

STANOVENÍ ORGANICKÝCH SLOUČENIN NA BÁZI REAKCÍ JEJICH FUNKČNÍCH SKUPIN

OBSAH PŘEDNÁŠKY:

STANOVENÍ KONCOVÉHO METHYLU

STANOVENÍ AKTIVNÍHO VODÍKU

STANOVENÍ DVOJNÝCH VAZEB

STANOVENÍ HYDROXYSLOUČENIN (C-OH)

STANOVENÍ KARBONYLŮ

STANOVENÍ KARBOXYLOVÝCH KYSELIN

STANOVENÍ AMINŮ

STANOVENÍ NITRO-, NITROSO- SKUPIN

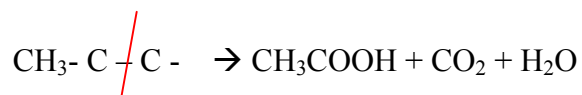
STANOVENÍ THIOSLOUČENIN

STANOVENÍ HALOGENOSLOUČENIN

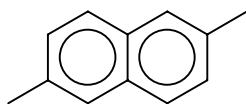
POLYFUNKČNÍ SLOUČENINY

STANOVENÍ KONCOVÉHO METHYLU

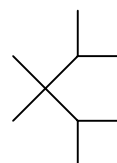
princip: oxidačním rozkladem uhlovodíků vzniká CO_2 a H_2O , za běžných oxidačních podmínek (na mokré cestě) ale u koncových methylů vzniká kyselina octová. Ta se titruje přímo nebo po oddestilování na fenolftalein



Není kvantitativní u některých aromátů, kvartérních uhlíků, násobných vazeb (30-85% výtěžek).



30%



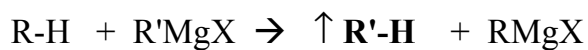
40%

STANOVENÍ AKTIVNÍHO VODÍKU

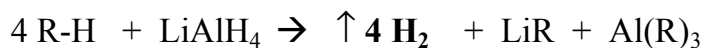
Aktivním vodíkem nazýváme H vázaný na O, N, S (nebo C), který je „aktivován“ sousedními částmi molekuly (např. snížení hustoty elektronů = kyselý vodík).

Použití: sumární vzorec (lze použít i selektivní reakce), řešení konstituce: *příklad: nalezený C₈H₁₈O by mohl být ether nebo alkohol, nepřítomnost akt. H ukazuje na ether, jeden akt. H na alkohol.*

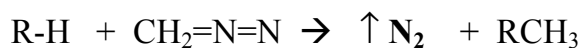
□ s Grignarovým činidlem



□ s hydridy



□ s diazomethanem



uvolněný plyn se změří volumetricky (p,T=konst.) nebo manometricky (V,T=konst.)

STANOVENÍ DVOJNÉ VAZBY

I. adice halogenů



nadbytek bromu je stanoven jodometricky na škrob

II. adice vodíku

hydrogenace s katalyzátorem (Pt, Pd, Ni), sleduje se manometricky pokles tlaku vodíku.

v případě komplikací (nízká selektivita, strické bránění) se používají jiné speciální metody

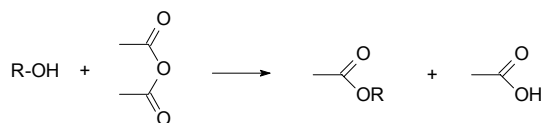
STANOVENÍ HYDROXYSLOUČENIN (C-OH)

reaktivita prim. / sekundárních / terc. alkoholů / fenolů je velmi odlišná: neexistuje univerzální metoda

I. TVORBOU ESTERŮ

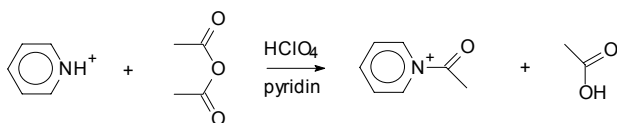
ACETANHYDRID

- s acetanhydridem v prostředí pyridinu

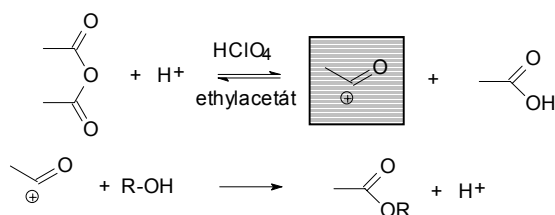


nutno zvýšení teploty, fenoly nereagují kvantitativně, proto se modifikací tvoří účinnější kationty:

- s acetanhydridem v prostředí pyridinu, katalýza HClO_4 (N-acetylpyridiniový kationt je lepší acetylační činidlo pro stericky bráněné OH)



- s acetanhydridem v prostředí ethylacetátu, katalýza HClO_4 (acetylový kationt je lepší acetylační činidlo)



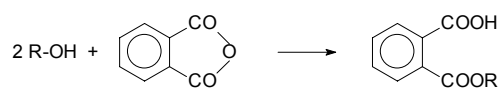
vyhodnocení:

A/ vždy se přidává voda, vzniká kyselina octová (navíc i z nezreagovaného anhydridu).
provede se slepý pokus, rozdíl určuje množství acetylačního činidla \approx množství -OH.

B/ směs se zneutralizuje na $\text{pH}=7$, pak se přidá nadbytek hydroxidu a určí jeho množství potřebné ke zpětnému zmýdelnění esteru (zmýdelnění je hydrolyza esteru za vzniku kyseliny a alkoholu)

nevýhody: těkavost činidla, ruší karbonyly

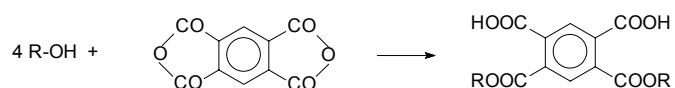
čínidlo FTALANHYDRID



výhody: stálé čínidlo, neruší karbonyly

nevýhody: zvýšená teplota, reakční doba až 2 hodiny, kvantitativně nereagují stericky bráněné

DIANHYDRID KYSELINY PYROMELITHOVÉ

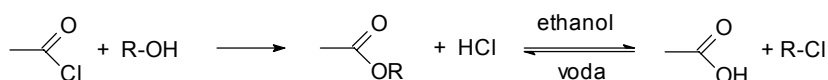


výhody: reagují jen alkoholy i vedle fenolů.

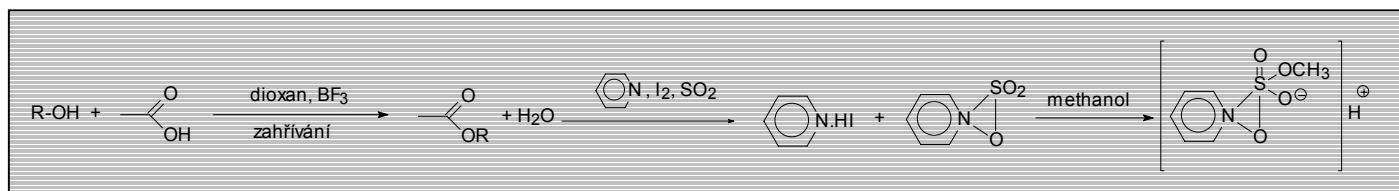
čínidlo ACETYLCHLORID

velmi reaktivní acetyl, vzorek se ale musí rozpustit v toluenu, čínidlo v pyridinu.

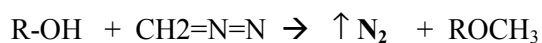
Pak se přidá voda a ethanol, titrují se uvolněné kyseliny (KOH v ethanolu). Rozdíl od slepého pokusu odpovídá množství HAc ve formě esteru.



čínidlo KYSELINA OCTOVÁ (esterifikace s následnou titrací vody dle K. Fischera, biamperometrické indikace b.e.)



DIAZOMETHAN (srov. stanovení aktivního vodíku)

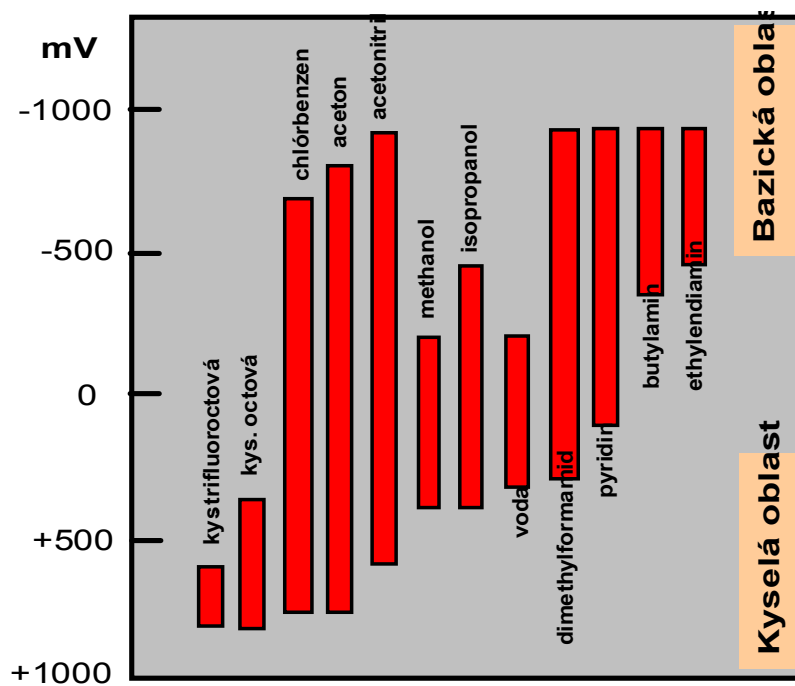


II.

ACIDOBAZICKÁ TITRACE

nitroalkoholy, fenoly ($pK_{ArOH} = 9$)

alkalimetrycky ve vodném (NaOH) nebo TBA.OH v MetOH, případně v bazických rozpouštědlech (pyridin, DMFA)

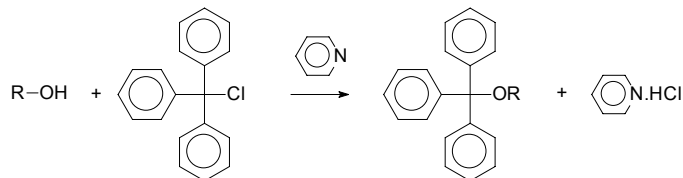


III.

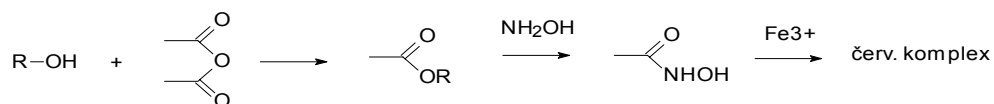
SPEKTROFOMETRICKÉ STANOVENÍ

alkoholy:

- reakce s trifenyl chlormetanem, detekce UV (ester), nebo po okyselení VIS (kyselina)

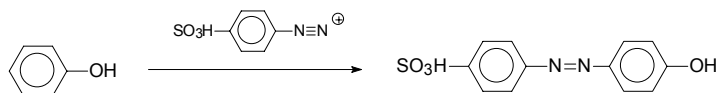


- prim. + sek. alkoholy, oxidace dichromanem (kyseliny, ketony), měří se absorbance Cr(3+)
- acetylace na ester, pak jako hydroxámový test: červený komplex s Fe(3+)

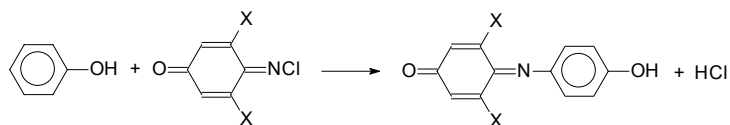


fenoly:

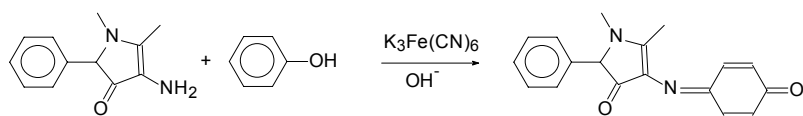
- kopulace: s diazotovanými sloučeninami (kys. sulfanilová), červené/oranžové sloučeniny



- reakcí s 2,6-dibrom-N-chlórchinoniminem, vznik indofenolového barviva, měří se přímo nebo po extrakci do butanolu

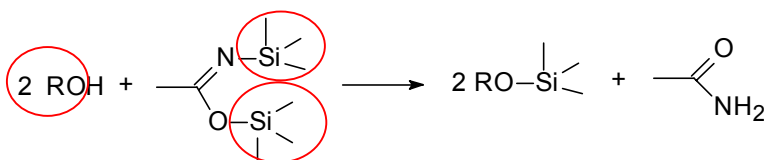


- vznik antipyrinových barviv, extrakce do chloroformu



IV. GC

- přímý nástřik těkavých látek: alkoholy do C8-10 a jednosytné fenoly
- nepřímo: zvýšení těkavosti **sylicací** (N,O-bis(trimethylsilyl)acetamid, dimethylchlorsilan H(CH₃)₂SiCl...)



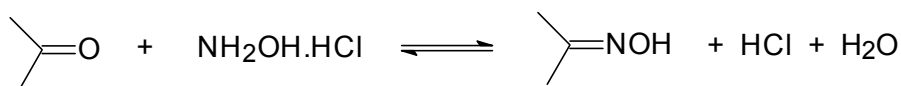
- nepřímo: zvýšení těkavosti acetylací (acetanhydridem)

STANOVENÍ KARBONYLŮ

převážně nukleofilní adice, kondenzace nebo redoxní reakce.

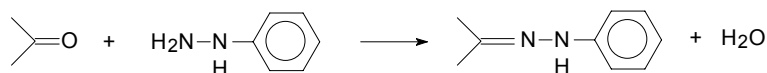
I. ODMĚRNÉ METODY

- reakce s hydroxylaminem, vznik oximu



při titraci hydrochloridem není snadné indikovat b.e. vizuálně (pufr), proto lépe potenciometricky, případně stanovit nadbytek hydroxylaminu oxidimetricky (CuAc₂, jod)

- reakce s arylhydrazinem, vznikají arylhydrazony



většinou se stanovuje nezreagovaný nadbytek činidla acidimetricky nebo oxidimetricky

- obdobně s primárními (alifatickými) aminy tvoří Schiffovy báze $\text{R}_1\text{R}_2\text{C}=\text{NR} + \text{H}_2\text{O}$, lépe v nevodném prostředí 2-propanolu, určuje se přebytek aminu acidimetricky (kys. salicylová)
- aldehydy - oxidačně: stříbrnou solí, $\text{RCHO} + \text{Ag}_2\text{O} \rightarrow \text{RCOOH} + 2 \text{Ag}^0$, stanovuje se nadbytek Ag⁺ nebo nadbytek hydroxidu, který neutralizuje vzniklou kyselinu.

STANOVENÍ KARBOXYLOVÝCH KYSELIN

acidobazické titrace:

pK cca 4-6. Vhodné bazické rozpuštědlo - ethylendiamin (pyridin), titrace NaOH v ethylendiaminu, indikace b.e. na indikátor oranž nebo potenciometricky na antimonovou elektrodu, kterou neruší Na^+ .

soli $-\text{COONa}$

jsou slabé báze, lze stanovit acidimetricky v led. kys. octové kyselinou chloristou

esterifikace:

(jen alifatické) methanolem, kat BF_3 , voda se stanoví dle Fischera.

tvorba solí:

gravimetricky nebo titračně chelatometricky

fotometricky:

převedení na acylchlorid sulfochloridem, pak hydroxámové reakce s Fe^{3+}

GC:

po esterifikaci

STANOVENÍ AMINŮ

acidobazicky:

jsou dostatečně bazické (ve vhodné rozpouštědle - rozpustnost, vhodná kyselost), titrace acetanhydridem

acetylace (prim. a sek. aminy):

reakce s acetanhydridem, uvolněná kyselina octová se titruje NaOH v methanolu.

reakce s HNO_2

na jodoškrobový papírek

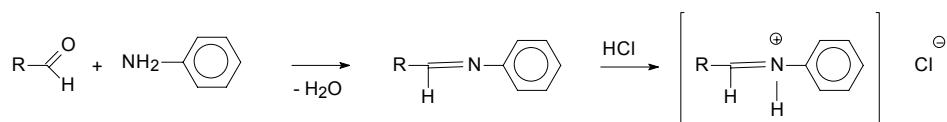
prim. alif. reagují za vzniku N_2 (možno volumetricky, manometricky i v GC)

arom: diazonové soli

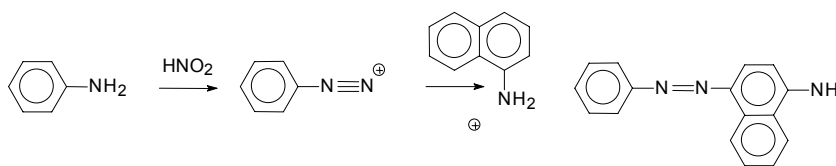
Kjeldahlizace (viz výše, str.12)

spektrofotometricky:

tvorba Schiffových bazí reakcí se salicylaldehydem



diazotace a kopulace



STANOVENÍ NITRO-, NITROSO- SKUPIN

I. redukcí nitro-, nitroso- skupin na aminy

REDUKČNÍ ČINIDLA (viz výše)

činidla: (silná) Sn+HCl, Zn+HCl, SnCl₂ + HCl, TiCl₃

(slabá) Fe+alkohol. NaOH

| <i>látká</i> | <i>reakce</i> |
|------------------------|--|
| nitro- (alif. i arom.) | $R-NO_2 + 6 H \rightarrow R-NH_2 + 2 H_2O$ |
| nitroso- | $R-NO + 4 H \rightarrow R-NH_2 + H_2O$ |

provedení:

- působení nadbytku činidla, pak retitrace Fe(3+) na thiokyanatan (viz výše feroxtest Fe[Fe(SCN)₆] zčervená)

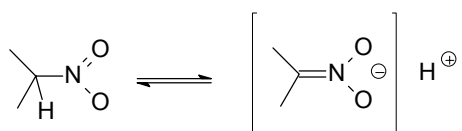
alternativy:

- redukcí u aromatických nitrosloúčenin: vzniká kvantitativně H₂O : titrace dle Karl Fischera
- hydrogenací s katalyzátorem Pd se měří nezreagovaný vodík
- redukcí s NaBH₄, nadbytek činidla uvolní přídatkem HCl vodík
- chromatograficky - GC

II.

alkalimetricky

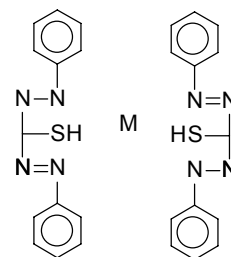
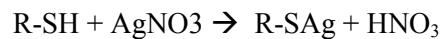
vodík u primárních a sek. nitrolátek je kyselý (titrace v bazických rozpuštědlech butylamin, formamid)



STANOVENÍ THIOSLOUČENIN

I.

Argentometricky

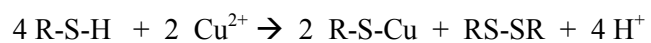


- v amoniakálním ethanolu na dithizonát (červený komplex) nebo potenciometricky
- nadbytek činidla, retitrovat $\text{NH}_4(\text{SCN})$ na $\text{Fe}(3+)$

II. Acidobazicky

v nevodné bazickém prostředí lze titrovat thiol jako slabou kyselinu

III. měďnatými ionty



přímo (indikace přebytku Cu^{2+}) nebo nepřímo (alkalimetrická titrace H^+)

STANOVENÍ HALOGENOSLOUČENIN

mineralizací (spalování v kyslíku, tavení s peroxidem sodným) na halogen/halogenid:

absorpce halogenu do siřičitanu či peroxidu, jako halogenid se pak stanoví např. argentometricky

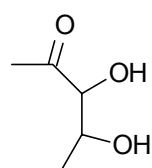
GC (halogenderiváty jsou obvykle těkavé)

STANOVENÍ POLYFUNKČNÍCH SLOUČENIN

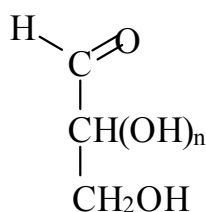
Velké množství látek přírodních i průmyslově vyráběných obsahuje více než jednu funkční skupinu. Pokud se tyto skupiny příliš neovlivňují, lze použít výše uvedené postupy.

Pokud vzniká kvalitativně nové uskupení (podobně jako karbonyl + hydroxyl = karboxyl), pak používáme speciální postupy: např. pro stanovení sacharidů a α -aminokyselin.

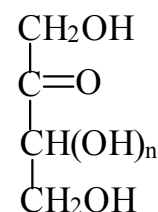
Stanovení sacharidů



Aldosy



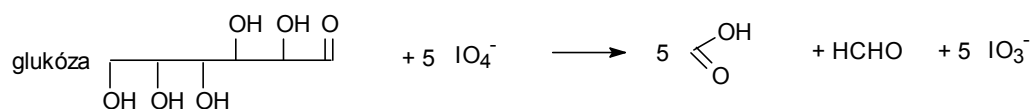
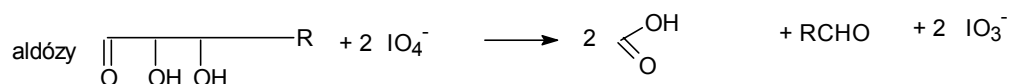
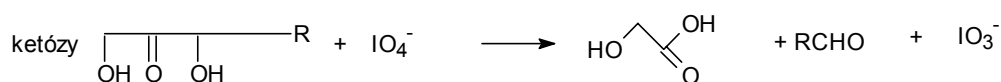
Ketosy



Hydroxylová skupina brání stanovení karbonylu běžnými metodami (hydroxylaminem, hydrazinem, hydrogensířičitanem).

Metody oxidační: s kyselinou jodistou

Nadbytek kyseliny se stanoví



Metody redukční:

redukce hydridem boritosodným na cukerné alkoholy. Nezareagovaný nadbytek činidla se stanoví po přidavku kyseliny uvolněným vodíkem.

Metody spektrofotometrické:

reakcí s fenolickými sloučeninami (s fenolem, fluoroglucinem)

nebo nitrosloúčeninami (s kyselinou pikrovou)

7/ PŘÍPRAVA DERIVÁTŮ

min. 2 různé deriváty (nespecificita t.t.)

cíl = volba derivátu, způsob charakterizace + povaha a množství vzorku
příprava (jednoduchost, jednoznačnost, výtěžek), čištění

vlastnosti : ostrý bod tání v rozmezí 80-250 °C (odlišný od původní látky)
 stanovení vnesené skupiny
 chromatografická identifikace

8/ KONFRONTACE S LITERATUROU

Večeřa M., Gasparič J., Churáček J., Borecký J., *Chemické tabulky organických sloučenin*, SNTL Praha 1975

Grassel J. G. (Editor): *Atlas of Spectral Data and Physical Constants for Organic Compounds*, J. Wiley, London 1964

Beilstein's Handbuch der Organischen Chemie

9/ URČENÍ KONSTITUCE

pokud se jedná o neznámý strukturní vzorec:

spektra (IČ, H-NMR, C-NMR, krystal: rentgenograficky)

degradační metody

→ skelet, umístění funkčních skupin

EXTRAKCE KAPALINA-KAPALINA

KAPALINOVÁ EXTRAKCE (v praxi patří k technikám přípravy vzorku). Při promíchání (protřepání) dvou spolu se nemísících kapalin látka původně rozpuštěná v jedné z fází přejde částečně i do druhé (v optimálním případě přejde pouze tato látka, matrice zůstane v původní fázi). V rovnovážném stavu platí

$$K_d = [X]_o/[X]_w$$

K_d je rozdělovací (=distribuční) konstanta, $[X]$ jsou aktivity (často koncentrace) určité látky a indexy označují fázi méně (o) a více polární (w), tou polárnější je obvykle voda.

Jaké extrakční činidlo použít?

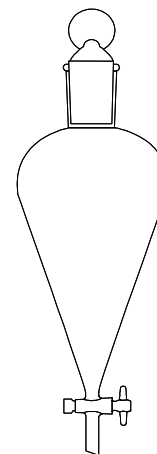
Již alchymisté věděli, že "podobné se rozpouští v podobném". Nepochární (málo polární) sloučeniny rozpustíme v málo polárních organických rozpouštědlech. Polární a iontové sloučeniny se rozpouštějí ve vodě a také v polárních organických rozpouštědlech (např. glycerol, dimethylformamid ...). Molekuly karboxylových kyselin vytřepeme z organického rozpouštědla do alkalické vodné fáze, pro extrakci molekul organických aminů z organického rozpouštědla použijeme naopak kyselý vodný roztok; v obou těchto případech vzniknou ionty, kterým lépe vyhovuje rozpouštědlo voda.

Polárnost rozpouštědla jako prostředí pro extrakce charakterizuje snadno změřitelná (elektrická) veličina permitivita ϵ . Příklad rozpouštědel nemísitelných s vodou (permitivita 78): nitrobenzen (35), amylalkohol, ethylacetát (6), methyl-isobutylketon (13), chloroform (5), benzen (2,2) a hexan (1,9). Příklad rozpouštědel mísitelných s vodou: methanol (32), 1-propanol (20), aceton (21), pyridin (12) a také nepatrně polární dioxan (2,2). Polární rozpouštědla podporují ionizaci molekul, dipóly rozpouštědla vstupují mezi opačně nabitě ionty, zamezují jejich přiblížení a tím snižují vzájemnou přitažlivost.

poznámky k praktickému provedení:

1/ Přejod z jedné fáze do druhé probíhá na fázovém rozhraní. Pro rychlé ustavení extrakční rovnováhy je třeba, aby toto fázové rozhraní mělo co největší plochu a aby z každého místa v roztoku bylo k tomuto rozhraní blízko. Tyto podmínky nejsnadněji splníme při protřepání směsi obou fází v uzavřené nádobce.

2/ Protřepáváme sice 2 rozpouštědla vzájemně nemísitelná, ale vždy jsou jedno v druhém poněkud rozpustná. To znamená, že fáze po protřepání mohou mít jiné objemy než před protřepáním. Objemových rozdílu před a po extrakci se vystříháme, pokud používáme rozpouštědla předem nasycená protřepáním s druhou fází.



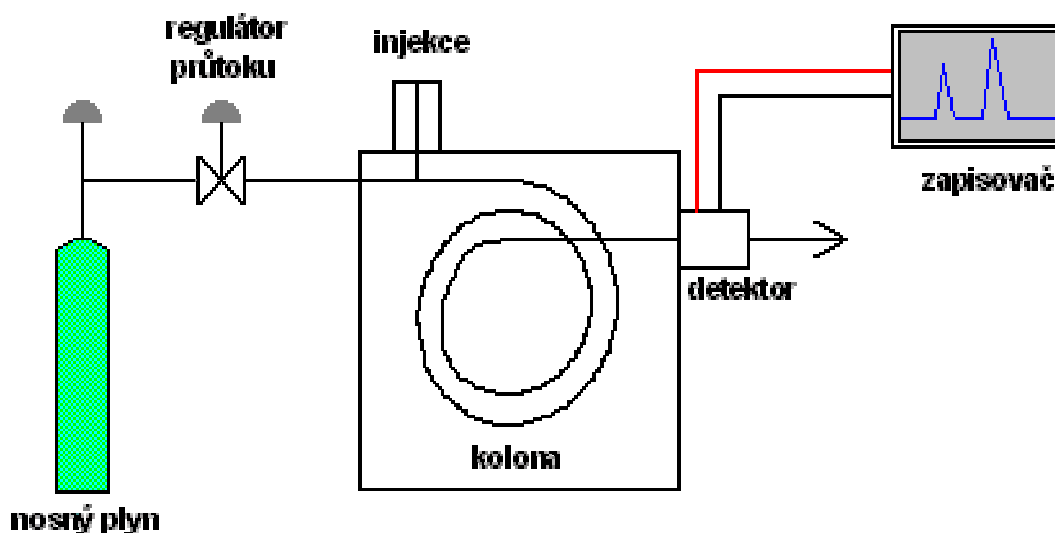
třepačka pro extrakci kapalina-kapalina

CHROMATOGRAFIE

V chromatografii je vzorek (nebo extrakt vzorku) převeden (rozpuštěn) do mobilní fáze, což je plyn (u kapalinové chromatografie=LC kapalina). MOBILNÍ FÁZE (MF) je pak tlačena (obvykle přetlakem) skrze nepohyblivou a nemísitelnou STACIONÁRNÍ FÁZI (SF). Obě fáze jsou vybrány tak, že složky vzorku (=analyty) mají **různou afinitu k SF**. Složka, která má k SF větší afinitu, stráví v SF delší dobu a potřebuje tak více času k průchodu kolonou než složka, která není v SF příliš zadržována a zdržuje se převážně v MF. Důsledkem této rozdílné rychlosti průchodu kolonou je SEPARACE (= oddělení) těchto složek po průchodu kolonou.

Techniky jako GC (a HPLC) používají "kolony": úzké trubice plněné stacionární fází, přes kterou je tlačena mobilní fáze. Vzorek je kolonou nuceně transportován postupným přitékáním MF. Tento proces se nazývá ELUCE. Průměrná rychlost, kterou se vzorek pohybuje kolonou, je určena dobou, kterou vzorek stráví v SF a MF. Nutno podotknout, že chromatografie nepatří mezi analytické separační metody absolutní, tzn. základní charakteristika kvality analytu = retenční čas (objem) není jednoznačnou identifikací; vždy jej musíme srovnávat se standardem hledané látky.

schéma plynové chromatografie (GC)



KAPALINOVÁ CHROMATOGRAFIE (LC)

Rozlišujeme kapalinovou chromatografii rozdělovací (LLC), kde stacionární fází je vrstvička kapaliny zachycena na tuhém nosiči, čili separační proces je vlastně mnohonásobná kapalinová extrakce a reextrakce řízená rozdělovací konstantou $K(D)$. V adsorpční kapalinové chromatografii je analyt adsorbován na stacionární fázi, čili proces je řízen adsorpční izotermou.

schéma kapalinové adsorpční chromatografie

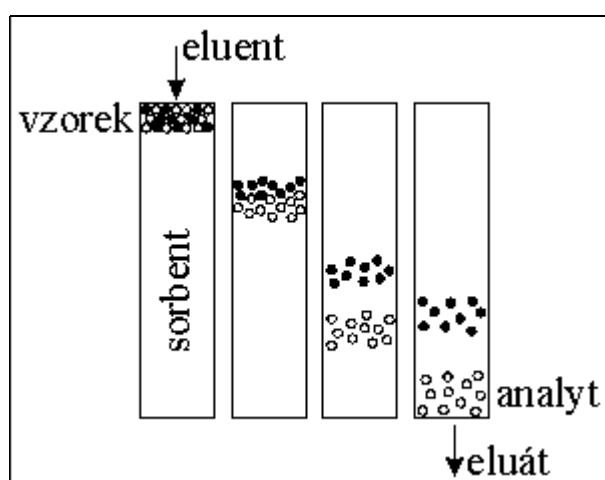
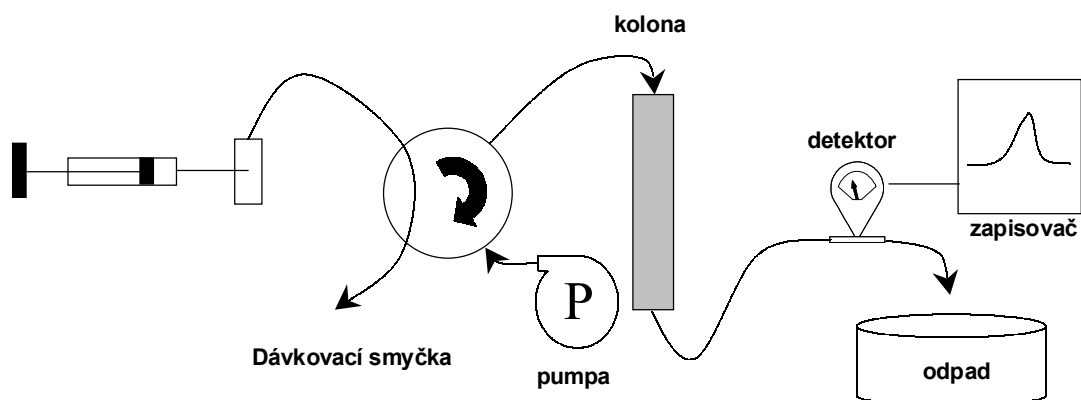


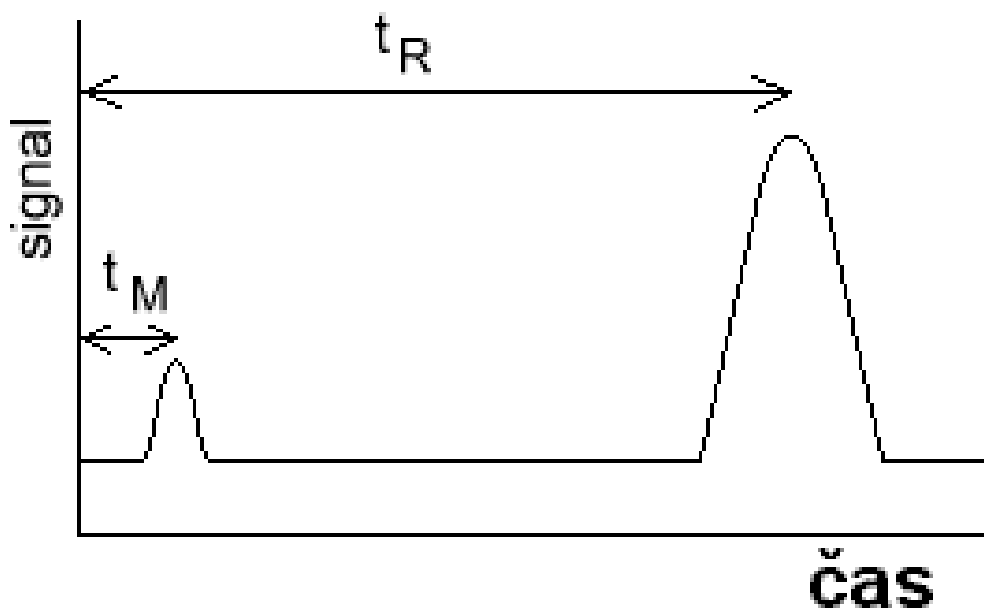
schéma HPLC.

Dnes se prakticky výlučně používá kolonové chromatografie za vysokého tlaku (HPLC)

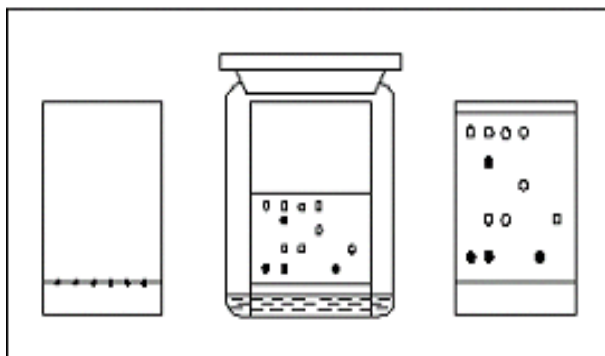


VYHODNOCENÍ CHROMATOGRAMU

Pro kvalitativní (separační) účely nás zajímá, zda se složky vzorku oddělily. Pokud chceme toto oddělení popsat kvantitativně, musíme zavést některé veličiny popisu chromatogramu: doba mezi nástřikem analytu a okamžikem, kdy analyt dosáhne detektor (umístěný za kolonou), se nazývá retenční (eluční) čas t_R . Pokud dojde k rozdělení analytů (o to se většinou snažíme), každý analyt ve vzorku (směsi) bude mít různý retenční čas. Čas, kdy od okamžiku nástřiku dojde k detektoru MF (tedy nezadržovaná složka), se nazývá mrtvý čas t_M . Protože složky procházejí kolonou a přicházejí do detektoru jako zóny s největší koncentrací uprostřed, záznamem detektoru je nejčastěji chromatografický PÍK. Maximum píku (signálu) souvisí s maximem koncentrace zóny a v maximum píku obvykle odečítáme retenční čas. t_R a t_M se tedy získají z grafického záznamu signálu detektoru na čase = z chromatogramu (viz obrázek).



(TLC) TENKOVrstVÁ CHROMATOGRafIE

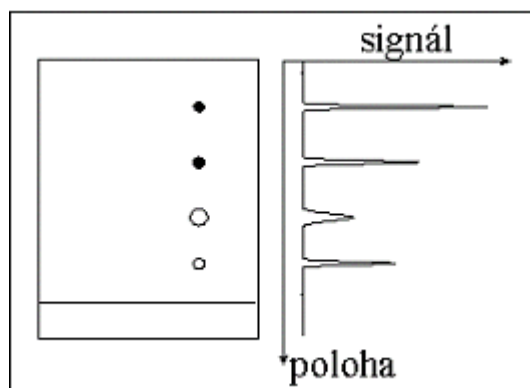
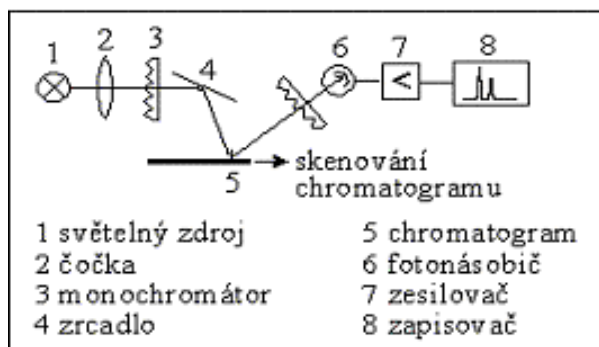
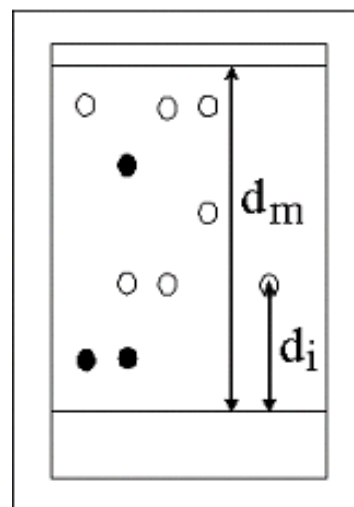


TLC je jednoduchá, rychlá a často používaná chromatografická metoda, často sloužící k rychlé kontrole čistoty separovaného analytu, patří mezi techniky kapalinové chromatografie (LC). Tenkovrstvou chromatografií lze realizovat podobně jako chromatografii v otevřené koloně, ikdyž na tenké vrstvě je podstatně méně stacionární fáze, a tudíž analýza na tenké vrstvě může být **velmi rychlá** v porovnání s kolonou.

Vyvíjení probíhá obvykle v uzavřené komoře (atmosféra nasycená parami mobilní fáze), kde chromatografická deska stojí smočena ve vrstvě mobilní fáze, která vzlíná vzhůru. Tak pozorujeme čelo MF – vyvíjení ukončíme dříve, než čelo dosáhne konce desky. Charakteristikou skvrny je poměr d_i/d_m . Vzorky rozpuštěné v těkavém rozpouštědle se nanáší na start. Nanášíme 0,1% až 5% roztoky v množství 200 nl až 20 μ l do skvrn o průměru 2 až 6 mm.

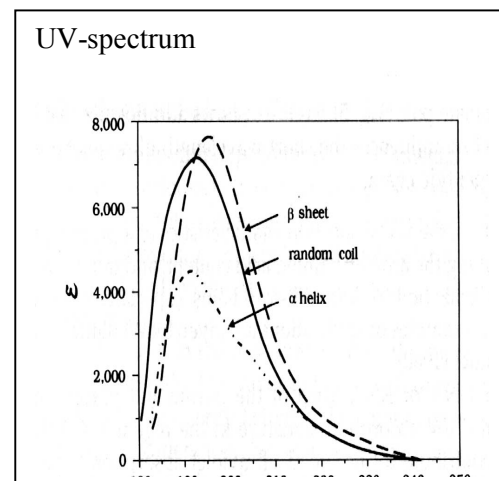
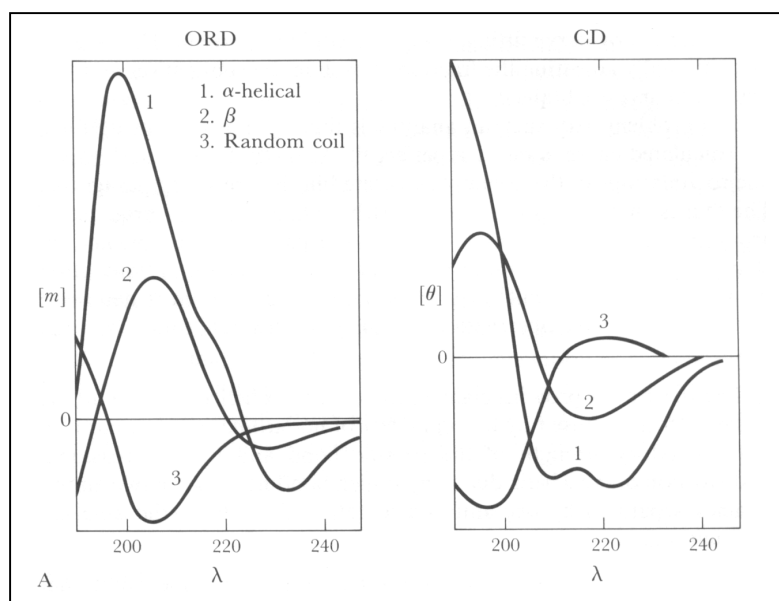
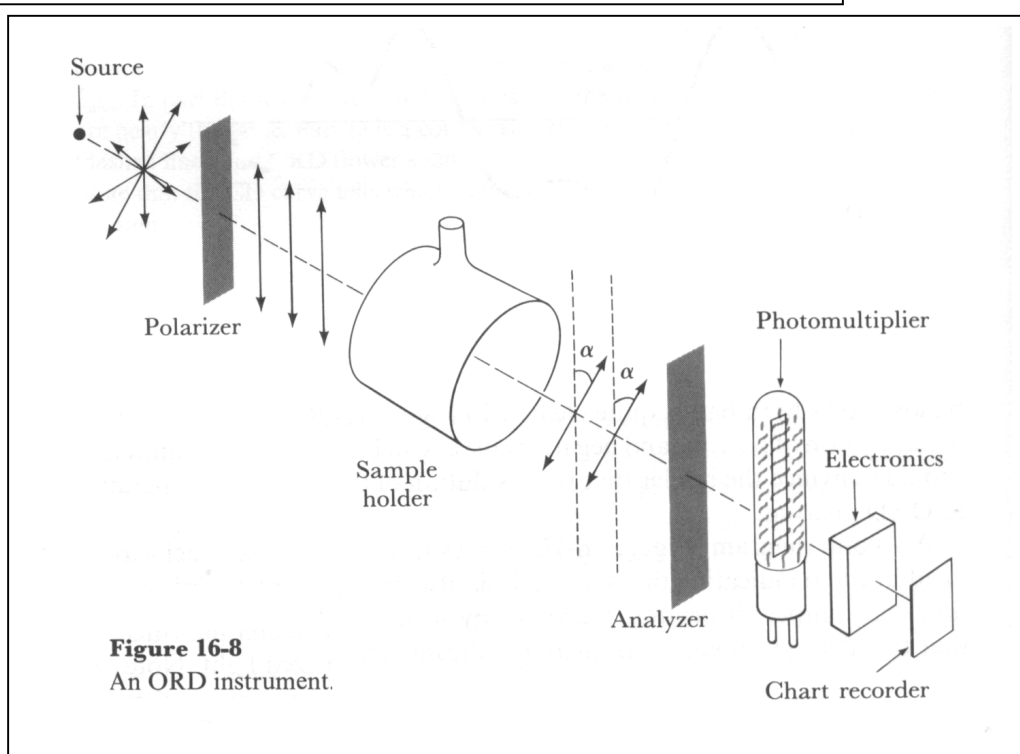
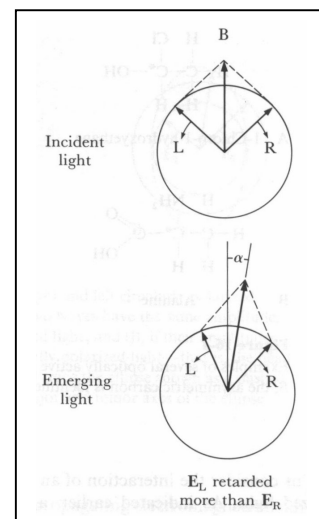
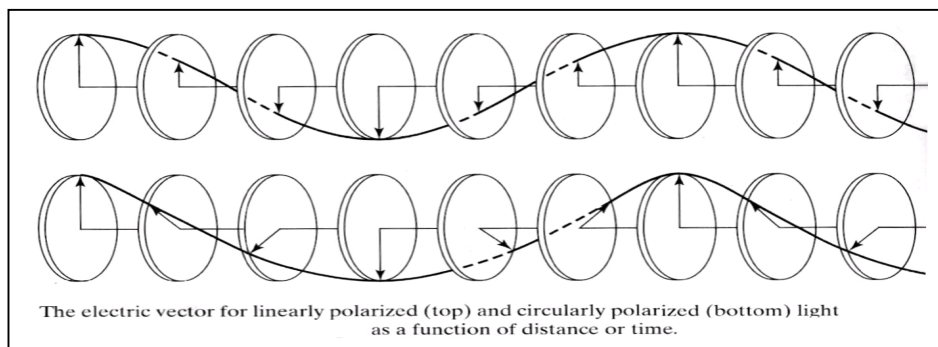
Všechny nanesené látky se musí objevit mezi startem a čelem rozpouštědla. Stacionární fáze jsou nanášeny na skleněných deskách nebo jednodušeji na hliníkových fóliích (ty se dají stříhat). Tenké vrstvy mohou obsahovat fluorescenční indikátor UV254 k usnadnění detekce analyzovaných látek (nepřímá detekce). Používají se prakticky všechny **stacionární fáze** jako pro kolonovou chromatografii se zrnitostí 5 až 40 μ m: oxid hlinitý, silikagel, celulóza, iontoměnič, polyamid a silikagel s -C18, -NH₂ nebo -CN skupinami.

Mobilní fáze: cyclohexan, toluen, chloroform, dichlormetan, aceton, ethanol, methanol, voda, amoniak, kyselina octová a jejich směsi.



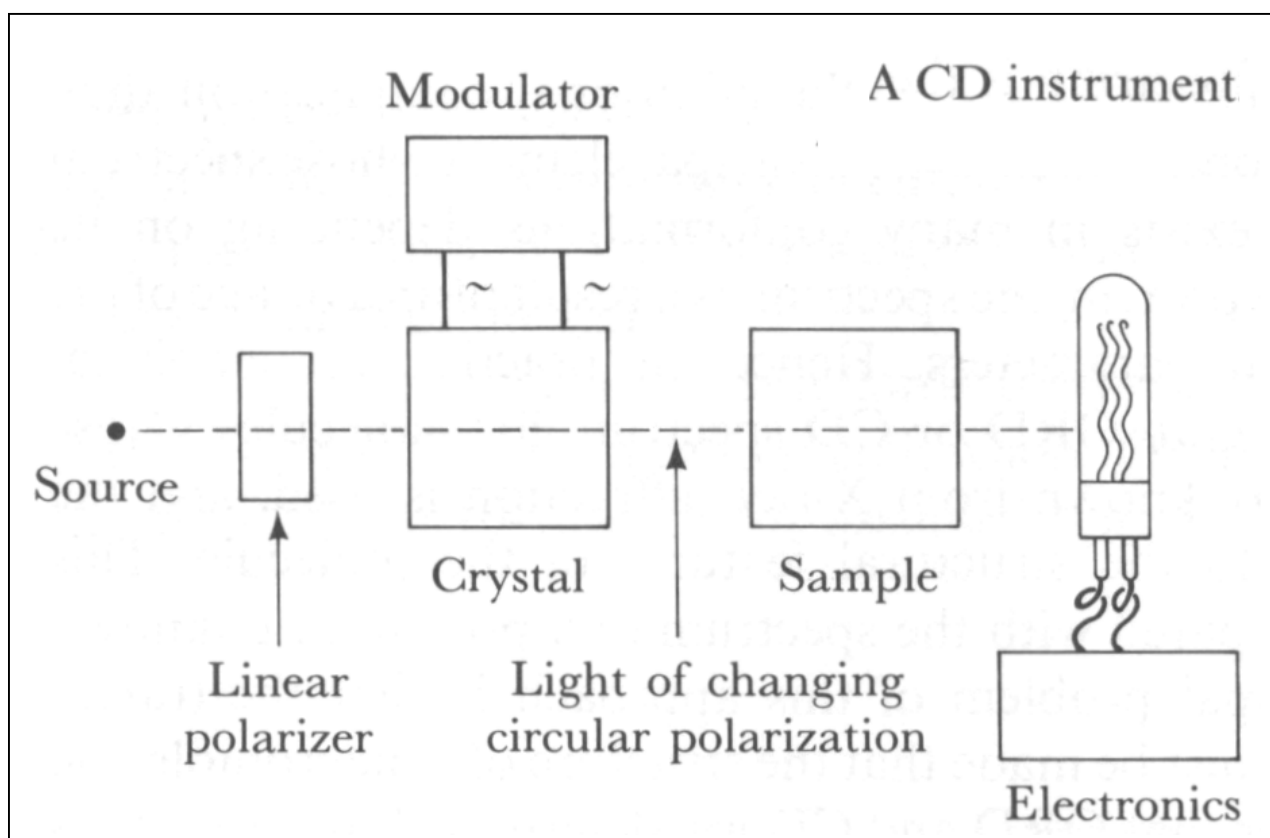
OPTICKÁ ROTAČNÍ DISPERZE (ORD)

měříme závislost úhlu otočení lineárně polarizované světla na vlnové délce



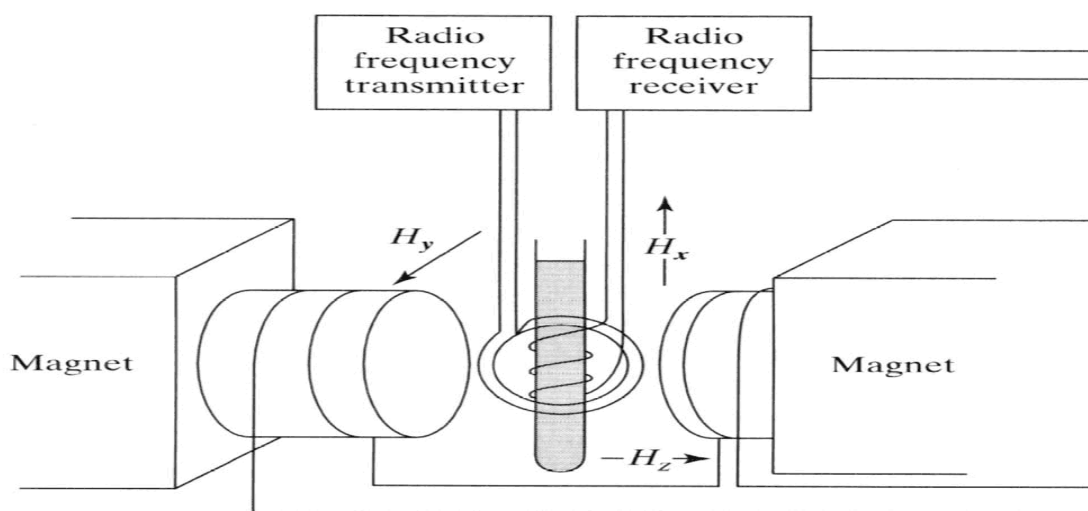
CIRKULÁRNÍ DICHROISMUS (CD)

Cirkulární dichroismus: anisotropie absorpce cirkulárně polarizovaného světla. Levotočivá a pravotočivá složka polarizovaného světla jsou různě absorbovány prostředím (analytem) – na obrázku by měly vektory L a R různou délku.



Oblast použití ORD a CD: určování struktury bílkovin (oligomerů, polymerů)

NUKLEÁRNÍ MAGNETICKÁ REZONANCE (NMR) viz další přednáška



A simplified diagram of a continuous wave NMR

HMOTNOSTNÍ SPEKTROSKOPIE (MS) viz další přednáška o interpretaci spekter

