقطیر با بخار آب, تقطیر جز به جز و تقطیر در خلا را نام برد.

**تقطیر ساده:** چنانچه مخلوطی از دو یا چند مایع داشته باشیم, که دمای جوش آنها به حد کافی با هم متفاوت باشند جدا کردن آن از طریق تقطیر ساده امکان پذیر می شود و ابتدا مایعی که نقطه جوش کمتری دارد تقطیر می شود و سپس اجزای دیگر مخلوط به تناسب نقطه جوش خود تقطیر می شوند.

حداقل اختلاف دما برای تقطیر ساده ۸۰ درجه سلسیوس می باشد.



### تقطیر در خلا یا در فشار کم

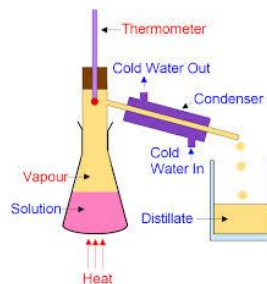
در بسیاری از موارد نقطه جوش در فشار معمولی زیاد است و ممکن است ترکیب مورد نظر در دمای پایین تر از نقطه جوش خود یا در دمای جوش, تجزیه یا اکسید شود و یا نوارایی یابد. در چنین مواردی دمای مایع را در فشار کمتر از فشار جو تقطیر می کنند. معمولاً ترکیباتی را که نقطه جوش آنها از حدود ۱۸۰ درجه بیشتر است در فشار کم تقطیر می کنند. برای کم کردن فشار معمولاً از خرطوم آبی یا پمپ روغنی استفاده می شود. مقدار کاهش فشار در هر یک از دو وسیله به مشخصات و



شرایط دستگاه تقطیر بستگی دارد. خرطوم آبی یا پمپ آبی معمولاً فشار را در حدود ۱۰ تا ۲۰ میلی لیتر جیوه پایین می آورد و پمپ روغنی فشاری در حدود پایین تر از یک میلی لیتر جیوه تامین می کند.

تقطیر جز به جز: چنانچه تفاوت نقطه جوش اجزای موجود در مخلوط زیاد نباشد، از طریق تقطیر ساده نمی توان اجزا را از هم جدا کرد. در این گونه وارد از روش تقطیر جز به جز استفاده می شود. در این روش یک ستون تقطیر بین بالن تقطیر و مبرد قرار می گیرد. در طول این ستون چندین بار عمل تبدیل بخار به مایع انجام می شود و در هر بار بخار از ترکیبی که دارای نقطه جوش کمتری است غنی می شود. وقتی بخار به انتهای ستون می رسد و وارد مبرد می شود فقط بخارات یک جز (نقطه جوش کمتر) است که در اثر معیان به قطرات مایع تبدیل شده است. طول و نوع ستون و در بعضی از موارد مواد پرکننده ای که برای داخل ستون لازم است، با در نظر گرفتن اجزای مخلوط انتخاب می شود.

برای جداسازی مخلوطی که دمای جوش آنها بین ۱۵ تا ۲۰ درجه از هم متفاوت است معمولاً از ستون ویگرو استفاده می شود. این ستون دارای دارای برجستگی های خار مانند شیشه ای است که سطح تماس زیادی را به وجود می آورد. سطح زیاد سبب بیشتر شدن مراحل بخار میعان میشود.



### سیستم تقطیر جز به جز

شرح آزمایش (جداسازی آب از اتانول)

وسایل مورد نیاز بالن تقطیر ، سه راه ، سرد کننده (مبرد) ، ترمومتر ، لوله لاستیکی ، استوانه مدرج شوف بالن

مواد لازم: آب ۱۵ میلی لیتر ، اتانول ۱۰ میلی لیتر

روش کار : طبق دستور العمل سیستمی شبیه سیستم بالا سوار می کنیم برای این کار مخلوط آب و اتانول را درون بالن حجمی ریخته و درون شوف بالن قرار داده و ستون تقطیر را به آن متصل می کنیم اما ما بخاطر نبود ستون تقطیر از یک مبرد



دیگر استفاده کردیم (به این مبرد آب وصل نکردیم) مبرد را با گیره به پایه متصل کرده و سه راه را روی آن سوار می کنیم. ترمومتر را با کمک یک چو پنبه به قسمت بالای سه راه گذاشته و قسمت میانی سه راه را به مبرد وصل کرده ولوله های ورودی و خروجی آب را بدان متصل می نمایم حال شیر آب را باز کرده و شوف بالن را روشن می کنیم. درجه اولیه شوف بالن ۷۶ درجه سلسیوس ما زیر مبرد یک استوانه ۱۰ میلی قرار دادیم البته با کمک جک آزمایشگاهی چون اختلاف ارتفاع مبرد با استوانه زیاد بود. حال مخلوطمان شروع به گرم شدن می کند، ابتدا ترمومتر ما دمای ۱۷ را نشان می دهد که همان دمای آزمایشگاه می باشد سپس با گرم تر شدن مایع ترمومتر دمای بیشتری را نشان داده و عمل تقطیر آرام آرام شروع شده و بخارات به طرف بالا می رود. بعد از مدتی ترمومتر روی عدد ۷۳ ثابت شد که همان دمای جوش اتانول را نشان میداد، بخارات اتانول وارد مبرد شده و عمل میعان انجام می شد و قطرات اتانول وارد استوانه مدرج می شد.

پس از مدتی وقتی که استوانه ۱۰ میلی پر شد استوانه را برداشته و یک استوانه بزرگتر برای تقطیر آب زیر مبرد قرار دادیم در این حین درجه ترمومتر کاهش می یابد زیرا اتانول مخلوط تمام شده استو برای تقطیر آب باید درجه شوف بالن را افزایش داد، دوباره جیوه ترمومتر بالا رفته و روی ۹۳ درجه می ایستد و آب تقطیر می شود این کار تا اتمام آب انجام می شود. بخاطر کاهش بخارات دمای ترمومتر نیز کاهش می یابد لازم بذکر است که قبل بخار شدن کل مایع باید شوف بالن را خاموش کرد.

حال ما ۱۰ میلی اتانول و ۱۵ میلی لیتر آب تقطیر شده در اختیار داریم و آزمایش به پایان رسیده است.

### سوالات :

در عمل تقطیر چرا جریان آب در سرد کننده باید از پایین به بالا و انتهای مبرد به ابتدای آن باشد؟ توضیح دهید؟

زیرا شیب مبرد به طرف پایین است و اگر آب از بالا بطرف پایین حرکت کند بخاطر شیب زمان کافی برای سرد کردن مبرد نخواهد داشت.

در عمل تقطیر چرا درجه ترمومتر مدتی ثابت می ماند؟ این دما معرف چیست؟ بنظر شما چه مدت دمای ترمومتر ثابت می ماند؟

چون به نقطه جوش ماده ای می رسد که دمای جوشش کمتر است و در نقطه جوش، دما دیگر تغییر نمی کند. این دما معرف نقطه جوش است. دمای ترمومتر تا زمانی که درون بالن هنوز ماده ای در حال جوش وجود دارد تغییر نمی کند.



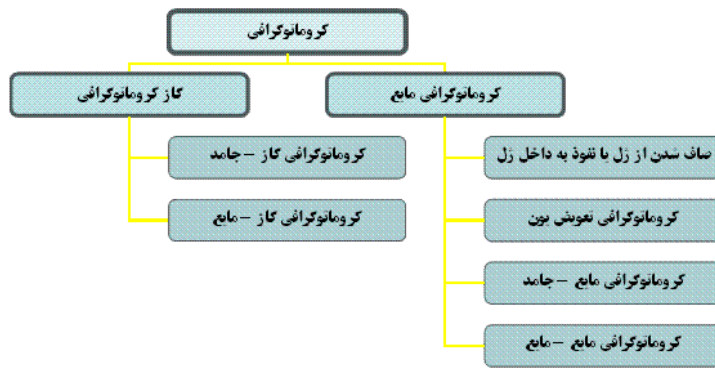
## کروماتوگرافی

## آزمایش شماره ۷

کروماتوگرافی تکنیک ساده ای برای جداسازی و خالص سازی ترکیبات مختلف است که کاربرد فوق العاده ای دارد. کروماتوگرافی بر اصول کل پخش فاز بنیان نهاده شده است. به طور خلاصه، در این روش جریان یک فاز از کنار (یا از داخل) فاز ساکنی می گذرد و در این حال فاز ساکن اجزای آن را به طور انتخابی خارج می کند. این خروج یک عمل تعادلی است و مولکول های اجزاء دوباره داخل فاز متحرک می شوند. هنگامی که ثابت پخش دو یا چند جزء در این دو فاز با هم متفاوت باشند، اجزای مربوط در فاز متحرک می شوند. هنگامی که ثابت پخش دو یا چند جزء در این دو فاز با هم متفاوت باشند، اجزای مربوط در فاز متحرک از هم تفکیک می شوند به طور ساده می توان گفت که هر چه فاز ساکن یک جزء را محکم تر نگهدارد، در صد مولکول های جزئی که بی حرکت نگه داشته شده بیشتر می شود. جزء دیگری که با شدت کمتر نگه داشته می شود نسبت به جزء اول در فاز متحرک درصد مولکولی بیشتری خواهد داشت. بنابراین به طور متوسط مولکول های جزئی که با شدت کمتر نگه داشته می شوند، نسبت به مولکول های دیگر با سرعت بیشتری از روی فاز ساکن می گذرند (در جهت جریان) و در نتیجه اجزای مربوط به قسمت های مختلف فاز ساکن (باند ها) منتقل

می شوند. فاصله باند ها به طور خطی به مسافتی که در ستون طی می شود بستگی دارد. به طور کلی هر چه مسافت طی شده بیشتر باشد، فاصله باند ها زیادتر خواهد شد. یادآور می شود که اجزای مخلوط باید ضرایب پخش متفاوتی داشته باشند تا بتوان آن ها را به کمک پخش فاز تفکیک کرد. در صورتی که این ضرایب به هم نزدیک باشند، اجزای مربوط فقط به طور جزئی به باندهای جداگانه تفکیک می شوند. البته می توان طول مسیر را زیاد کرد و به اجزاء فرصت داد تا بیشتر از هم جدا شوند.

با توجه به نوع فاز متحرک می توان کروماتوگرافی را به ۲ دسته کلی: گاز کروماتوگرافی و کروماتوگرافی مایع تقسیم کرد.



۴ نوع مهم کروماتوگرافی وجود دارد که بر اصول توصیف شده بالا متکی هستند

این انواع عبارتند از:

- 1) کروماتوگرافی گازی (کروماتوگرافی تفکیکی گاز مایع)
- 2) کروماتوگرافی ستون
- 3) کروماتوگرافی لایه نازک (TLC)
- 4) کروماتوگرافی کاغذی

### کروماتوگرافی ستونی

در کروماتوگرافی ستونی جسم بین فاز های مایع و جامد پخش می شود. فاز ساکن جسم جامدی است و این جسم اجزای مایعی را که از آن می گذرد به طور انتخابی در سطح خود جذب می کند و آن ها را جدا می کند. اثر هایی که باعث جذب سطحی می شوند همان اثر هایی هستند که موجب جذب در مولکول ها می شوند. این اثر ها عبارتند از: جاذبه الکترواستاتیکی، ایجاد کمپلکس، پیوند هیدروژنی، نیروی واندروالس و غیره .

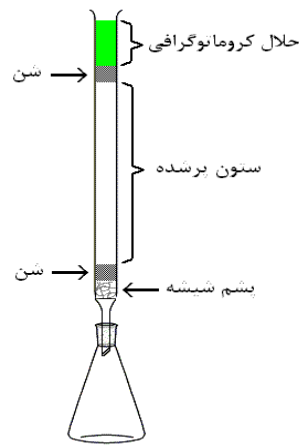
برای جدا کردن یک مخلوط با کروماتوگرافی ستونی، ستون را با جسم جامد فعالی (فاز ساکن) مانند آلومینا یا سیلیکاژل پر می کنند و کمی از نمونه مایع را روی آن می گذارند. نمونه ابتدا در بالای ستون جذب می شود. سپس حلال استخراج کننده ای را در داخل ستون جریان می دهند. این فاز مایع متحرک، اجزای مخلوط را با خود می برد. ولی به علت نیروی جاذبه انتخابی فاز جامد، اجزای مربوط می توانند با سرعت های مختلفی به طرف پایین ستون حرکت کنند. ترکیبی که با نیروی کمتری جذب فاز ساکن شود سریعتر خارج می شود زیرا که درصد مولکولی آن در فاز متحرک از ترکیبی که با نیروی زیادتری جذب فاز ساکن می شود. اجزای تفکیک شده را می توان مجدداً به دو روش به دست آورد.



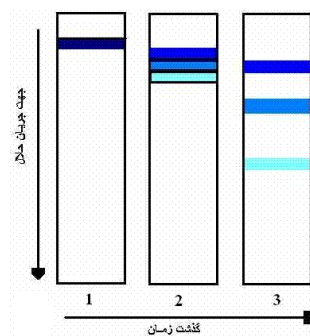
(1) مواد جامد ستون را می توان خارج کرد و قسمتی از آن را که حاوی باند مورد نظر است برید و با حلال مناسب استخراج کرد .

(2) چون باند ها با زمان های مختلفی خارج می شوند می توان آنقدر حلال را از ستون عبور داد تا باند ها از انتهای آن خارج شوند و در ظرف جداگانه ای بریزند معمولاً روش دوم کاربرد بیشتری دارد .

در مورد اجسام رنگین می توان باند هایی را که به طرف پایین ستون می آیند مستقیماً مشاهده کرد



اما در مورد اجسام بی رنگ نمی توان تغییرات را مستقیماً مشاهده کرد. با این حال بسیاری از اجسام در هنگام تابش نور فرابنفش (ultraviolet) یا به اختصار UV ، فلوئورسانس پیدا می کنند و در چنین مواردی از این خاصیت جهت مشاهده باند ها استفاده می شود.



معمولاً برای پی بردن به جریان عمل کروماتوگرافی ستونی حجم های کوچک و ثابتی (مثلاً ۲۵ میلی لیتر) از محلول استخراج شده را جمع آوری می کنند. سپس حلال آن ها را تبخیر می کنند تا بینند جسمی در آن ها وجود دارد یا خیر. گرچه ممکن است یک جسم در چند ظرف پخش شود، ولی اگر حجم هر جزء نسبتاً کم گرفته شود (مثلاً کمتر از ۱۰٪ حجم ستون)



معمولاً باند های مختلف در ظروف مختلف جمع آوری می شوند. روش دیگری که برای پی بردن به وضع تفکیک مناسب است آن است که محلول استخراج شده در فاصله زمانی مختلف با کروماتوگرافی لایه نازک مورد بررسی قرار گیرد.

تعدادی از جاذب های جامدی که عموماً مصرف می شوند عبارتند از: آلومینا، سیلیکاژل، فلورسین، زغال چوب، منیزیم اکسید، کلسیم کربنات، نشاسته و شکر. معمولاً شیمیدان های آلی از آلومینا، سیلیکاژل و فلورسین بیشتر استفاده می کنند.

آلومینا ( $Al_2O_3$ ) ترکیب قطبی بسیار فعالی است که قدرت جذب زیادی دارد و به سه صورت موجود است: خنثی، شسته شده با اسید و شسته شده با باز. آلومینای بازی برای ترکیب های اسیدی و آلومینای اسیدی برای ترکیب های بازی قدرت تفکیک خوبی نشان می دهد. در ترکیب هایی که به شرایط اسیدی و بازی حساسیت دارند و واکنش شیمیایی دارند باید از آلومینای خنثی استفاده کرد. آلومینا با قطبیت زیادی که دارد ترکیب های قطبی را به شدت جذب می کند و در نتیجه ممکن است استخراج آن ها از ستون را مشکل کند. فعالیت (قدرت جذب) آلومینا را می توان با افزایش کمی آب کاهش داد، درجه فعالیت آلومینا با درصد وزنی آب موجود مشخص می شود.

سیلیکا ژل و فلورسین هم قطبی هستند ولی قطبیت آن ها از آلومینا کمتر است

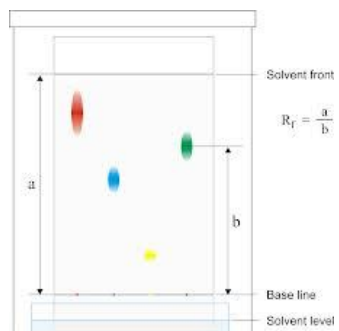
برای اینکه جاذب های جامد نیروی مؤثرتری داشته باشند، باید اندازه ذرات آن ها یکنواخت و سطح مخصوص آن ها زیاد باشد. چنین سطحی باعث تسریع تعادل جسم در دو فاز می شود. این حالت در ایجاد باند های باریک اهمیت دارد.

در تعیین شرایط یک تجربه کروماتوگرافی باید به ماهیت فاز مایع و حلال

مصرفی توجه کرد. نیز می تواند در جسم جامد جذب شود و به این وسیله برای جذب مواضع جذبی که در سطح جامد وجود دارند، با جسم حل شده رقابت کند. چنانچه حلال قطبی تر باشد و شدیدتر از اجزای مخلوط جذب شود، تقریباً تمام اجزاء در فاز مایع متحرک باقی می مانند و تفکیکی که در ضمن تجربه صورت می گیرد ناچیز خواهد بود. در نتیجه برای این که تفکیک خوب انجام شود باید قطبیت حلال استخراجی به طور قابل ملاحظه ای کمتر از اجزای مخلوط باشد. به علاوه باید اجزای مخلوط در حلال حل شوند، زیرا در غیر این صورت اجزا به طور دائم در فاز ساکن ستون جذب می شوند و در آن باقی می مانند. قدرت استخراجی حلال های مختلف (یعنی توانایی آن ها در انتقال یک جسم معین به پایین ستون) به ترتیب زیر از بالا به پایین زیاد می شود

1- هگزان

2- کرین تتراکلرید



3- تولوئن

4- بنزن

5- دی متیل کلروکتان

6 - کلروفورم

7- اتیل اتر

8- اتیل استات

9- استون

10- پروپانول

11 - اتانول

12 -متانول

13- آب





در یک کروماتوگرافی ستونی ساده نمونه را در بالای ستون می گذارند و در طول تفکیک از حلال واحدی استفاده می کنند. بهترین حلال انتخابی، حلالی است که بیشترین فاصله را در باند ها ایجاد کند. چون احتمالاً بهترین حلال در اثر تجربه بدست می آید، گاهی راحتتر است که در انتخاب حلال برای کروماتوگرافی ستونی از روش کروماتوگرافی لایه نازک استفاده شود.

تعداد زیادی از تجربه های کروماتوگرافی لایه نازک را می توان با استفاده از حلال های مختلف، در زمان نسبتاً کوتاهی انجام داد. معمولاً بهترین حلال یا مخلوط حلالی که به این روش به دست می آید برای کروماتوگرافی ستونی مناسب است.

معمولاً از روشی که به استخراج تدریجی (یا جزء به جزء) معروف است استفاده می شود. در این روش برای ظهور کروماتوگرام از یک سری حلال هایی استفاده می کنند که قطبیت آن ها مرتباً رو به افزایش می رود. در شروع با یک حلال غیر قطبی (معمولاً هگزان) ممکن است یک باند به طرف پایین ستون حرکت کند و از آن خارج شود و در این حال باند های دیگر در نزدیکی ابتدای ستون باقی بمانند. سپس حلالی که قطبیت آن اندکی بیشتر است به کار می برند.

در حالت ایده آل باید یک باند دیگر خارج شود و در این حال بقیه باند ها در عقب آن باقی بمانند. چنانچه قطبیت حلال یکباره زیاد بالا رود، ممکن است تمام باند هایی که باقی مانده اند یکباره از ستون خارج شوند. بنابراین باید در هر مرحله قطبیت حلال به مقدار کم و با قاعده معینی افزایش یابد. بهترین راه انجام این کار آن است که از حلال های مخلوط استفاده شود و تعویض کامل حلال چندان مناسب نیست.

ستونی که خوب پر نشود اجزاء را هم خوب تفکیک نمی کند. جسم پر شده باید همگن باشد و در آن هوای محبوس یا حباب بخار وجود نداشته باشد.

### آماده سازی ستون کروماتوگرافی

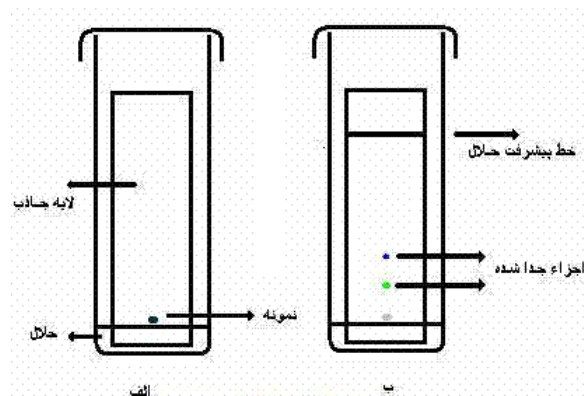
یک بورت ۵۰ میلی لیتری را در حالت عمودی به گیره ای ببندید. شیر بورت باید بسته باشد و چرب نشده باشد. بورت را با اتر نفت (۶۰-۳۰ درجه) تا نزدیکی درجه ۴۰ میلی لیتری آن پر کنید و به کمک یک لوله شیشه ای طویل کمی پشم شیشه را به انتهای بورت فرو برید. درون بروت به حدی شن بریزید تا ارتفاع ۱ سانتی متری بالای پشم شیشه را بپوشاند. پس از خروج کامل حباب های درون شن، در حالی که به آرامی به دیواره بورت ضربه می زنید ۱۵ گرم آلومینا را به داخل لوله بریزید. هنگام پایین رفتن آلومینا ستون را تکان دهید. این اعمال به پر شدن یکنواخت ستون کمک می کنند. جدار داخلی بورت را که آلومینا به آن چسبیده با اتر نفت اضافی بشویید. برای محافظت از آلومینای پر شده یک لایه ۱ سانتی متری شن



در بالای ستون قرار دهید. شیر بورت را باز کنید و بگذارید تا حلال خارج شود و درست به بالای لایه شن بالایی برسد. حال ستون برای قرار دادن نمونه مخلوط مورد تفکیک آماده است.

### کروماتوگرافی لایه نازک (Thin Layer Chromatography (TLC)

کروماتوگرافی لایه نازک یک روش مقدماتی برای آنالیز سریع کیفی است. کروماتوگرافی لایه نازک نوعی کروماتوگرافی جذبی جامد - مایع است و اصول آن مانند کروماتوگرافی ستونی است. ولی در این مورد جسم جاذب جامد را به صورت یک لایه نازک در روی یک قطعه شیشه یا پلاستیک محکم پخش می کنند. یک قطره از محلول نمونه یا مجهول را در نزدیکی لبه صفحه می گذارند و صفحه را همراه مقدار کافی از حلال استخراج کننده در ظرفی قرار می دهند. مقدار حلال باید آنقدر باشد که فقط به سطح زیر لکه برسد (شکل الف). حلال به طرف بالای صفحه می رود و اجزاء مخلوط را با سرعت های متفاوت با خود می برد. در نتیجه ممکن است تعدادی لکه روی صفحه ظاهر شود. این لکه ها روی یک خط عمود بر سطح حلال ظرف قرار می گیرند .



این روش کروماتوگرافی بسیار آسان است و به سرعت هم انجام می شود. این روش برای تفکیک اجزاء یک مخلوط بسیار مفید است و همچنین می توان از آن برای تعیین بهترین حلال استخراج کننده جهت کروماتوگرافی ستونی استفاده کرد.

در TLC می توان از همان مواد جامد که در کروماتوگرافی ستونی استفاده می شود استفاده کرد و در این میان سیلیکا و آلومینا بیشتر به کار می رود. معمولاً جسم جاذب را با مقدار کمی از ماده نگهدارنده مانند گچ شکسته بندی، کلسیم سولفات و یا نشاسته مخلوط می کنند تا جسم جاذب چسبندگی لازم را پیدا کند و به صفحه بچسبد. صفحه ها را می توان قبل از مصرف تهیه کرد و یا از ورقه های پلاستیکی آماده که در بازار موجود است استفاده نمود.



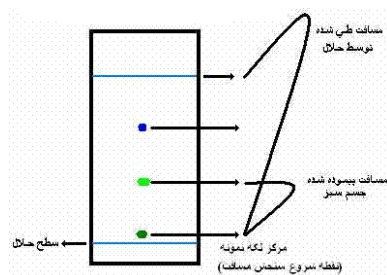
یکی از مزایای مشخص TLC آن است که احتیاج به مقدار بسیار کمی از نمونه دارد. در بعضی موارد می توان تا مقدار ۹ الی ۱۰ گرم را تشخیص داد. اما ممکن است اندازه نمونه تا ۵۰۰ میکرو گرم برسد. در نمونه های زیاد می توان از تجربه های تهیه ای استفاده کرد. در این تجربه ها لکه های مختلف را می تراشند و با یک حلال مناسب می شویند (استخراج می کنند). و برای شناسایی از طریق طیف سنجی) به کار می برند.

تشخیص لکه های رنگین در روی کروماتوگرام آسان است و برای تعیین محل لکه های اجسام بی رنگ روش های متعددی وجود دارد. برای مثال می توان با تابش نور ماوراء بنفش به صفحه محل لکه، ترکیب هایی را که خاصیت فلورسانس دارند مشخص کرد. به روش دیگر می توان جسم جاذب را با ماده فلورسانس دار بی اثر دیگری مخلوط کرد. هنگامی که نور ماوراء بنفش به این صفحه بتابد، لکه اجسامی که نور ماورای بنفش را جذب می کنند ولی خاصیت فلورسانس ندارند در زمینه فلورسانس دار صفحه به صورت تیره رنگ ظاهر می شوند.

در بسیاری موارد دیگر، از معرف های آشکار ساز دیگری استفاده می کنند. این معرف ها را می توان بر روی کروماتوگرام پاشید و لکه ها را ظاهر کرد. سولفوریک اسید، که بسیاری از ترکیبات آلی را به ذغال تبدیل می کند و محلول پتاسیم پرمنگنات نمونه هایی از معرف های آشکار ساز هستند که به این روش مصرف می شوند. ید نیز معرف آشکار ساز دیگری است که مصرف می شود. در این مورد صفحه را در ظرفی می گذارند که محیط آن از بخار ید اشباع باشد. بسیاری از ترکیبات آلی ید را جذب می کنند و لکه آن ها روی کروماتوگرام رنگین (معمولاً قهوه ای) می شود.

در شرایط معین سرعت حرکت ترکیب نسبت به سرعت پیشرفت حلال (Rf) خاصیت مشخصی از ترکیب است. برای تعیین این مقدار مسافتی را که جسم از خط شروع تا وسط لکه را طی کرده است اندازه می گیرند و آن را به مسافتی که حلال پیموده تقسیم می کنند. این مسافت را با خط شروع یکسانی می سنجند.

### تفکیک مواد رنگی برگ سبز

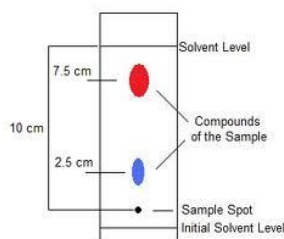




چند میلی لیتر از مخلوط ۲ به یک اتر نفت و اتانول را همراه با چند برگ سبز در هاونی بگذارید و برگ ها را با دسته هاون له کنید. مایع بدست آمده را به یک قیف جدا کننده منتقل کنید و همان حجم آب مقطر به آن اضافه کنید و تکان دهید. فاز آبی پایینی را دور بریزید. این شستشو را دو بار انجام دهید و هر بار فاز آبی را دور بریزید. و آب تازه اضافه کنید. لایه آلی (بالایی) را به ارلن کوچکی منتقل کنید و به آن ۲ گرم سدیم سولفات بدون آب اضافه کنید. (برای آب گیری)

یک نوار ۱۰ سانتی از ورقه کروماتوگرام سیلیکاژل تهیه کنید و یک لکه ۱ الی ۲ میلی متری از محلول ماده رنگی را طوری بر روی صفحه قرار دهید که حدود ۱.۵ سانتی متر از انتهای آن فاصله داشته باشد (برای گذاشتن لکه از لوله موپین تمیز استفاده کنید). صبر کنید تا لکه خشک شود. برای جداسازی از حلال بنزن - استون با نسبت ۷ - ۳ (حجمی) مطابق توضیحات بالا استفاده کنید.

ممکن است تا هشت لکه رنگین مشاهده شود. این لکه ها به ترتیب کاهش مقدار  $R_f$  عبارتند از کاروتن ها (دو لکه نارنجی)، کلروفیل (a آبی - سبز، کلروفیل b سبز) و زانتوفیل ها (چهار لکه زرد).



### کروماتوگرافی کاغذی

از نظر طبقه بندی کروماتوگرافی کاغذی در دسته (Liquid-liquid chromatography) یا به اختصار LLC قرار می گیرد. زیرا در این روش فاز ثابت در واقع آب است که بر روی فیبر های سلولزی نگهداشته شده است. در ساختار کاغذ این فیبر های سلولزی غالباً به طور غیر منظم در کنار هم قرار دارند و این طرز قرار گرفتن فیبرها، ساختمان کاغذ را متخلخل و دارای خاصیت موپینگی زیادی می کند. این خاصیت موپینگی است که صعود حلال های قطبی و به ویژه آب را امکان پذیر می سازد.

**روش آزمایش** یک قطره از مخلوط ناشناخته با غلظت تقریبی ۱ درصد را در نزدیک انتهای قطعه ای کاغذ کروماتوگرافی قرار داده و بعد از خشک کردن آن را طوری داخل تانک حاوی حلال قرار دهید که فقط انتهای صفحه درون حلال قرار گیرد لکه نباید در حلال وارد شود در این حالت حلال از کاغذ بالا رفته و جسم حل شده را با خود بالا می برد. صفحه را از تانک خارج کرده و سپس خشک کنید و سپس مقادیر  $R_f$  را اندازه گیری کرد.

Rf=

O مبدأ =

SF = جبهه حلال

S ماده =

X = فاصله ای که ماده از مبدأ طی کرده است

Y = فاصله ای که حلال از مبدأ طی کرده است.

حلال هایی که در کروماتوگرافی لایه نازک و نیز کاغذی استفاده می شوند، قدرت شویندگی و نیز پلاریته متفاوتی دارند. ترتیب قدرت شویندگی و نیز قطبیت برخی حلال های رایج به صورت زیر است

هگزان < تتراکلریدکربن < تولوئن < بنزن < دی اتیل اتر < کلروفرم < اتیل استات < استون < اتانول < متانول

