

Cromatografia su strato sottile

• Obiettivo:

Separare i pigmenti contenuti presenti in alcuni vegetali mediante cromatografia su strato sottile

• Prerequisiti:

Il principio della separazione cromatografica si basa sulla diversa affinità delle sostanze da separare nei confronti della fase stazionaria (in questo caso lo strato di silice depositato sulla lastrina) e della fase mobile (la miscela di solventi utilizzata).

Calcolo degli $R_f \rightarrow R_f = \frac{\text{percorso}_{\text{macchia}}}{\text{percorso}_{\text{solvente}}}$;

• Materiali e attrezzature:

<u>Strumenti di misura:</u>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Bilancia tecnica (s = 1 mg); ■ Pipette graduate di varie misure con porcellini;
<u>Vetreteria:</u>	<ul style="list-style-type: none"> ■ Becker da 250 ml; ■ Becker da 100 ml; ■ Vetro da orologio in grado di coprire il becker; ■ Mortaio con pestello; ■ Capillari
<u>Materiale di consumo:</u>	<ul style="list-style-type: none"> ■ 3 g di carota tritata; ■ 3 g di polpa di pomodoro; ■ 5 g di buccia di arancia grattugiata; ■ 3 g di foglie di spinaci; ■ Lastre cromatografiche al gel di silice su supporto di alluminio; ■ 3 ml Diclorometano; ■ 40 ml di n-Esano; ■ 10 ml Alcool etilico assoluto; ■ 8 ml di Cicloesano; ■ 4 ml Acetone; ■ 4 ml Dietil Etere

• Procedimento:

Per prima cosa si preparano le miscele di solventi preparandone una quantità sufficiente a coprire per un centimetro il fondo del becker. Per questa esperienza vanno preparate due miscele di solventi: una per la separazione dei pigmenti di carota, arancia e pomodoro, l'altra per gli spinaci, visto che bisogna separare le clorofille.

La miscela per pigmenti di carota, arancia e pomodoro è composta da:

- 3 ml di Diclorometano e
- 10ml di n-Esano;

ISII Marconi	Classe 3 [^] chimici ITIS	Esperienze di chimica organica: Cromatografia su strato sottile	
			Pagina 2 di 8

La miscela per separare le clorofille degli spinaci è composta da:

- 8ml Cicloesano,
- 4ml di Acetone e
- 4ml di Dietil Etere.

Poste le miscele nei becker si chiudono con i vetrini da orologio per saturare l'atmosfera dei vapori del solvente utilizzato: questa operazione è necessaria per evitare l'evaporazione del solvente man mano che per capillarità sale lungo la lastrina.

I campioni si preparano in mortaio o in becker da 100ml ponendo le quantità di campione con mezza spatolata di solfato di sodio come disidratante e facendo tre estrazioni con complessivi 10 ml di n-Esano; l'estratto verrà raccolto in un altro becker da 100ml che verrà posto al di sopra di un mantello riscaldante acceso (sotto cappa!) per eliminare parte del solvente e concentrare così il pigmento. Gli spinaci si estraggono meglio con alcool etilico quindi si consiglia questo solvente per l'estrazione al posto del n-Esano.

Si preparano le lastre cromatografiche ritagliandone con precisione 8 da ciascuna lastra: si preparano con forbici matita e righello.

Si segna con una matita la linea di base a circa 1,5 cm dal bordo facendo attenzione a segnarlo dalla parte tagliata più precisa per evitare sviluppi anomali.

La semina delle lastre avviene mediante un capillare, con cui si prelevano alcune gocce di estratti preparati precedentemente, quindi si pone la lastra nel becker a sviluppare, facendo attenzione che il solvente non tocchi direttamente il pigmento seminato. La semina può essere effettuata sia per punti che per strisce. Durante la sua lenta ascesa lungo la fase stazionaria (gel di silice) il solvente porta con sé i vari pigmenti che si depositano a varie altezze in base alla loro diversa affinità nei confronti della fase mobile e della fase stazionaria.

Si termina lo sviluppo quando il fronte del solvente arriva a circa 1cm dal bordo superiore: a questo punto si segna il fronte del solvente e si lascia asciugare la lastra. Una volta asciugata si può procedere al calcolo degli Rf per caratterizzare ciascuna sostanza dei pigmenti depositati.

• **Elaborazione dati:**

Dallo sviluppo delle nostre lastre abbiamo ottenuto i seguenti dati:

Pomodoro: 1) Rf = 0,7875 2) Rf = 0,5625

Carota: 3) Rf = 0,7875

Spinaci: 4) Rf = 0,9870 5) Rf = 0,7013 6) Rf = 0,6753

Confrontandoli con i valori tabulati si possono riconoscere le sostanze componenti i pigmenti.

E' possibile notare che una sostanza presente nel cromatogramma della carota è presente anche in quello del pomodoro: vuol dire che si tratta della stessa sostanza: in questo caso del β -carotene.

Valutazione del rischio chimico

Reattivo: Acetone

Classificazione di pericolosità: Xi Irritante; F Facilmente infiammabile.

Valore di rischio = 11

Classificato come rischio moderato

Fraasi di rischio: 11 36 66 67

Indice di pericolosità intrinseca (P): 3.5

Vie di assorbimento: cutanea

Si tratta di una sostanza organica
allo stato liquido

con T°ebollizione = 56 °C

T°operativa = 20 °C

presenta quindi media volatilità

Quantità utilizzata: meno di 0,1 kg

La disponibilità è bassa poiché D = 1

Tipo di utilizzo: uso controllato

Il livello di tipologia d'uso è basso poiché U = 1

Tipologia di controllo: aspirazione localizzata

Il livello di tipologia di controllo è basso poiché C = 1

Tempo di esposizione giornaliero: da 15 min a 2 ore

L'intensità esposizione è bassa poiché I = 1

Distanza degli esposti dalla sorgente: meno di 1 metro

Sub-indice d = 1

Indice di esposizione per via inalatoria = 1

Tipologia di contatto: contatto accidentale

Indice di esposizione per via cutanea: media poiché Ecute = 3

Rischio inalatorio = 4

Rischio cute = 11

Rischio cumulativo = 11

Norme generali protettive e di igiene del lavoro

Lavarsi le mani prima dell'intervallo o a lavoro terminato.

Consigliati guanti in neoprene e occhiali protettivi a tenuta.

Valutazione del rischio chimico

Reattivo: Etanolo 95% e assoluto

Classificazione di pericolosità: F facilmente infiammabile

Valore di rischio = 0

Classificato come Rischio moderato

Fraasi di rischio: 11

Indice di pericolosità (P): 0

Vie di assorbimento:

Si tratta di una Sostanza organica
allo stato Liquido
con T°ebollizione = 78 °C
T°operativa = 20 °C
presenta quindi media volatilità

Quantità utilizzata: Meno di 0,1 kg
La disponibilità è bassa poiché D = 1

Tipo di utilizzo: Uso controllato
Livello di tipologia d'uso: Basso poiché U = 1

Tipologia di controllo: Ventilazione generale
Livello di tipologia di controllo: Mediopoiché C = 2

Tempo di esposizione giornaliero: da 15 min a 2 ore
Intensità esposizione: Medio/bassapoiché I = 3

Distanza degli esposti dalla sorgente: meno di 1 metro
Sub-indice d = 1

Indice di esposizione per via inalatoria = 3

Tipologia di contatto: Contatto accidentale
Esposizione per via cutanea: media poiché Ecute = 3

Rischio inalatorio = 0

Rischio cute = 0

Rischio cumulativo = 0

Norme generali protettive e di igiene del lavoro

Lavarsi le mani prima dell'intervallo o a lavoro terminato.

Consigliato l'uso di occhiali protettivi a tenuta.

Valutazione del rischio chimico

Reattivo: Cicloesano

Valore di rischio = 15

Classificato come Rischio moderato

Fraasi di rischio: 38 65 67

Indice di pericolosità (P): 3.5

Vie di assorbimento: Inalatoria e cutanea

Si tratta di una Sostanza organica
allo stato Liquido

con T°ebollizione = 81 °C

T°operativa = 20 °C

presenta quindi media volatilità

Quantità utilizzata: Meno di 0,1 kg

La disponibilità è bassa poiché D = 1

Tipo di utilizzo: Uso controllato

Livello di tipologia d'uso: Basso poiché U = 1

Tipologia di controllo: Ventilazione generale

Livello di tipologia di controllo: Medio poiché C = 2

Tempo di esposizione giornaliero: da 15 min a 2 ore

Intensità esposizione: Medio/bassa poiché I = 3

Distanza degli esposti dalla sorgente: meno di 1 metro

Sub-indice d = 1

Indice di esposizione per via inalatoria = 3

Tipologia di contatto: Contatto accidentale

Esposizione per via cutanea: media poiché Ecute = 3

Rischio inalatorio= 11

Rischio cute= 11

Rischio cumulativo = 15

Norme generali protettive e di igiene del lavoro

Evitare il contatto con gli occhi e la pelle.

Lavarsi le mani prima dell'intervallo o a lavoro terminato.

Guanti protettivi in gomma.

Occhiali protettivi.

Valutazione del rischio chimico

Reattivo: Dietil Etere

Classificazione di pericolosità: F+ Estremamente Infiammabile

Valore di rischio = 11

Classificato come rischio moderato

Frasi di rischio: 12 19 22 66 67

Indice di pericolosità intrinseca (P): 3.5

Vie di assorbimento: cutanea

Si tratta di una sostanza organica
allo stato

con T°ebollizione = 35 °C

T°operativa = 20 °C

presenta quindi alta volatilità

Quantità utilizzata: meno di 0,1 kg

La disponibilità è bassa poiché D = 1

Tipo di utilizzo: uso controllato

Il livello di tipologia d'uso è basso poiché U = 1

Tipologia di controllo: aspirazione localizzata

Il livello di tipologia di controllo è basso poiché C = 1

Tempo di esposizione giornaliero: da 15 min a 2 ore

L'intensità esposizione è bassa poiché I = 1

Distanza degli esposti dalla sorgente: meno di 1 metro

Sub-indice d = 1

Indice di esposizione per via inalatoria = 1

Tipologia di contatto: contatto accidentale

Indice di esposizione per via cutanea: media poiché Ecute = 3

Rischio inalatorio = 4

Rischio cute = 11

Rischio cumulativo = 11

Norme generali protettive e di igiene del lavoro

Lavarsi le mani prima dell'intervallo o a lavoro terminato.

Consigliati guanti in neoprene e occhiali protettivi.

Non inalare i vapori.

Valutazione del rischio chimico

Reattivo: Diclorometano

Classificazione di pericolosità: Xn nocivo

Valore di rischio = 22

Classificato come Rischio superiore al moderato

Frasi di rischio: 40

Indice di pericolosità (P): 7

Vie di assorbimento:

Si tratta di una Sostanza organica
allo stato Liquido

con T°ebollizione = 40 °C

T°operativa = 20 °C

presenta quindi alta volatilità

Quantità utilizzata: Meno di 0,1 kg

La disponibilità è bassa poiché D = 1

Tipo di utilizzo: Uso controllato

Livello di tipologia d'uso: Basso poiché U = 1

Tipologia di controllo: Aspirazione localizzata

Livello di tipologia di controllo: Basso poiché C = 1

Tempo di esposizione giornaliero: da 15 min a 2 ore

Intensità esposizione: Basso poiché I = 1

Distanza degli esposti dalla sorgente: meno di 1 metro

Sub-indice d = 1

Indice di esposizione per via inalatoria = 1

Tipologia di contatto: Contatto accidentale

Esposizione per via cutanea: media poiché Ecute = 3

Rischio inalatorio= 7

Rischio cute= 21

Rischio cumulativo = 22

Norme generali protettive e di igiene del lavoro

Lavarsi le mani prima dell'intervallo o a lavoro terminato.

Consigliati guanti in gomma e occhiali protettivi.

Valutazione del rischio chimico

Reattivo: n-Esano

Classificazione di pericolosità: Xn Nocivo; F Facilmente infiammabile; N Pericoloso per l'ambiente;

Valore di rischio = 22

Classificato come rischio superiore al moderato

Frasi di rischio: 62 11 38 48/20 51/53 65

Indice di pericolosità intrinseca (P): 6.9

Vie di assorbimento:

Si tratta di una sostanza organica
allo stato liquido
con T°ebollizione = 69 °C
T°operativa = 20 °C
presenta quindi media volatilità

Quantità utilizzata: meno di 0,1 kg
La disponibilità è bassa poiché D = 1

Tipo di utilizzo: uso controllato
Il livello di tipologia d'uso è basso poiché U = 1

Tipologia di controllo: aspirazione localizzata
Il livello di tipologia di controllo è basso poiché C = 1

Tempo di esposizione giornaliero: da 15 min a 2 ore
L'intensità esposizione è bassa poiché I = 1

Distanza degli esposti dalla sorgente: meno di 1 metro
Sub-indice d = 1

Indice di esposizione per via inalatoria = 1

Tipologia di contatto: contatto accidentale
Indice di esposizione per via cutanea: media poiché Ecute = 3

Rischio inalatorio = 7
Rischio cute = 21
Rischio cumulativo = 22

Norme generali protettive e di igiene del lavoro

Lavarsi le mani prima dell'intervallo o a lavoro terminato.

Consigliati guanti in gomma e occhiali protettivi.