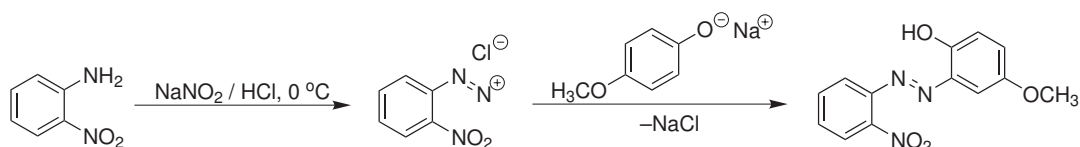


## 4-Methoxy-2-(2'-nitrofenylazo)fenol

### Reakce:

Reakcí primárních aminů a kyseliny dusité v kyselém prostředí vznikají diazoniové soli. Roztoky aromatických diazoniových solí jsou stále pouze při nízkých teplotách. Diazoniové soli jsou slabé elektrofilny, elektrofilní aromatickou substitucí aromátů bohatých na elektronovou hustotu vznikají často barevné azosloučeniny.



### Postup:

V kádince o objemu 250 cm<sup>3</sup> smísíme **0,02 mol** hydroxidu sodného, **0,1 mol** uhlíkatu sodného, **0,02 mol** 4-methoxyfenolu a **60 cm<sup>3</sup>** vody, směs zahříváme (nevařit!) a mícháme v digestoři. Vzniklý roztok potom ochladíme na **0 °C**. V další kádince o objemu **100 cm<sup>3</sup>** si připravíme roztok diazoniové soli – **0,02 mol** *o*-nitroanilinu důkladně rozmícháme s **5,4 cm<sup>3</sup>** 35% kyseliny chlorovodíkové a přidáme **10 g** ledu. Pak pomalu za míchání přilijeme ochlazený roztok **1,5 g** dusitanu sodného v **5 cm<sup>3</sup>** vody, který jsme připravili v další kádince o objemu 50 cm<sup>3</sup>. Suspenzi intenzivně mícháme **15 minut**, aby došlo k úplnému rozpuštění *o*-nitroanilinu. Ukončení reakce indikujeme pomocí jodidoškrobového papírku. Stále kontrolujeme teplotu směsi, která by se měla pohybovat v rozmezí **0–5 °C**. Připravenou diazoniovou sůl poté zfiltrujeme přímo do již dříve připraveného roztoku 4-methoxyfenolátu sodného ochlazeného na teplotu nižší než **10 °C**. Filtrační nálevku **předchladíme** v ledové drti. **Teplotu diazoniové soli během filtrace udržujeme stále v rozmezí 0 až 5 °C** tak, že přímo na filtr ve filtrační nálevce přidáváme kousky ledu. Během filtrace roztok 4-methoxyfenolátu sodného **neustále intenzivně mícháme**. Po přikapání diazoniové soli necháme temně fialovou suspenzi azobarviva stát asi **30 minut** za laboratorní teploty za občasného promíchání. Barvivo odsajeme a důkladně promyjeme vodou. Část surového produktu (**60 mg**) přečistíme pomocí sloupcové chromatografie, zbytek barviva rekrystalizujeme z ethanolu s využitím aktivního uhlí jako sorbentu. Několik krystalů surového produktu však uchováme pro stanovení teploty tání a jako srovnávací vzorek pro tenkovrstvou chromatografii. Stanovíme teploty tání surového, rekrystalizovaného a chromatografií čistěného barviva a vzorky také analyzujeme pomocí tenkovrstvé chromatografie na vrstvě silikagelu s toluenem jako mobilní fází. Výsledky srovnáme a určíme, která čistící metoda je účinnější.

### Vlastnosti:

Tabelovaná hodnota teploty tání produktu je 133–135 °C.

### Doplňující otázky:

1. Proč provádíme kopulaci v slabě alkalickém prostředí? Proč by však reakce prostředí neměla být silně alkalická?
2. Do jaké skupiny reakcí byste kopulaci zařadili?
3. Proč musíme při přípravě diazoniové soli udržovat teplotu v rozmezí 0 až 5 °C?
4. Vysvětlete funkci jodidoškrobového papírku.
5. Připravené azobarvivo – 4-methoxy-2-(2'-nitrofenylazo)fenol – může existovat v několika tautomerních formách. Pokuste se nakreslit jejich struktury.

### Dělení produktů reakce pomocí sloupcové chromatografie:

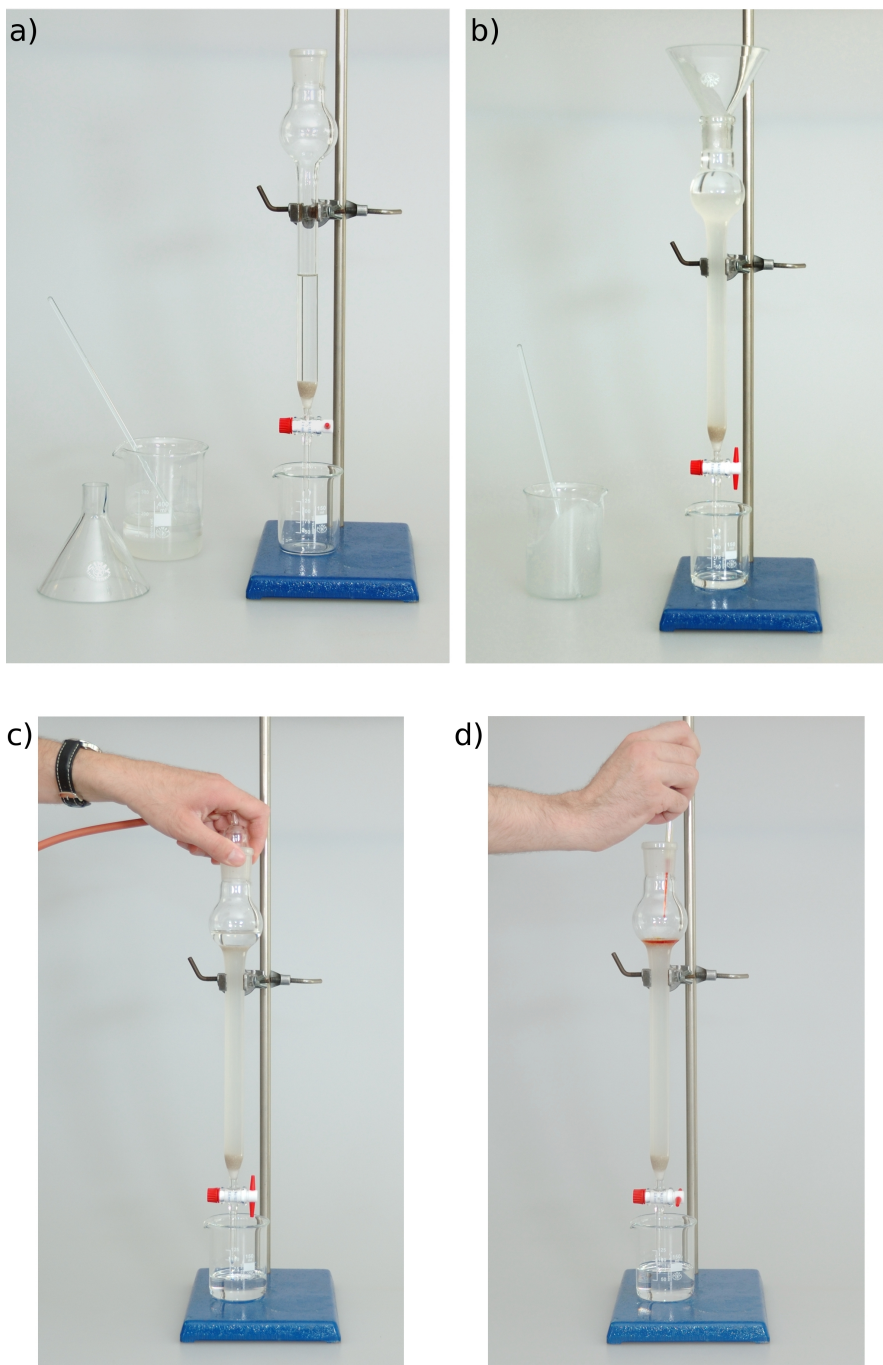
Produkty reakce budeme separovat na sloupci silikagelu s užitím toluenu jako mobilní fáze. Při provádění sloupcové chromatografie obvykle používáme množství silikagelu odpovídající přibližně třicetinásobku hmotnosti separované látky, v našem případě bude poměr vyšší. Chromatografickou kolonu budeme plnit suspenzí sorbentu v rozpuštědle, což je metoda obvykle užívaná pro silikagelové sloupce. Abychom dosáhli co nejlepší dělicí účinnosti, udržujeme naplněnou chromatografickou kolonu v dostatečné vzdálenosti od zdrojů tepla, také ji nevystavujeme přímému slunečnímu světlu. Jednotlivé fáze dělení látek pomocí sloupcové chromatografie jsou zachyceny na obrázcích 36a–l.

1. Na stojan upevníme ve svislé pozici plášť chromatografické kolony. Trubičku vedoucí ke kohoutu ucpeme smotkem vaty, vatu pečlivě upěchujeme dlouhou skleněnou tyčinkou tak, aby mezerami nemohly unikát pevné části náplně kolony. Zúženou část dna kolony nad vatovou ucpávkou pak vyplníme mořským pískem.
2. Mořský písek na dně kolony převrstvíme asi **10 cm** vysokým sloupcem mobilní fáze. Je potřeba postupovat opatrně, aby nedošlo k rozvíření mořského písku. Pokud vzniknou nerovnosti na povrchu mořského písku, je možné jej vyrovnat opatrným poklepáním na plášť kolony (Obrázek 36a).
3. Do kádinky o objemu 400 cm<sup>3</sup> navážíme silikagel (**23–24 g**), silikagel smísíme s malým množstvím mobilní fáze a vzniklou suspenzí důkladně mícháme několik minut, až přestanou ze silikagelu unikat bublinky a silikagel je dobře smáčen mobilní fází. Suspenzi můžeme na několik minut ponořit do ultrazvukové lázně pro urychlení procesu.
4. Přes širokou násypku vlijeme pomalu suspenzi silikagelu do kolony, je potřeba postupovat opatrně, aby nedošlo k rozvíření mořského písku na dně a silikagel v koloně sedimentoval rovnoměrně. Celou dobu přilévání suspenzi v kádince mícháme tyčinkou, aby nedošlo k jejímu usazení. Po vlití suspenze otevřeme

kohout kolony a necháme mobilní fázi odcházet do čisté kádinky a sledujeme usazování silikagelu (Obrázek 36b). Po usazení silikagelu by měla nad jeho sloupcem zůstat několikacentimetrová vrstva mobilní fáze. Na konec chromatografické kolony nasadíme redukci s pryžovým balonkem, stlačením balonku zvýšíme tlak nad sloupcem mobilní fáze, čímž se urychlí odtok mobilní fáze. Zavřeme kohout v okamžiku, kdy nad sloupcem silikagelu zbývají asi 2 cm mobilní fáze (Obrázek 36c). **Při všech operacích dbáme na to, aby sloupec silikagelu nevyschnul a nedošlo tak ke znehodnocení naplněné kolony!** Na sloupec silikagelu položíme kolečko filtračního papíru a poté nasympeme asi půlcentimetrovou vrstvu mořského písku. Pokud s chromatografickou kolonou nepracujeme, uzavřeme ji zábrusovou zátkou, aby mobilní fáze nevysychala.

5. Ve zkumavce rozpustíme **50–60 mg** surového produktu v **0,5 cm<sup>3</sup>** mobilní fáze. Otevřeme kohout chromatografické kolony a necháme odtékat mobilní fázi tak dlouho, až vyschne mořský písek na sloupci silikagelu. **Pozor, nesmí dojít k vyschnutí samotného silikagelu!** Roztok látky v mobilní fázi nanese rovnoměrně pomocí pipety na vrstvu mořského písku (Obrázek 36d). Opět necháme odtéct takové množství mobilní fáze, až dojde k vyschnutí mořského písku. Mořský písek opatrně převrstvíme pomocí pipety malým množstvím mobilní fáze, otevřeme kohout a opět vypouštíme mobilní fázi do vyschnutí mořského písku (Obrázek 36e). Postup opakujeme tak dlouho, až se mobilní fáze, kterou převrstvujeme písek, nebarví dělenou směsí barviv. V tomto okamžiku můžeme nad sloupec silikagelu nalít větší množství mobilní fáze a začít s chromatografickým dělením (Obrázek 36f).
6. Otevřeme kohout kolony a vycházející mobilní fázi zachycujeme do čisté kádinky. Pozorujeme pohyb barevných zón sloupcem kolony s proudem mobilní fáze (Obrázek 36g). Díky tomu, že separované látky jsou barevné, můžeme se přesvědčit o nedokonalostech v plnění chromatografické kolony. Po dobrém naplnění by ve sloupci neměly zůstat kanálky, kterými by mohla kapalina proudit rychleji, či dokonce bublinky vzduchu. Mobilní fáze by měla proudit v celém průřezu sloupce stejně rychle. Když se první barevná zóna přiblíží k spodnímu konci kolony, začneme roztok vytékající k kolony jímat do očíslovaných zkumavek, malých kádinek nebo Erlenmeyerových baněk (Obrázek 36h). Velikost jednotlivých frakcí by měla být 10–15 cm<sup>3</sup> (Obrázek 36i). V jímání pokračujeme tak dlouho, až je z kolony vymyt produkt reakce. Pravidelně sledujeme výšku hladiny mobilní fáze a mobilní fázi podle potřeby doplňujeme, aby nedošlo k vyschnutí sloupce silikagelu (Obrázek 36j).
7. Analyzujeme zachycené frakce (Obrázek 36k) pomocí tenkovrstvé chromatografie (TLC). Na jednu TLC destičku nanese vedle sebe jednotlivé frakce a pro srovnání také roztok surového produktu. Identifikujeme frakce obsahující pouze žádaný produkt, tyto frakce spojíme a roztok pečlivě odpaříme na rotační vakuové odparce.

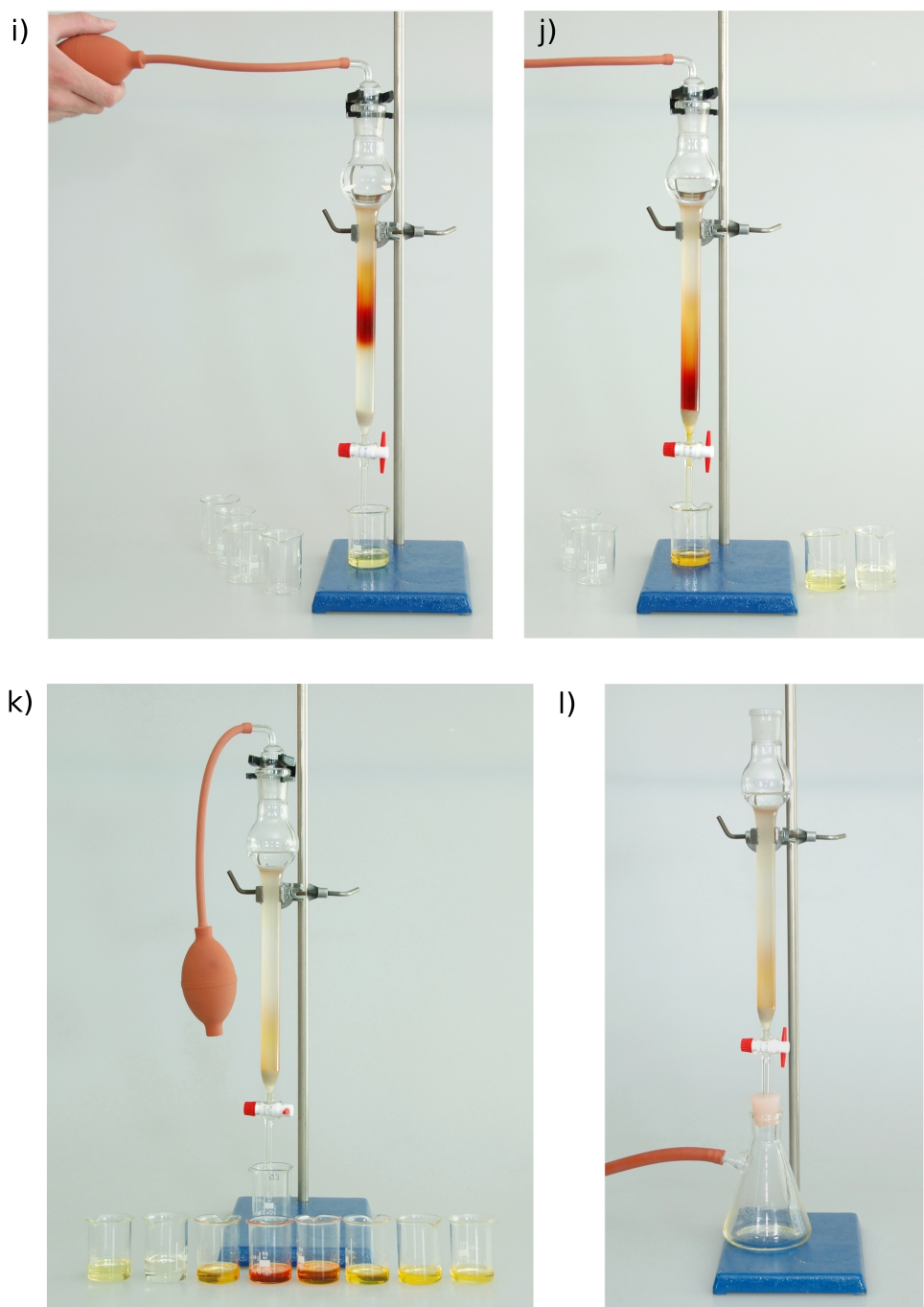
8. Stanovíme výtěžek čistého produktu a jeho teplotu tání. Provedeme také tenkovrstvou chromatografi, pomocí které srovnáme složení surového produktu, rekrystalizovaného produktu a produktu získaného z chromatografického dělení. Stanovíme také  $R_f$  hlavního produktu reakce. V protokolu poté výsledky okomentujeme!
9. Po skončení chromatografického dělení necháme vytéct všechnu mobilní fázi z kolony, poté na vývod kolony nasadíme zátku s vyvrtným otvorem a nasadíme na odsávací baňku. Baňku připojíme ke zdroji vakua a necháme sloupcem silikagelu procházet vzduch tak dlouho, až dojde k jeho vyschnutí (Obrázek 361). Poté silikagel vysypeme do nádoby na chemické odpady.
10. Všechny odpadní roztoky obsahující toluen stejně jako toluen odpařený na rotační vakuové odparce lijeme do označených odpadních lahví!



Obrázky 36a–d: Dělení azobarviv pomocí sloupcové chromatografie.



Obrázky 36e–h: Dělení azobarviv pomocí sloupcové chromatografie.



Obrázky 36i–l: Dělení azobarviv pomocí sloupcové chromatografie.