

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Identifikace fenolů ve vodě

1. Teoretický úvod

Stanovení organických složek v analyzovaném materiálu je ve srovnání se složkami anorganickými náročnější. Celý postup zahrnuje obvykle několik kroků - izolace složek, jejich zakoncentrování, identifikace a stanovení (určení jejich množství). Izolace se provádí nejčastěji extrakcí materiálu (vody, půdy) do organického rozpouštědla nebo adsorpcí na pevném sorbentu (aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý). Zakoncentrování většinou nastává již při samotné extrakci nebo adsorpci. Identifikace jednotlivých látek v zakoncentrovaném vzorku se provádí citlivými barevnými reakcemi. Spolehlivější identifikaci a stanovení umožňují instrumentální techniky.

K identifikaci málo těkavých organických sloučenin obsahujících citlivě detekovatelné funkční skupiny se používá tenkovrstevná chromatografie (TLC). Chromatografické metody dovolují dělení složité směsi látek i velmi podobné struktury. Principem dělení je různá velikost interakce látek při jejich rozdělování mezi pohyblivou (mobilní) a nepohyblivou (stacionární) fází. Tenkovrstevná chromatografie je velmi jednoduchou a účinnou identifikační metodou, protože dovoluje separaci doplnit řadou barevných reakcí provedených přímo na nosiči. Typickým příkladem je identifikace fenolů, aromatických aminů, nitrolátek, polykondenzovaných aromatických uhlovodíků, atd. Fenoly jsou slabými kyselinami, a proto se extrahují z okyseleného vzorku vody do rozpouštědla (nemísitelného s vodou). Extrakt se nanáší tenkou vrstvou silikagelu a jednotlivé složky se separují vztlínajícím rozpouštědlem. Skvrny bezbarvých fenolů se odkryjí postřikem detekčního činidla. Pro fenoly je vhodným detekčním činidlem roztok diazoniové soli (4-nitrobenzediazoniumchlorid), který s fenoly poskytuje azobarvivo. Roztok 4-nitrobenzediazoniumchloridu se připraví diazotací 4-nitroanilinu v prostředí HCl těsně před postřikem.

2. Experimentální vybavení

Laboratorní materiál: chromatografická komora, odměrné válce (10 ml, 100 ml), dělicí nálevka 250 ml, odměrné baňky 10 ml, pipety, nálevka, detekční fixírka, nanášecí mikropipety, deska Silufol

Chemikálie: standardní roztoky fenolů (10 mg/ml), chloroform, benzen, 4-nitroanilín (0,5% v 2M HCl), NaNO₂ (5%), octan sodný (20%), 2M HCl

3. Pracovní postup

- 100 ml vzorku (vody) odměříme odměrným válcem do dělicí nálevky a okyselíme přidávkem 2 ml M HCl.
- Do dělicí nálevky přidáme 5 ml chloroformu, protřepeme a necháme oddělit vrstvy.
- Oddělenou vrstvou chloroformu odпустíme přes nálevku do 10 ml odměrné baňky.
- Extrakci opakujeme ještě jednou s dalšími 5 ml chloroformu a baňku nakonec doplníme chloroformem po značku.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

- V průběhu extrakce připravíme chromatografickou komoru nalitím 20 ml benzenu a necháme ji nasytit parami rozpouštědla.
- Z desky Silufol ustříháme obdélník podle rozměrů chromatografické komory. Tužkou vyznačíme čáru startu (2,5 cm od okraje desky) a nanášecí body. Body nanesení musí být minimálně 2 cm od okraje (potlačení „okrajových efektů“) a minimálně 1,5 cm vzájemně od sebe.
- Pomocí mikropipetek nanese extrakt a roztoky standardů (svědků). Skvrny necháme před vložením do komory dobře vyschnout. Desku vložíme šikmo do dobře nasycené komory. Hladina rozpouštědla nesmí být nad startovací čáru. Když čelo rozpouštědla dosáhne 2-3 cm od horního okraje, desku vyjmeme a rychle zaznamenáme stopu čela.
- Připravíme roztok detekčního činidla: do baňky fixírky odměříme válečkem 5 ml roztoku 4-nitroanilínu a přidáme 6,5 ml roztoku NaNO_2 . Za občasných míchání necháme proběhnout diazotaci asi 5 min. Roztok před reakcí a při reakci musí být chladný (v případě potřeby chladíme). Válečkem přidáme 15 ml 20% roztoku octanu sodného a promícháme.
- Suchou desku položíme na filtrační papír a postříkáme činidlem v dobře táhnoucí digestoři.
- Zaznamenáme středy (těžiště). Změříme vzdálenosti skvrn od startu (a) a vzdálenost čela od startu (b). Vypočteme hodnoty R_f . Porovnáním hodnot R_f fenolů ve vzorku a standardů provedeme identifikaci fenolů přítomných ve vodě.

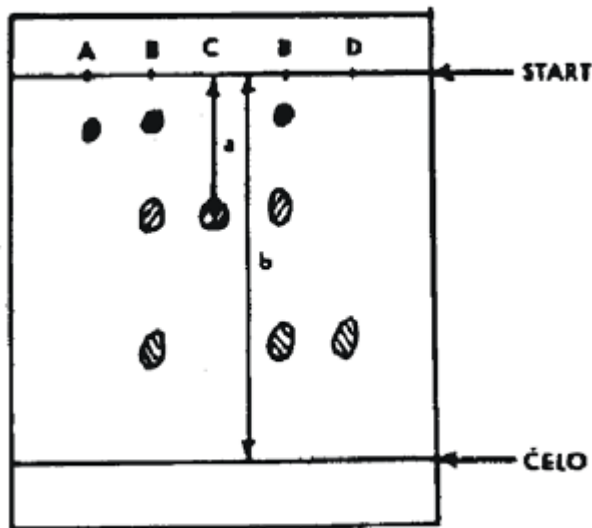
4. Vyhodnocení výsledků

Identifikační konstantou v plošné chromatografii je tzv. R_f - hodnota (poměr vzdálenosti těžiště skvrny od „startu“ a vzdálenosti „čela“ od startu - viz obrázek.)

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016



A,C,D jsou srovnávací standardy (svědci), B je rozdělená směs látek po detekci.

Pro látku C je $R_f = \frac{a}{b}$