

## SEPARAZIONE DI SOSTANZE ORGANICHE IN MISCELA

### PRE LAB

#### Introduzione

Lo scopo dell'esperienza è la separazione di una miscela a due componenti per estrazione liquido-liquido, seguita dall'analisi cromatografica dell'efficienza di estrazione. Nello specifico, lo scopo è quello di separare una miscela di cumarina e acido benzoico.

L'estrazione liquido-liquido sfrutta la differente solubilità di una sostanza tra due solventi immiscibili, in genere acqua ed un solvente organico. In realtà, entrambi i composti oggetto di questa esperienza hanno un coefficiente di ripartizione a favore del solvente organico. È possibile, però, sfruttare le diverse proprietà acido-base dei due composti per favorirne la separazione. Infatti, poiché l'acido benzoico, a differenza della cumarina, ha un gruppo ionizzabile ( $pK_a=4,20$ ), è possibile ottenerne il suo sale, che avrà un coefficiente di ripartizione a favore dell'acqua. In questo modo sarà possibile separarlo dalla cumarina. Una volta separate le due fasi è possibile recuperare l'acido di partenza acidificando la fase acquosa con un acido forte e ristruaendola con il solvente organico. Al fine di valutare l'efficienza di separazione, si farà ricorso all'analisi cromatografica dei campioni ottenuti.

#### Materiali e metodi

**Materiali e attrezzature necessari (tabelle dispensa)**

**Tabella dei reagenti (vedi guida)**

#### Procedura:

##### Preparazione della miscela di acido benzoico e cumarina

- Pesare circa 100 mg di cumarina e acido benzoico e unirli in una beuta da 50 mL
- Solubilizzare in 10 mL di diclorometano
- Pelevare una piccola quantità di soluzione e applicarlo su una lastra cromatografica (M)

##### Preparazione di una soluzione di NaOH 2M

- Pesare, in una beuta da 50 mL, la quantità di NaOH necessaria per preparare una soluzione circa 2M ( $V=15$  mL).
- Aggiungere la quantità di acqua necessaria e favorire la solubilizzazione dell'idrossido di sodio e poi portare a volume

##### Calcolo quantità NaOH

$$M=nV$$

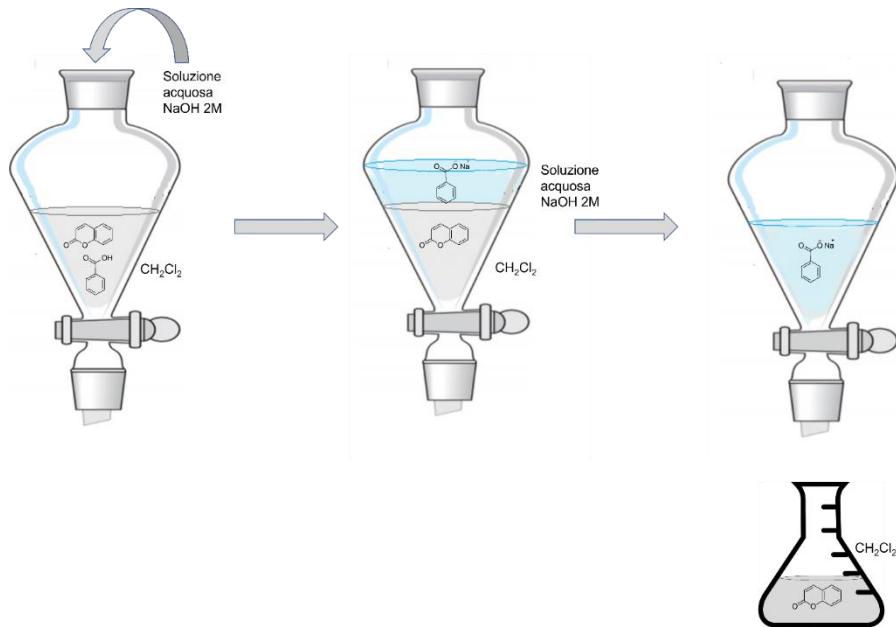
$$n=2,0 \text{ mol L}^{-1} \times 0,015 \text{ L}=0,030 \text{ mol}$$

$$m=n \times PM=0,030 \text{ mol} \times 40 \text{ g/mol}=1,2 \text{ g}$$

##### Separazione dell'acido benzoico dalla cumarina

- Versare la soluzione di acido benzoico e cumarina in diclorometano in un imbuto separatore.
- Sciacquare il contenitore della miscela con 5 mL di diclorometano, che andranno versati nell'imbuto separatore.
- Per estrarre il componente acido dalla miscela, dibattere la soluzione in diclorometano con 15 mL della soluzione di NaOH
- Aspettare che le due fasi siano ben separate e versare la fase in diclorometano attraverso il rubinetto.

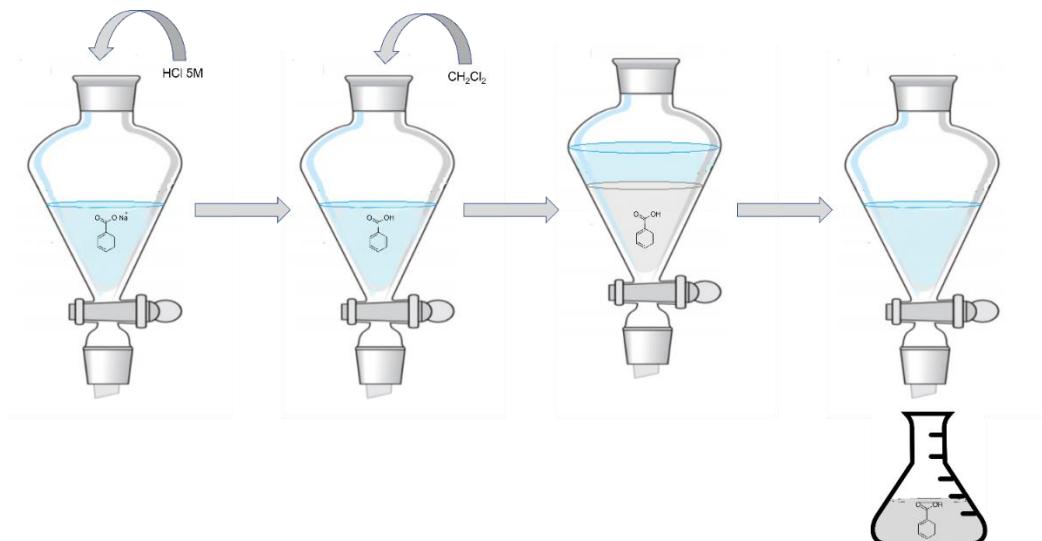
- La fase acquosa viene riestratta con altri 10 mL di diclorometano
- Dopo che le fasi si sono separate per bene, aggiungere la fase inferiore nella beuta contenente la fase organica della prima estrazione.
- Nella soluzione in diclorometano si aggiunge solfato di sodio anidro.
- Filtrare la soluzione in una beuta precedentemente tarata



**Schema 1:** separazione dell'acido benzoico dalla cumarina

### Estrazione dell'acido benzoico dalla fase acquosa

- Acidificare l'estratto alcalino con acido cloridrico 5M, aggiungendolo con l'ausilio di una pipetta Pasteur fino al punto in cui si osserva la formazione di un precipitato
- Controllare che la soluzione sia acida con l'ausilio di una cartina indicatrice.
- Aggiungere 15 mL di diclorometano e dibattere la soluzione.
- Aspettare che le due fasi siano ben separate e versare la fase in diclorometano attraverso il rubinetto.
- Aggiungere sodio solfato anidro alla beuta e poi, dopo 5 minuti, filtrare in una beuta tarata.



**Schema 2:** Estrazione dell'acido benzoico dalla fase acquosa

### **Analisi della efficienza di separazione mediante TLC**

- Preparare 10 mL del sistema eluente acetato di etile/esano 2:8 e versare il sistema eluente in una camera chromatografica.
- Applicare le due fasi in diclorometano sottoforma di piccoli punti a destra e a sinistra della miscela precedentemente caricata
- Porre in sviluppo la lastra. Quando il solvente avrà raggiunto una distanza di circa 1.0 cm dal bordo superiore della lastra estrarre, asciugare ed esaminare in luce UV.
- Valutare l'efficienza di separazione.

## **IN LAB**

### **Procedura sperimentale e osservazioni**

- Pesati 101,3 mg di cumarina e 98,9 mg di acido benzoico
- Solubilizzati in 10 mL di diclorometano
- Pesati 1,25 g di NaOH e solubilizzati in acqua fino ad ottenere 15 mL di soluzione
- Le due soluzioni vengono versate in un imbuto separatore, cui si aggiunge anche il solvente usato per sciacquare la beuta, e dibattute per 3 volte.
- Si osserva la separazione delle fasi. La fase acquosa appare di colore rosa.
- Si raccoglie la fase inferiore in una beuta e si aggiungono 15 mL di diclorometano. Si dibeate nuovamente e si aspetta la separazione delle fasi, raccogliendo quella inferiore nella stessa beuta precedentemente utilizzata.
- Si acidifica la soluzione acquosa con HCl 5M. I 10 mL inizialmente prelevati non sono sufficienti, quindi si continua ad aggiungere fino ad osservare la formazione di un precipitato (Fig. 1). Si osserva anche viraggio del colore (da rosa a incolore).
- Si controlla il pH con una cartina tornasole: acido.
- A questo punto si riestrae con 15 mL di diclorometano.
- La fase organica si raccoglie in una seconda beuta.
- Ad entrambe le beute si aggiunge sodio solfato anidro e intanto si tarano altre due beute su bilancia analitica.

Beuta A=26,4567 g  
Beuta C= 28,3456 g

- Dopo circa 5 minuti i campioni sono filtrati e raccolti in queste due beute (A= acido benzoico; C= cumarina)
- Questi campioni vengono caricati su TLC ed intanto si prepara il sistema eluente acetato di etile/esano 2:8.
- Si pone la lastra in eluzione. Quando il solvente è arrivato ad un centimetro dal bordo superiore si estra, asciuga e si osserva agli UV.
- Si osservano tre macchie: una per ciascun campione, tutte ad un'altezza molto simile, anche se l'aspetto della cumarina si distingue rispetto a quello della miscela e dell'acido benzoico (Fig. 2).

Calcolo degli Rf (=distanza percorsa dall'analita/distanza percorsa dal solvente)

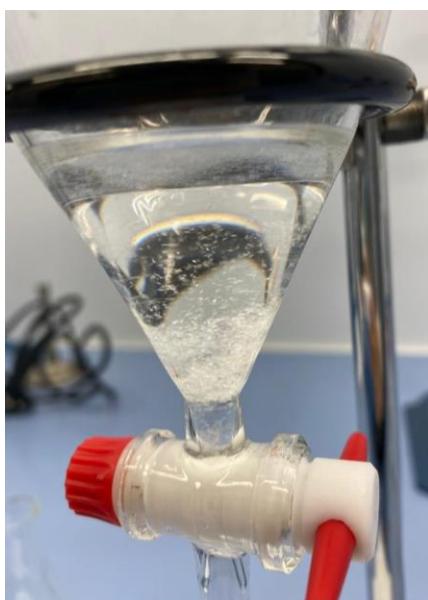
Rf (acido benzoico)=  $2,5/8,0=0,32$   
Rf (cumarina)=  $2,4/8,0=0,30$   
Rf (miscela) =  $2,5/8,0=0,32$

## **POST LAB**

### **Risultati e discussione**

Dopo aver preparato una miscela circa 1:1 di acido benzoico e cumarina in diclorometano, si è proceduto con la separazione liquido/liquido utilizzando una soluzione acquosa di idrossido di sodio (2M circa). La soluzione acquosa ha assunto, inaspettatamente, una colorazione rosa chiaro. Si è ipotizzato che la

vetreria fosse sporca di fenolftaleina. In ogni caso, la soluzione acquosa è stata estratta due volte con diclorometano. La fase organica è stata raccolta in una beuta e dovrebbe ora contenere solo cumarina, dato che l'acido benzoico è presente come benzoato di sodio e sarà quindi presente nella fase acquosa. A questo punto, la fase acquosa è stata acidificata. La quantità di acido da utilizzare è stata leggermente superiore al previsto. Questo suggerisce che probabilmente la nostra soluzione di idrossido di sodio era più concentrata del dovuto, non è chiaro se per un errore nella pesata o nel volume di acqua aggiunto. Dopo l'aggiunta dell'opportuna quantità di HCl 5 M (circa 12 mL), si è osservata la formazione di un precipitato bianco (Fig.1), indice della protonazione del benzoato per dare acido benzoico, poco solubile in acqua. Si è anche osservato un viraggio di colore (da rosa chiaro ad incolore), a conferma della presenza di fenolftaleina, che però non andrà ad inficiare la separazione dei due componenti.



**Fig.1:** precipitato formato a seguito dell'acidificazione della soluzione acquosa

A questo punto, dopo aver controllato il pH, la soluzione acquosa è stata riestratta con diclorometano, al fine di ottenere l'acido benzoico nel solvente organico. Dopo aver aggiunto sodio solfato anidro alle due fasi organiche, allo scopo di anidrificare le soluzioni, queste ultime sono state filtrate in due beute appositamente tarate (Tabella 1) e si è proceduto con la valutazione dell'efficienza di separazione mediante TLC. Su lastra sono state caricate le due soluzioni e la miscela iniziale (quest'ultima era stata caricata prima della separazione liquido-liquido). Il sistema eluente era costituito da una soluzione acetato di etile/esano 2:8. Dall'analisi TLC non è stato però possibile ottenere le informazioni desiderate.

**Tabella 1: campioni ottenuti**

Sigla	Contenuto	Tara (g)
A	Acido benzoico	xx,xxxx
C	Cumarina	xx,xxxx

Infatti, a seguito della visualizzazione delle bande in luce UV, si è evinto che i due componenti della miscela non erano separati, dato che per la miscela si evidenziava, inaspettatamente, la presenza di un'unica banda.

I fattori di ritenzione ( $R_f$ ) sono stati calcolati secondo la seguente formula:

$$Rf(A) = \frac{\text{distanza percorsa dal composto A (a)}}{\text{distanza percorsa dal fronte del solvente (s)}}$$

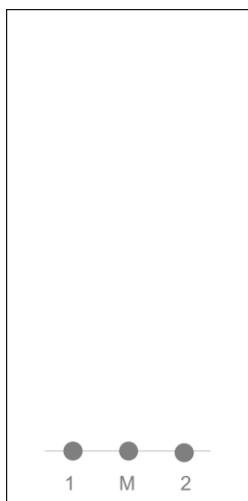
Abbiamo escluso la possibilità di un errore nella preparazione della miscela, perché i valori di Rf erano molto simili anche per i singoli componenti. Infatti, i valori di Rf calcolati (Tabella 2), erano molto simili per tutte le bande. Si ipotizza, quindi, che il sistema eluente non sia ottimale per la separazione di questi composti su gel di silice.

**Tabella 2: Dati relativi alla TLC; distanze percorse e valori di Rf (retention factor)**

Campione	Distanza (cm)	Distanza solvente (cm)	Rf*
<b>Acido benzoico</b>	2,5	8,0	0,32
<b>Cumarina</b>	2,4	8,0	0,30
<b>Miscela</b>	2,5	8,0	0,32

\*Rf= distanza percorsa dall'analita/distanza percorsa dal solvente

L'unica differenza significativa osservata tra i diversi campioni era relativa all'aspetto delle macchie su TLC (Fig. 2): quella della cumarina era molto più compatta, a differenza di quelle dell'acido benzoico e della miscela che erano "strisciate". Si ipotizza che questo effetto sia dovuto ad interazioni più forti dell'acido benzoico con i gruppi silanolici. Questo è giustificato dalla sua struttura e, in particolare, dalla presenza del gruppo -COOH.



**Fig.2 :** TLC su gel di silice; soluzione eluente acetato di etile/esano 2:8. A=acido benzoico, C=cumarina, M=miscela.

Sulla base delle evidenze sperimentali, non è dunque possibile valutare in maniera adeguata l'efficienza di separazione. L'aspetto delle bande suggerisce che in effetti una separazione ci sia stata, ma sarà necessario utilizzare un sistema eluente migliore, che permetta di differenziare meglio i due composti, per poter valutare l'efficienza di separazione.

### Conclusioni.

Quest'esperienza di laboratorio aveva lo scopo di separare una miscela a due componenti utilizzando un'estrazione liquido/liquido e le proprietà acido-base dei due composti da separare. Per poter valutare l'efficienza di separazione, è stata effettuata un'analisi TLC. Purtroppo, tale analisi non ha permesso una effettiva valutazione dell'efficienza di separazione. Quest'insuccesso è da imputare al sistema eluente non ottimale per i composti in analisi. Ulteriori indagini saranno dunque necessarie per poter efficacemente valutare l'efficienza di separazione.