

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**  
**Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής**  
**Εργαστήριο Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ**  
**Β' Εξάμηνο**

*Δρ Κουλοχέρη Σοφία, Ε.Δι.Π.*

**Αθήνα 2023**



## Περιεχόμενα

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ .....	1
ΚΑΝΟΝΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ .....	5
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ.....	13
1 <sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ .....	25
ΕΚΧΥΛΙΣΗ-ΔΙΗΘΗΣΗ.....	25
ΠΕΙΡΑΜΑ 1Α .....	29
ΠΕΙΡΑΜΑ 1Β .....	33
ΠΕΙΡΑΜΑ 1Γ.....	36
ΠΕΙΡΑΜΑ 1Δ .....	38
2 <sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ .....	41
ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ.....	41
ΠΕΙΡΑΜΑ 2Α .....	51
ΠΕΙΡΑΜΑ 2Β .....	53
3 <sup>η</sup> ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ.....	55
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ .....	55
ΠΕΙΡΑΜΑ 3 .....	62
4 <sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ .....	64
ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ.....	64
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ .....	64
ΠΕΙΡΑΜΑ 4Α.....	69
ΠΕΙΡΑΜΑ 4Β.....	71
5 <sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ.....	73
ΣΑΚΧΑΡΑ.....	73
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΛΔΟΖΩΝ – ΚΕΤΟΖΩΝ - ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ .....	73
ΠΕΙΡΑΜΑ 5Α .....	75
ΠΕΙΡΑΜΑ 5Β .....	77
ΠΕΙΡΑΜΑ 5Γ.....	80
ΠΕΙΡΑΜΑ 5Δ .....	82
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	85



**ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ**  
**ΟΔΗΓΙΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΚΤΕΛΕΣΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ**

**1. Η ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΤΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΕΙΝΑΙ ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ**

**2. Απαραίτητο Εργαλείο ενός εκπαιδευόμενου σε ένα Χημικό Εργαστήριο είναι το ΦΥΛΛΟ ΕΡΓΑΣΙΑΣ!**

Στην πρώτη σελίδα του Φύλλου Εργασίας με Κεφαλαία Γράμματα πρέπει να αναγράφονται:

- i. Το ονοματεπώνυμο του εκπαιδευόμενου
- ii. Ο αριθμός μητρώου
- ii. Το εξάμηνο φοίτησης
- iii. Τα στοιχεία της Εργαστηριακής Ομάδας (Αριθμός Ομάδας, Ημέρα Άσκησης (Δευτέρα, Τρίτη, ), Ώρα Άσκησης)

**A. ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΚΑΘΕ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ:**

**1. ΠΑΝΤΑ ΜΕΛΕΤΑΤΕ το πείραμα πριν προσέλθετε στο εργαστήριο.**

**Βεβαιωθείτε ότι έχετε ΚΑΤΑΝΟΗΣΕΙ ΠΛΗΡΩΣ όλα τα βήματα του πειράματος.**

Δηλαδή πώς χρησιμοποιούνται τα χημικά αντιδραστήρια και τα γυάλινα σκεύη ποιες είναι οι αντιδράσεις που θα πραγματοποιήσετε και πώς προκύπτουν τα προϊόντα που θα παρασκευάσετε-παρατηρήσετε.

Σημειώστε τυχόν ερωτήσεις που έχετε, ώστε να μπορείτε να ρωτήσετε πριν από την έναρξη του εργαστηρίου.

Αν δεν είστε σίγουροι για την εκτέλεση κάποιου πειράματος να απευθύνεστε στον εκπαιδευτή σας.

**Πριν την έναρξη κάθε Εργαστηριακής Άσκησης θα πραγματοποιείται ολιγόλεπτη εξέταση.**

**2. Μελετάτε τα Δελτία Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού (MSDS) των χημικών ενώσεων που θα πρέπει να χρησιμοποιήσετε κατά τη διάρκεια της Εργαστηριακής Άσκησης.**

**Μεταφέρετε στο Φύλλο Εργασίας τα σημαντικότερα Δεδομένα του Δελτίου.**

**Όποιος δεν έχει εντοπίσει και καταγράψει τα MSDS των αντιδραστηρίων δεν επιτρέπεται να παρακολουθήσει την Άσκηση.**

**3. Ξεκινάτε συμπληρώνοντας το Φύλλο Εργασίας με πληροφορίες σχετικά με το πείραμα:**

- ✓ υαλικά που χρειάζονται
- ✓ χημικά,
- ✓ μεθοδολογία

**4. Καταστρώνετε ένα πίνακα δεδομένων εκ των προτέρων, έτσι ώστε το μόνο που απαιτείται να κάνετε στο εργαστήριο είναι να προσθέσετε τα πειραματικά σας αποτελέσματα.**

**Σε περίπτωση που κάποιος δεν έχει ολοκληρώσει την προετοιμασία του εργαστηρίου δεν επιτρέπεται να παρακολουθήσει την άσκηση.**

#### **B. ΚΑΤΑ ΤΗ ΔΙΑΡΚΕΙΑ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΑΣΚΗΣΗΣ:**

**1. Η έγκαιρη παρουσία στο εργαστήριο είναι ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ!**

**Σε περίπτωση που κάποιος καθυστερήσει να προσέλθει στον Εργαστηριακό Χώρο δεν επιτρέπεται να παρακολουθήσει την Εργαστηριακή Άσκηση.**

**2. ΕΧΕΤΕ ΜΑΖΙ ΣΑΣ τις Εργαστηριακές σημειώσεις, το Φύλλο Εργασίας της Άσκησης, ένα στυλό και ένα κομπιουτεράκι.**

**3. Έχετε πάντα μαζί σας την Εργαστηριακή σας Ρόμπα. Ο υπόλοιπος εξοπλισμός ασφαλείας, δηλαδή Γυαλιά Ασφαλείας και Γάντια μίας χρήσης θα σας παρέχετε από το εργαστήριο.**

- Πριν την Έναρξη της Εργαστηριακής Άσκησης βεβαιωθείτε ότι έχετε στην εργαστηριακή θέση όλα τα γυάλινα σκεύη, τα υλικά και τις χημικές ουσίες που απαιτούνται για να ολοκληρωθεί το εργαστήριο.
- Η καταγραφή των Δεδομένων γίνεται μέσα στο Εργαστήριο και όχι μετά.  
Να καταγράφετε τα δεδομένα απευθείας στο Φύλλο Εργασίας. **Να αποφεύγετε τη μεταφορά δεδομένων από συνεργάτες ή από πρόχειρο τετράδιο.**

Να είστε πάντα έτοιμοι για να καταγράψετε τα δεδομένα και τις παρατηρήσεις σας.

**Σωστά συμπληρωμένα Φύλλα Εργασίας διευκολύνουν τόσο στην εκτέλεση των Εργαστηριακών Ασκήσεων όσο και στη μελέτη.**

- Μην πετάτε αντικείμενα στα σκουπίδια ή υγρά στο νεροχύτη, αλλά στα δοχεία διάθεσης απορριμμάτων, αφού ενημερωθείτε από τον υπεύθυνό σας.
- Στο τέλος της Εργαστηριακής Άσκησης να πλένετε τα γυάλινα σκεύη που χρησιμοποιήσατε και να αφήνετε την εργαστηριακή σας θέση στην κατάσταση που την παραλάβατε.

**Όσοι δεν συμμορφώνονται με τον κανόνα αυτόν θα θεωρείται ότι δεν ολοκλήρωσαν επιτυχώς την άσκησή τους.**





## ΚΑΝΟΝΕΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Είναι **ΕΠΙΒΕΒΛΗΜΕΝΗ Η ΤΗΡΗΣΗ** των **ΚΑΝΟΝΩΝ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ**, που ακολουθούνται σε ένα Εργαστήριο Χημείας. Στόχος είναι τόσο η ασφάλεια των φοιτητών που ασκούνται όσο και του προσωπικού του Εργαστηρίου.

- **Επιβάλλεται να είστε πάντοτε ιδιαίτερα ΣΧΟΛΑΣΤΙΚΟΙ και ΠΡΟΣΕΚΤΙΚΟΙ κατά τη διάρκεια της παρουσίας σας στο εργαστήριο.** Ακόμα κι αν δεν είστε αδέξιοι, κάποιος άλλος στο εργαστήριο πιθανότατα να είναι...

### A. ΕΝΔΥΜΑΣΙΑ

1. **Να φοράτε γάντια!** Αποτρέπουν την άμεση επαφή με τα χημικά.
2. **Να φοράτε ΠΑΝΤΑ τα γυαλιά ασφαλείας στο εργαστήριο!!** Τα σταγονίδια χημικών αποτελούν ίσως το πιο σημαντικό και συχνό κίνδυνο σε ένα χημικό εργαστήριο και τα μάτια είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα.
3. **Απαγορεύεται να φοράτε φακούς επαφής στο εργαστήριο!** Τα γυαλιά ασφαλείας προστατεύουν από τα σταγονίδια αλλά όχι από τους ατμούς των χημικών που μπορούν να προκαλέσουν τη ξήρανση των φακών επαφής, με αποτέλεσμα την αδυναμία απομάκρυνσής τους. Επιπλέον, οι φακοί επαφής μπορούν να απορροφήσουν χημικά που με τη σειρά τους έχουν τη δυνατότητα να προκαλέσουν ανεπανόρθωτη ζημιά στα μάτια.
4. **Να φοράτε ΠΑΝΤΑ την εργαστηριακή ρόμπα!** Οι ειδικά κατασκευασμένες ρόμπες προστατεύουν τα ενδύματα από τα επικίνδυνα χημικά.
5. **Μην φοράτε σανδάλια, ανοιχτά και ψηλοτάκουνα παπούτσια στο εργαστήριο.** Με τον τρόπο αυτό προστατεύετε τα πόδια από τα σταγονίδια χημικών. Επιπλέον, τα ψηλοτάκουνα μπορούν να προκαλέσουν απώλεια της ισορροπίας.



6. **Μην φοράτε κοντά παντελόνια και φούστες στο εργαστήριο.** Στόχος είναι η ελαχιστοποίηση των εκτεθειμένων τμημάτων του σώματος σε χημικά. Η καλύτερη κάλυψη του σώματος μειώνει τις πιθανότητες επαφής του με τα χημικά.
7. **Να αποφεύγετε τα κοσμήματα στο χώρο του εργαστηρίου.** Χημικά που εξατμίζονται μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση στα κοσμήματα.
8. **Να αποφεύγετε ρούχα με φαρδιά μανίκια, φουλάρια και κασκόλ** που μπορεί να εμβαπτιστούν σε χημικά, να πάρουν φωτιά ή να παρασύρουν εργαστηριακά σκεύη.
9. **Να αποφεύγετε τα ακριβά και τα συνθετικά ρούχα.** Πάντα υπάρχει η πιθανότητα καταστροφής τους. Τα συνθετικά ρούχα μπορούν να καταστραφούν από ατμούς διαλυτών.
10. **Τα μακριά μαλλιά πρέπει να είναι δεμένα.** Τα μαλλιά υπάρχει κίνδυνος να καούν ή και να έρθουν σε επαφή με τα χημικά.
11. **Δεν πρέπει να ακούτε μουσική** (ραδιόφωνο κ.α.) **και να χρησιμοποιείτε ακουστικά** γιατί αποτρέπουν την ορθή παρακολούθηση των οδηγιών.
12. **Να αποφεύγετε τη βαριά ένδυση (μπουφάν, παλτό)!** Πρέπει να υπάρχει ελευθερία κινήσεων.

## **B. ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ**

1. **Επισημάνετε και απομνημονεύστε στον Εργαστηριακό Χώρο τον εξοπλισμό ασφαλείας!** Πιθανόν κάποιοι από εσάς να έχουν την ανάγκη του!

### **Πρέπει να γνωρίζετε τις θέσεις:**

- της κουβέρτας για τη φωτιά,
- των πυροσβεστήρων (και τα είδη τους),
- του χώρου όπου γίνεται το πλύσιμο των ματιών και του ντους,
- του φαρμακείου.

2. **Διαβάστε τις πληροφορίες ασφαλείας των χημικών αντιδραστηρίων!** Αναγράφονται στο Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού **(M)SDS** [*Material Safety Data Sheet*] που συνοδεύει κάθε χημική ένωση που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί στο εργαστήριο.

Ένα Ευρωπαϊκό Φύλλο Δεδομένων Ασφαλείας αποτελείται από τα ακόλουθα δεκαέξι Τμήματα :

1. Στοιχεία ουσίας/παρασκευάσματος και της επιχείρησης/εταιρείας

- στοιχεία της ουσίας ή του παρασκευάσματος (εδώ αναγράφεται το χημικό όνομα του προϊόντος) • πλήρη Στοιχεία της επιχείρησης/εταιρείας διάθεσης • αριθμός κλήσης ανάγκης
2. Σύσταση/στοιχεία για τα συστατικά του
  3. Προσδιορισμός των κινδύνων (Hazards)
  4. Πρώτες βοήθειες λόγω
    - εισπνοής • επαφής με το δέρμα ή τα μάτια • κατάποσης
  5. Μέτρα για την καταπολέμηση πυρκαϊάς
    - Ειδικές απαιτήσεις πυρόσβεσης
  6. Μέτρα για την αντιμετώπιση τυχαίας έκλυσης
    - προσωπικές προφυλάξεις • περιβαλλοντικές προφυλάξεις • μέθοδοι καθαρισμού
  7. Χειρισμός και αποθήκευση
  8. Έλεγχος της έκθεσης στο προϊόν/ατομική προστασία
    - μηχανολογικά μέτρα. • διαδικασία παρακολούθησης και οριακές τιμές • μέτρα ατομικής προστασίας
  9. Φυσικές και Χημικές ιδιότητες
    - όψη (φυσική κατάσταση και χρώμα) • οσμή (αν μπορεί να γίνει) • pH • σημείο ζέσεως/περιοχή ζέσεως ή σημείο τήξεως/περιοχή τήξεως • σημείο αναφλέξεως • αναφλεξιμότητα και αυτοαναφλεξιμότητα • εκρηκτικές ιδιότητες • οξειδωτικές ιδιότητες • τάση ατμών • σχετική πυκνότητα • διαλυτότητα • συντελεστής κατανομής • Άλλα δεδομένα (πυκνότητα ατμών, ταχύτητα εξάτμισης, αγωγιμότητα, ιξώδες κλπ)
  10. Σταθερότητα και δραστικότητα
  11. Τοξικολογικά στοιχεία
  12. Οικολογικά στοιχεία
    - κινητικότητα • σταθερότητα και αποικοδόμηση • βιοσυσσώρευση • τοξικότητα σε οργανισμούς (υδρόβιους και του εδάφους) • συντελεστές πιθανής καταστροφής όζοντος, φωτοχημικής δημιουργίας όζοντος και δυναμικό πλανητικής αύξησης της θερμοκρασίας • επίδραση στις εγκαταστάσεις καθαρισμού λυμάτων

- 13. Εξάλειψη
- 14. Στοιχεία σχετικά με τη μεταφορά
- 15. Στοιχεία σχετικά με τις κανονιστικές διατάξεις
- 16. Άλλα στοιχεία



NFPA rating label by SafetySign.com

Διαβάστε τους κινδύνους και ακολουθήστε τις συστάσεις για την ασφαλή χρήση των χημικών αντιδραστηρίων.

### Παλαιότερη Σήμανση



## Νεότερη Σήμανση



### CORROSION

- Skin Corrosion/Burns
- Eye Damage
- Corrosive to Metals



### EXCLAMATION MARK

- Irritant (skin and eye)
- Skin Sensitizer
- Acute Toxicity
- Narcotic Effects
- Respiratory Tract Irritant
- Hazardous to Ozone Layer (Non-Mandatory)



### EXPLODING BOMB

- Explosives
- Self-Reactives
- Organic Peroxides



### SKULLS & CROSSBONES

- Acute Toxicity (fatal or toxic)



### FLAME

- Flammables
- Pyrophorics
- Self-Heating
- Emits Flammable Gas
- Self-Reactives
- Organic Peroxides



### GAS CYLINDER

- Gases Under Pressure



### ENVIRONMENT

- Aquatic Toxicity



### HEALTH HAZARDS

- Carcinogen
- Mutagenicity
- Reproductive Toxicity
- Respiratory Sensitizer
- Target Organ Toxicity
- Aspiration Toxicity



### FLAME OVER CIRCLE

- Oxidizers

*OSHA's brief on hazardous chemical labeling requirements.*

3. **Ελέγχετε πάντα τον εξοπλισμό ασφαλείας!** Στην περίπτωση που παρατηρηθεί οτιδήποτε ασυνήθιστο όπως π.χ. διακοπή νερού ή κακός τρόπος φύλαξης αντιδραστηρίων (παράβαση MSDS), ενημερώνετε **ΑΜΕΣΩΣ** τον Υπεύθυνο του Εργαστηρίου.

### Γ. ΠΡΟΣΩΠΙΚΗ ΑΣΦΑΛΕΙΑ

1. **Απαγορεύονται οι αστεϊσμοί στον εργαστηριακό χώρο.** Τα αστεία μπορούν να προκαλέσουν ατύχημα αφού μπορούν να οδηγήσουν σε απώλεια συγκέντρωσης.
2. **Η ΜΕΛΕΤΗ και των Εργαστηριακών Σημειώσεων είναι ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ!**
3. **Μελετάτε τα Δελτία Δεδομένων Ασφαλείας Υλικού (MSDS)** των χημικών ενώσεων που πρόκειται να χρησιμοποιήσετε κατά τη διάρκεια της εργαστηριακής Άσκησης.

4. **Μην τρώτε ή πίνετε ή μασάτε τσίχλα στο εργαστήριο!** Όλα αυτά απορροφούν χημικά από τον αέρα που συγκεντρώνονται στον οργανισμό. Οι εργαστηριακοί πάγκοι επίσης φέρουν υπολείμματα χημικών.  
Το εργαστήριο χημείας δεν είναι κουζίνα!  
**Μην δοκιμάσετε ΠΟΤΕ τα πειράματά σας!**
5. **Μη χρησιμοποιείτε την όσφρησή σας στα χημικά!** Η έκθεση σε αυτά μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα υγείας!
6. **Απαγορεύεται η αναρρόφηση με το στόμα!** Ακόμα και φαινομενικά ακίνδυνες ουσίες μπορεί να είναι επικίνδυνες!  
**Μάθετε να χρησιμοποιείτε το Πουάρ τριών βαλβίδων ή τον πληρωτή (αντλία) σιφωνιών για τη μεταφορά των Υγρών.**
7. **Πρέπει να πλένετε καλά τα χέρια!** Στο τέλος της εργαστηριακής άσκησης τα χέρια πρέπει να πλένονται δύο φορές και ιδιαίτερα πριν το φαγητό. Επίσης, το πρόσωπο πρέπει να πλένεται κατά την επιστροφή στο σπίτι.
8. **Μην κάνετε χρήση καλλυντικών στο χώρο του εργαστηρίου.** Απαγορεύονται επίσης τα αρώματα γιατί οι πτητικές ουσίες που περιέχουν παρεμποδίζουν την ορθή λειτουργία ευαίσθητων οργάνων.
9. **Να χρησιμοποιείτε την απαγωγό εστία** στην περίπτωση που οι πληροφορίες ασφαλείας των αντιδραστηρίων το υπαγορεύουν!
10. Σε περίπτωση **ΑΤΥΧΗΜΑΤΟΣ να ενημερώνετε ΑΜΕΣΩΣ τον Υπεύθυνο του Εργαστηρίου.**
11. **Μην πιάνετε σπασμένα υαλικά με γυμνά χέρια.** Απαιτείται η χρήση σκούπας και φαρασιού για την αποκομιδή ενώ για πολύ μικρά κομμάτια σπασμένου γυαλιού χρησιμοποιείται χαρτί. **Πάντα πρέπει να ενημερώνεται ο Υπεύθυνος του Εργαστηρίου!**  
**Αποθέτετε τα σπασμένα υαλικά σε ειδικούς κάδους!**
12. **ΣΚΕΦΤΕΙΤΕ πριν απορρίψετε χημικά απόβλητα και υλικά εργαστηρίου στην αποχέτευση! ΠΑΝΤΑ να απευθύνεστε στον Υπεύθυνο Εργαστηρίου για τη σωστή διαχείριση των χημικών απόβλητων!** Μερικά χημικά απόβλητα μπορούν να οδηγούνται στην αποχέτευση, ενώ άλλα απαιτούν μια ειδική μέθοδο διαχείρισης. Σε

κάθε χημικό εργαστήριο υπάρχουν επισημασμένοι κάδοι χημικών αποβλήτων, γιατί πολλά από αυτά είναι ιδιαίτερα ΤΟΞΙΚΑ!

Απαγορεύεται η ρίψη χαρτιών, βαμβακιών και άλλων υλικών εργαστηρίου στον νεροχύτη, ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΕΙΔΙΚΟΙ ΚΑΔΟΙ ΑΠΟΘΕΣΗΣ!

**13. Να διαβάζετε πάντα ΔΥΟ ΦΟΡΕΣ τις ετικέτες των χημικών αντιδραστηρίων** πριν τα χρησιμοποιήσετε. Πολλά χημικά μοιάζουν ταυτόσημα με τη πρώτη ματιά αλλά μπορεί να διαφοροποιούνται. Πιθανό λάθος θα έχει επιπτώσεις.

**14. Μην Παίζετε ΠΟΤΕ Τους Τρελούς Επιστήμονες!!!! Μην αναμειγνύετε τυχαία χημικά! Μην αυτοσχεδιάζετε. Να εκτελείτε ΜΟΝΟ τα πειράματα που σας υποδεικνύονται.**

Επιβάλλεται η πιστή εφαρμογή των οδηγιών του Υπευθύνου του Εργαστηρίου στην εκτέλεση των Ασκήσεων. Ακόμα και τα χημικά αντιδραστήρια που θεωρούνται ασφαλή πρέπει να αντιμετωπίζονται με προσοχή. Για οποιοδήποτε επιπλέον πειραματισμό, ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΗ είναι η έγκριση και η καθοδήγηση από τον Υπεύθυνο του Εργαστηρίου.

Αντιδράσεις που φαινομενικά οδηγούν σε απλά προϊόντα μπορεί να κρύβουν δυσάρεστες εκπλήξεις.

**15. Μη χρησιμοποιείτε ποτέ αντιδραστήρια χωρίς ετικέτα!**

**16. Σε περίπτωση ανάγκης ΚΑΛΕΣΤΕ τον υπεύθυνο του εργαστηρίου!**

**17. Να αποφεύγετε να έχετε στη θέση εργασίας σας προσωπικά αντικείμενα όπως βιβλία, παλτό, τσάντες κτλ.** Μπορεί να χυθούν χημικά σε αυτά ή να προκαλέσουν φωτιά. Στον πάγκο εργασίας επιτρέπεται μόνο το Φύλλο Εργασίας, οι Εργαστηριακές Σημειώσεις, μία αριθμομηχανή και ένα στυλό.

**18. Αν νιώθετε αδυναμία/ασθένεια το αναφέρετε ΑΜΕΣΩΣ στον Υπεύθυνο του Εργαστηρίου.**

- Στη περίπτωση που ο υπεύθυνος εργαστηρίου νιώθει αδιαθεσία ή έχει χάσει τις αισθήσεις του ενημερώνετε κάποιον καθηγητή.
- Αν κάποιος συμφοιτητής σας αισθανθεί αδιαθεσία ενημερώνετε ΑΜΕΣΩΣ τον Υπεύθυνο του Εργαστηρίου και δε λαμβάνετε πρωτοβουλία.

#### **Δ. ΣΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ ΠΥΡΚΑΪΑΣ**

**1. ΟΧΙ ΠΑΝΙΚΟΣ...** ο πανικός είναι κακός σύμβουλος!!! Θυμηθείτε τις οδηγίες των εκπαιδευτών...

- 2. ΕΝΗΜΕΡΩΝΕΤΕ ΠΑΝΤΑ ΤΟΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΗ/ΥΠΕΥΘΥΝΟ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ** ο οποίος πρέπει να:
1. σημάνει συναγερμό
  2. φροντίσει να ειδοποιηθεί η Πυροσβεστική Υπηρεσία στο τηλέφωνο 199.
  3. χρησιμοποιήσει τον πλησιέστερο πυροσβεστήρα άμεσα.

### **ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ**

- 3. Αν ένα μικρό τμήμα ενδύματος πάρει φωτιά μπορεί να σβήσει χτυπώντας το.**
- 4. Αν ένα μεγάλο τμήμα ενδύματος πάρει φωτιά:**

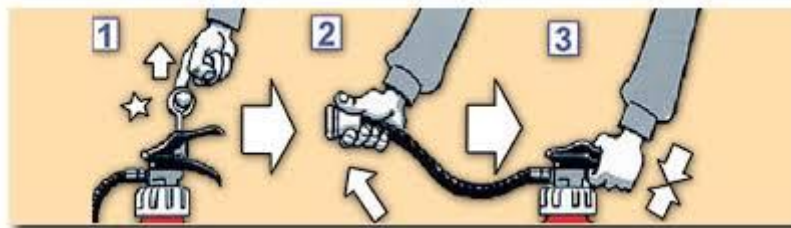
- Πέφτετε στο πάτωμα



- Χρησιμοποιείτε την κουβέρτα πυρός
  - Χρησιμοποιείτε το ντους ασφαλείας
- 5. Ποτέ δεν χρησιμοποιείτε νερό σε φωτιά που έχει προκληθεί από χημικά.** Πολλά εύφλεκτα χημικά δεν σβήνουν με το νερό και άλλα εκρήγνυνται όταν έρθουν σε επαφή με αυτό.
- 6. Αν η φωτιά έχει προκληθεί σε κάποιο δοχείο (πχ ποτήρι ζέσεως, κωνική φιάλη) καλύπτετε το στόμιο με κάποιο γυάλινο σκεύος.**
- 7. Δεν μετακινείτε οτιδήποτε καίγεται.** Στην περίπτωση που πέσει υπάρχει κίνδυνος εξάπλωσης της φωτιάς.
- 8. Μην χρησιμοποιείτε ΠΟΤΕ τον πυροσβεστήρα πάνω σε άνθρωπο που έχει πάρει φωτιά.** Οι πυροσβεστήρες μπορούν να προκαλέσουν μεγαλύτερο πρόβλημα:
- μπορεί να προκαλέσουν ασφυξία
  - κάποια χημικά αντιδρούν με το υλικό πλήρωσης των πυροσβεστήρων
  - μπορεί να τραυματίσουν λόγω της μεταβολής της θερμοκρασίας (ο πυροσβεστήρας CO<sub>2</sub> προκαλεί απότομο ψύχος)
- 9. Σε περίπτωση που η φωτιά μπορεί να ελεγχθεί**
- Η ΧΡΗΣΗ ΠΥΡΟΣΒΕΣΤΗΡΑ ΓΙΝΕΤΑΙ ΠΑΝΤΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΥΠΕΥΘΥΝΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ.**
- Στην περίπτωση που δεν έχετε άλλη επιλογή:**
- 1. Ελέγχετε αν υπάρχει έξοδος ελεύθερη πίσω σας.**



2. Αφαιρείτε την ασφάλεια.
3. Στοχεύετε τη φωτιά από απόσταση 3-4 μέτρων.
4. Πιέζετε το μοχλό.



10. Σε περίπτωση που η φωτιά είναι εκτεταμένη:

- Ελέγχετε αν υπάρχει έξοδος ελεύθερη
- Απομακρύνεστε ΑΜΕΣΩΣ

## ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

### • Υδροβολέας

Ο υδροβολέας είναι πλαστικός περιέκτης που χρησιμοποιείται για τη μεταφορά συνήθως απιονισμένου νερού. Το απιονισμένο νερό είναι νερό απαλλαγμένο από ιόντα. Ο απιονισμός επιτυγχάνεται με τη χρήση διαφόρων ιονανταλλακτικών ρητινών που έχουν την ιδιότητα να ανταλλάσσουν κατιόντα (κατιονανταλλακτικές ρητίνες,  $R(H)v$ ) με ιόντα  $H^+$  και τα ανιόντα (ανιονανταλλακτικές ρητίνες,  $R(OH)v$ ) με ιόντα  $OH^-$ .



### • Ποτήρι ζέσεως

Το ποτήρι ζέσεως έχει κατά κανόνα κυλινδρικό σχήμα, με επίπεδο πυθμένα. Είναι κατασκευασμένο από ειδικό γυαλί που αντέχει στις μεταβολές της θερμοκρασίας και στα χημικά αντιδραστήρια. Το γυαλί αυτό έχει ομοιόμορφο συντελεστή θερμικής διαστολής και έτσι διαστέλλεται το ίδιο προς όλες τις διευθύνσεις. Αυτός είναι ο λόγος που το γυαλί δεν σπάει όταν μεταβάλλεται απότομα η θερμοκρασία του. Στις περισσότερες περιπτώσεις το γυαλί είναι Pyrex.



Ποτήρια ζέσεως υπάρχουν σχεδόν σε όλα τα μεγέθη, από 1 mL έως αρκετά λίτρα. Τα πιο εύχρηστα είναι αυτά από 250 – 600 mL. Είναι συνήθως διαβαθμισμένα, δηλαδή

έχουν γραμμές με ενδείξεις από τις οποίες μπορεί να υπολογιστεί (αν και όχι με μεγάλη ακρίβεια) ο όγκος του υγρού που περιέχεται.

- **Ογκομετρικός κύλινδρος**

Ο ογκομετρικός κύλινδρος είναι ένας γυάλινος σωλήνας που χρησιμοποιείται για να

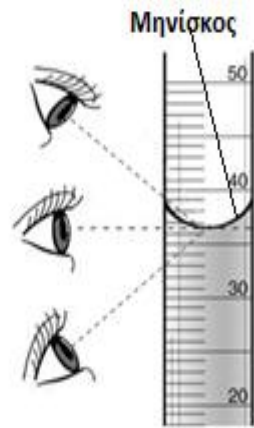


μετρηθεί με ακρίβεια ο όγκος. Οι ογκομετρικοί κύλινδροι είναι γενικά πιο ακριβείς από τις κωνικές φιάλες και τα ποτήρια ζέσεως. Συχνά, οι ογκομετρικοί κύλινδροι εκτός από γυαλί κατασκευάζονται από πολυπροπυλένιο (ανθεκτικό στα

Λάθος θέση  
Μικρότερη  
ανάγνωση

Σωστή θέση

Λάθος θέση  
Μεγαλύτερη  
ανάγνωση



χημικά). Η ανάγνωση του ογκομετρικού κυλίνδρου

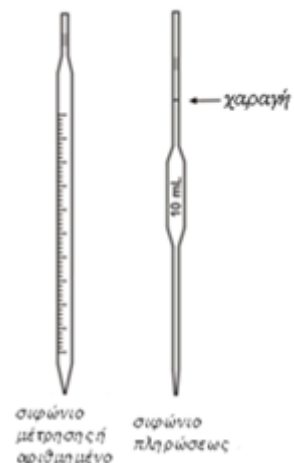
θα πρέπει να γίνεται παρατηρώντας τον μηνίσκο. Για τη σωστή μέτρηση του όγκου λαμβάνεται υπόψη η στάθμη του υγρού στο κάτω μέρος του μηνίσκου όπως στο σχήμα.

Στις περιπτώσεις έγχρωμων διαλυμάτων όπου δεν διακρίνεται η διαγράμμιση του σωλήνα, η πάνω άκρη της κοιλότητας του μηνίσκου πρέπει να βρίσκεται στην ένδειξη ογκομέτρησης που θέλουμε.

- **Σιφώνιο**

Το σιφώνιο χρησιμοποιείται για την ακριβή μέτρηση και μεταφορά όγκου υγρού. Διακρίνεται σε δύο βασικούς τύπους: α. το σιφώνιο πλήρωσης και β. το σιφώνιο μέτρησης.

Το σιφώνιο πλήρωσης έχει σχήμα μακρόστενης κυλινδρικής γυάλινης βέργας και φέρει διόγκωση στη μέση του μήκους του. Χρησιμοποιείται για τη μεταφορά ορισμένου όγκου που καταδεικνύεται με μία οριζόντια **χαραγή** στο πάνω μέρος του σωλήνα - παρέχει συγκεκριμένο όγκο. Είναι υψηλής ακριβείας και ακριβέστερο του σιφωνίου μέτρησης που έχει σχήμα



μακρόστενης κυλινδρικής γυάλινης βέργας με ογκομετρική βαθμονόμηση σε όλο της το μήκος. Τα 4 σημεία στο σιφώνιο που είναι σημαντικά: χαραγή, όγκος, θερμοκρασία, τάξη A, B, C (συμβολίζουν την ακρίβεια). Η ακρίβειά τους εξαρτάται από την χωρητικότητα και τον τύπο. Η ακρίβεια που πετυχαίνεται με το σιφώνιο αναγράφεται

πάνω και είναι 0,003 mL έως 0,015 mL. Το άδειασμά τους γίνεται με ελεύθερη ροή και στη βαθμονόμησή τους έχει προβλεφθεί ότι η τελευταία σταγόνα παραμένει στην άκρη του σιφωνιού.

Ιδιαίτερη προσοχή απαιτείται στον χειρισμό του σιφωνιού (ο χειρισμός του γίνεται με πουάρ και με το δείκτη (και όχι με τον αντίχειρα) του δεξιού χεριού) και στον τρόπο ανάγνωσης του μηνίσκου. **ΥΠΟΧΡΕΩΤΙΚΟ** είναι το πλύσιμο του σιφωνιού με απιονισμένο νερό και με το διάλυμα που πρόκειται να μετρηθεί.

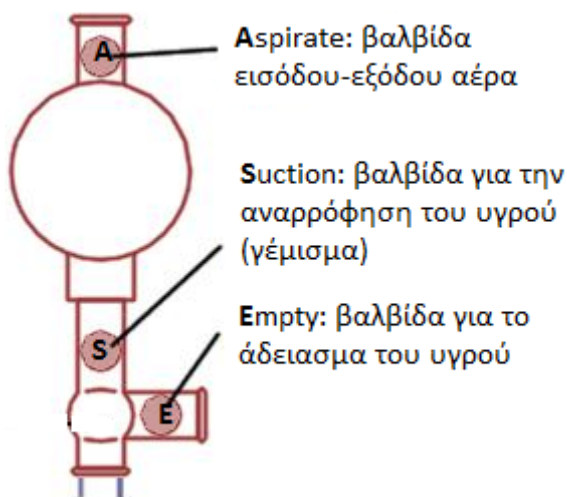
- **Κωνική φιάλη.**

Η κωνική φιάλη (ή φιάλη Erlenmeyer) είναι γυάλινο κωνικό αντικείμενο που συνήθως έχει σημειωμένες ενδείξεις όγκου στην μία πλευρά. Ο υπολογισμός της ποσότητας με βάση τις ενδείξεις της κωνικής φιάλης δεν είναι ακριβής. Το σχήμα της επιτρέπει την εύκολη ανάδευση του διαλύματος που περιέχει, κάτι που γίνεται κρατώντας την φιάλη από τον λαιμό και περιστρέφοντας ελαφρά.



- **Πληρωτής (Αντλία) σιφωνίων – πουάρ 3 βαλβίδων**

Για την άντληση υγρού στα σιφώνια χρησιμοποιούνται τριών ειδών όργανα που ονομάζονται όργανα πλήρωσης σιφωνίων ή βοηθοί. Αυτά είναι η πλαστική σφαίρα αναρρόφησης ή πουάρ, η αντλία σιφωνίου και η ηλεκτρονική αντλία. Η πλαστική σφαίρα αναρρόφησης περιλαμβάνει τρεις βαλβίδες που σημειώνονται με τα γράμματα A, E, και S.



Με τη βαλβίδα A αφαιρείται ο αέρας από την σφαίρα. Με την βαλβίδα S αντλείται το υγρό ενώ με την E αφαιρείται υγρό.

Η αντλία σιφωνίων περιλαμβάνει έναν τροχό αναρρόφησης στο πάνω μέρος της με τον οποίο επιτυγχάνεται η άντληση υγρού και ένα έμβολο εκροής με το οποίο αφαιρείται υγρό.

- **Προχοΐδα**

Η **προχοΐδα** (*burette* ή *buret*) είναι ένα κυλινδρικό όργανο με ογκομετρική βαθμονόμηση σε όλο της το μήκος και στρόφιγγα στο κάτω μέρος. Χρησιμοποιείται για τον χειρισμό ή την τοποθέτηση συγκεκριμένων ποσοτήτων υγρού αντιδραστηρίου για τις οποίες είναι αναγκαία η μεγάλη ακρίβεια, όπως σε τιτλοδοτήσεις. Οι προχοΐδες είναι εξαιρετικά ακριβείς. Η



ακρίβεια που πετυχαίνεται με την προχοΐδα αναγράφεται πάνω και συνήθως μία των 50 mL (=cm<sup>3</sup>) έχει συνήθως σφάλμα ανάγνωσης 0,1 mL (κατηγορία Β) ή 0,05 mL (κατηγορία Α). Οι προχοΐδες μετρούν από το επάνω μέρος καθώς χρησιμοποιούνται για να μετράμε υγρά τα οποία ρέουν από το κάτω μέρος. Ο όγκος που μετρούν είναι η διαφορά μεταξύ του τελικού και αρχικού όγκου. Ο τρόπος χειρισμού της προχοΐδας κατά την ογκομέτρηση είναι να κρατάμε με το αριστερό χέρι τη στρόφιγγα και με το δεξί την ογκομετρική φιάλη, η οποία αναδεύεται συνεχώς κατά την διάρκεια της προσθήκης του προτύπου διαλύματος. Οι προχοΐδες στηρίζονται πάντα σε ειδικό στήριγμα και όχι στον πάγκο διότι σπάνε εύκολα. Οι στρόφιγγες τους πρέπει να έχουν πρόσφατα λιπανθεί και να περιστρέφονται με άνεση.

- **Δοκιμαστικοί σωλήνες**

Σωλήνες κλειστοί στο ένα άκρο τους, που χρησιμοποιούνται σε επιστημονικά εργαστήρια για την εκτέλεση πειραμάτων. Συνήθως είναι κατασκευασμένοι από γυαλί που αντέχει στα χημικά και στις υψηλές θερμοκρασίες.



- **Στήριγμα δοκιμαστικών σωλήνων**

Πλαστικό ή μεταλλικό κατάλληλο για την τακτοποίηση και τη μεταφορά σωλήνων.



- Ζυγός (ακρίβεια  $\pm 0,001$ )



Η ζύγιση των αντιδραστηρίων στο εργαστήριο γίνεται με **αναλυτικούς ζυγούς** το είδος του οποίων διαφοροποιείται από το βάρος και την ακρίβεια της ζύγισης. Αναλυτικοί ζυγοί με 3, 4 και 5 δεκαδικά ψηφία είναι οι συνηθέστεροι που χρησιμοποιούνται σε ένα Εργαστήριο Χημείας.

Τα χαρακτηριστικά ενός ζυγού είναι η **ακρίβεια** (το μικρότερο κλάσμα του γραμμαρίου που μπορεί να ζυγίσει) και η **ευαισθησία** του (η ικανότητα του ζυγού να αποκλίνει από τη θέση ισορροπίας του με την προσθήκη ελάχιστου βάρους). Οι ζυγοί πρέπει να διατηρούνται πάντα καθαροί και στεγνοί και να καθαρίζονται επιμελώς πριν και μετά τη χρήση. Πάντα μηδενίζεται ο ζυγός πριν χρησιμοποιηθεί και ποτέ δεν τοποθετούνται αντιδραστήρια απ' ευθείας στο δίσκο του ζυγού. Για τη μέτρηση της μάζας δείγματος σε ζυγό ακρίβειας 0,001 g ακολουθείται η ακόλουθη διαδικασία:

1. Τοποθετείται ένα άδειο δοχείο ζύγισης στον ζυγό.
2. Πιέζεται το **O/T (TARE)** πλήκτρο, οπότε στην οθόνη εμφανίζεται 0,000 g.
3. Προστίθεται το δείγμα στο δοχείο ζύγισης και διαβάζεται η μάζα με ακρίβεια  $\pm 0,001g$ .

- Σταγονομετρική πιπέττα

Πλαστικό σιφώνιο με ογκομετρική βαθμονόμηση που στο άκρο του φέρει πουάρ (φούσκα). Μπορεί να χρησιμοποιηθεί για να μεταφέρει έναν μικρό όγκο διαλύματος χωρίς ακρίβεια.



Χρησιμοποιείται ως εξής ( παράδειγμα μέχρι όγκου 1mL)

1. Πιέζετε το πουάρ (φούσκα) για να απομακρυνθεί λίγος αέρας από το σιφώνιο.
2. Βυθίζετε την άκρη της πιπέτας στο διάλυμα.
3. Απελευθερώνετε αργά την πίεση στο πουάρ μέχρι όγκου 1 mL.

4. Μετά την απελευθέρωση της πίεσης στο εσωτερικό του, αφαιρέστε σταθερά την πιπέτα και μεταφέρετε το διάλυμα.

- **Ψήκτρα**

Βούρτσα κατάλληλη για το πλύσιμο των δοκιμαστικών σωλήνων. Υπάρχουν σε διάφορα μήκη και διαμέτρους.



- **Λαβίδα δοκιμαστικών σωλήνων**

Ξύλινη λαβίδα για τη θέρμανση και τη μεταφορά θερμών δοκιμαστικών σωλήνων.



- **Υδατόλουτρο**

Θερμαινόμενη δεξαμενή νερού κατάλληλη για τη βιολογία, χημεία, φυσική κ.α. Περιέχει θερμοστάτη ακριβείας για άμεση θέρμανση. Στο εσωτερικό του τοποθετούνται ανοξείδωτα στηρίγματα σωλήνων και δοχείων. Συνήθως έχουν τη δυνατότητα μηχανικής ανάδευσης.



- **Ογκομετρική Φιάλη**

Οι ογκομετρικές φιάλες έχουν επίπεδο πυθμένα και σχήμα απιοειδές (αχλαδιού). Είναι βαθμονομημένες, ώστε να περιέχουν καθορισμένο όγκο υγρού στους 20°C (θερμοκρασία δωματίου περίπου), όταν γεμίσουν μέχρι τη χαραγή που υπάρχει στο μακρύ και στενό λαιμό τους. Οι φιάλες αυτές χρησιμοποιούνται για την παρασκευή διαλυμάτων ακριβούς και γνωστής συγκέντρωσης.



Οδηγίες χρήσης:

1. Εισάγετε στη φιάλη ζυγισμένη με ακρίβεια ποσότητα στερεής ή μετρημένο με ακρίβεια όγκο υγρής ένωσης.
2. Γεμίστε τη φιάλη με διαλύτη μέχρι περίπου τη μέση.
3. Ανακινήστε ισχυρά με κυκλικές κινήσεις έως ότου διαλυθεί πλήρως το στερεό ή αναμειχθεί καλά το υγρό (Προσοχή να μην περάσει τη χαραγή).
4. Γεμίστε τη φιάλη με διαλύτη σχεδόν μέχρι τη χαραγή.

5. Μετακινήστε τα μάτια σας στο επίπεδο της χαραγής, έτσι ώστε ο κύκλος στο λαιμό της φιάλης (χαραγή) να μοιάζει με γραμμή, όχι με έλλειψη.
6. Προσθέστε διαλύτη σταγόνα-σταγόνα, μέχρι το κάτω μέρος της γραμμής του μηνίσκου να συναντήσει το επίπεδο της χαραγής. Προσέξτε να μην υπάρχουν σταγόνες υγρού στο λαιμό της φιάλης (πάνω από τη χαραγή).

- **Εκχυλιστική Χοάνη**

Εκχυλιστική ή διαχωριστική χοάνη έχει σχήμα απιοειδές με εσφυρισμένο πώμα ή πώμα από τεφλόν στην κορυφή και στρόφιγγα (βρύση), στο κάτω μέρος. Οι διαχωριστικές χοάνες κατασκευάζονται από βοριοπυριτικό γυαλί και οι στρόφιγγες τους από γυαλί ή PTFE. Το μέγεθος τους ποικίλει μεταξύ 25 mL και 3 L.



- **Στήριγμα & δακτύλιος**

Τα μεταλλικά στήριγματα χρησιμοποιούνται για την στήριξη προχοϊδας, εκχυλιστικής χοάνης κ.α. Ο μεταλλικός δακτύλιος χρησιμοποιείται για τη στήριξη της εκχυλιστικής χοάνης και προσαρμόζεται μέσω κατάλληλης υποδοχής σε στήριγμα.



μεταλλικό

- **Ιγδίο (γουδί)**

Το ιγδίο είναι πορσελάνινο σκεύος (ή πιο σπάνια μαρμάρινο) με τραχιά εσωτερική επιφάνεια. Χρησιμοποιείται για την ελάττωση του μεγέθους τεμαχιδίων (λειοτρίβηση-σύνθλιψη) δείγματος ή/και ανάμιξη κόνεων. Το ιγδίο λέγεται αλλιώς γουδί.



- **Χωνί**

Χωνί είναι συνήθως σκεύος γυάλινο ή από πολυπροπυλένιο και χρησιμοποιούνται στη μεταφορά υγρών και στη διήθηση.



- **Πιπέττα Μεταβλητού όγκου**

Χρησιμοποιείται στη Χημεία, Βιοχημεία και Βιολογία για την μεταφορά ακριβούς όγκου. Το εύρος του όγκου που μπορεί να μεταφέρει είναι 0,5-10000μL. Συνοδεύεται από τα αντίστοιχα ρύγχη.



Οδηγίες χρήσης:

1. Απασφαλίστε την πιπέττα.



2. Περιστρέφοντας το έμβολο λειτουργίας επιλέξετε τον επιθυμητό όγκο που εμφανίζεται στην οθόνη.



3. Ασφαλίστε την πιπέττα



4. Τοποθετείστε το κατάλληλο ρύγχος.

5. Πατήστε το έμβολο λειτουργίας μέχρι την πρώτη θέση.

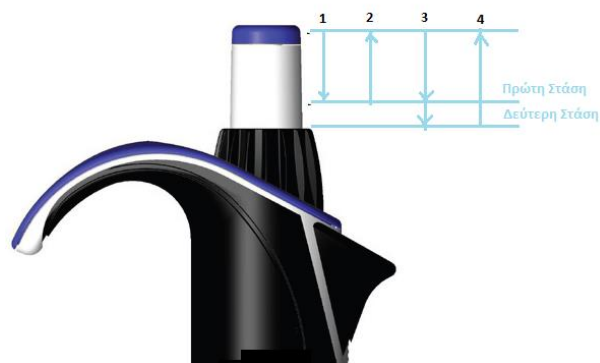
6. Βυθίστε το ρύγχος κάτω από την επιφάνεια του υγρού σε βάθος περίπου 1 εκατοστό και σιγά-σιγά απελευθερώστε το έμβολο λειτουργίας.

7. Αποσύρετε το ρύγχος από το υγρό αγγίζοντας την άκρη του δοχείου για να απομακρυνθεί η περίσσεια του υγρού.



8. Αδειάστε το υγρό πιέζοντας ελαφρά το έμβολο λειτουργίας μέχρι την πρώτη θέση.

9. Μετά από καθυστέρηση περίπου ενός δευτερολέπτου πατήστε το κουμπί λειτουργίας σε όλη τη διαδρομή μέχρι τη δεύτερη θέση με τον τρόπο αυτό θα αδειάσει η άκρη του ρύγχους.

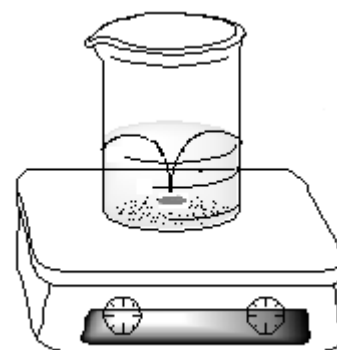


10. Αφήστε το έμβολο λειτουργίας στη θέση ετοιμότητας.

11. Αλλάξτε το ρύγχος και συνεχίστε τον σιφωνισμό.

- **Μαγνητικός θερμαινόμενος αναδευτήρας**

Συσκευή που χρησιμοποιείται ευρέως στο εργαστήριο για την ανάμιξη υλικών μέσω περιστροφικής ανάδευσης με δυνατότητα θέρμανσης. Έτσι εκτός του διακόπτη ON – OFF έχει δύο κουμπιά ρύθμισης:



a. της θερμοκρασίας (έως 500°C περίπου ) και

b. της ταχύτητας ανάδευσης (100-1500 στροφές/min περίπου).

Διαθέτει μια θερμαινόμενη επιφάνεια, όπου τοποθετείται το προς ανάδευση δείγμα, ανθεκτική σε όλα τα χημικά η οποία είτε είναι μεταλλική (κράμμα αλουμινίου) είτε κεραμική. Η ικανότητα ανάδευσης ενός μαγνητικού αναδευτήρα αγγίζει τα 10lt υγρών.

- **Μαγνήτες Ανάδευσης**

Οι μαγνήτες ανάδευσης είναι μαγνητικοί ράβδοι επικαλυμμένοι με τεφλόν. Χρησιμοποιούνται για την ανάδευση διαλυμάτων που περιέχονται σε ποτήρια ζέσεως, κωνικές φιάλες, σφαιρικές φιάλες κ.α. Τοποθετούνται στο εσωτερικό του σκεύους, που



περιέχει το διάλυμα, το οποίο βρίσκεται στηριγμένο στο κέντρο της επιφάνειας του μαγνητικού αναδευτήρα. Με την έναρξη λειτουργίας του μαγνητικού αναδευτήρα

προκαλείται η περιστροφή του μαγνήτη με αποτέλεσμα την περιστροφική ανάδευση του διαλύματος.

- **Σφαιρικές φιάλες**

Οι σφαιρικές φιάλες είναι σκεύη σφαιρικού σχήματος με λαιμό που προεξέχει στη κορυφή τους. Είναι κατασκευασμένες από ειδικό γυαλί που αντέχει στις μεταβολές της θερμοκρασίας και στα χημικά αντιδραστήρια. Μπορεί να διαθέτουν στρογγυλό ή επίπεδο πυθμένα και το στόμιο τους είναι συνήθως εσφυρισμένο. Στηρίζονται όρθιες σε μεταλλική ράβδο / στήριγμα με την βοήθεια βραχίονα που περιλαμβάνει σφικτήρα ή πάνω σε ειδικούς δακτυλίους. Οι σφαιρικές φιάλες διακρίνονται σε ευρύλαιμες και στενόλαιμες ανάλογα με το πάχος του λαιμού τους. Εκτός από την τυπική σφαιρική φιάλη υπάρχουν και σφαιρικές φιάλες δίλαιμες ή τρίλαιμες που χρησιμοποιούνται σε πειράματα που απαιτούν δύο ή τρεις διαφορετικές ταυτόχρονες διεργασίες.



- **Πεχάμετρο**

Πεχάμετρο ονομάζεται η συσκευή που χρησιμοποιείται για τη μέτρηση του  $pH$  ενός διαλύματος, το οποίο ορίζεται σύμφωνα με την σχέση:

$$pH = -\log[H^+]$$

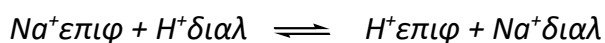
όπου  $[H^+]$  είναι η συγκέντρωση των ιόντων υδρογόνου στο διάλυμα.

Η μέτρηση του  $pH$  γίνεται με τη χρήση ειδικών ηλεκτροδίων. Ουσιαστικά το πεχάμετρο είναι ένα βολτάμετρο οι ενδείξεις του οποίου παρέχουν τις τιμές  $pH$  ενός διαλύματος. Τα πεχάμετρα χρησιμοποιούν την αρχή της ποτενσιομετρίας για τη μέτρηση του  $pH$ , η οποία γίνεται μέσω του προσδιορισμού της ενεργότητας των ιόντων υδρογόνου σε ένα διάλυμα. Για τη μέτρηση χρησιμοποιείται ένα ενδεικτικό ηλεκτρόδιο και ένα ηλεκτρόδιο αναφοράς. Το ηλεκτρόδιο αναφοράς έχει σταθερό δυναμικό. Το δυναμικό του ενδεικτικού ηλεκτροδίου εξαρτάται από την ενεργότητα των ιόντων υδρογόνου στο διάλυμα. Η διαφορά δυναμικού ανάμεσα στα δύο ηλεκτρόδια δίνει το  $pH$ .

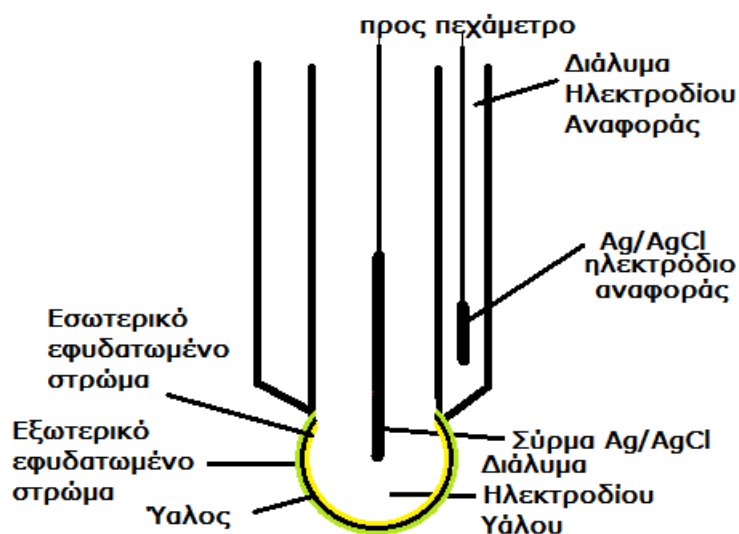
Τις περισσότερες φορές χρησιμοποιείται ως ενδεικτικό ηλεκτρόδιο το ηλεκτρόδιο υάλου. Αυτό τοποθετείται σε διάλυμα ορισμένου  $pH$ , και μετρά τη

διαφορά δυναμικού εξαιτίας της διαφοράς **συγκεντρώσεων**  $H^+$  στις δύο πλευρές μίας γυάλινης μεμβράνης στο εσωτερικό της οποίας υπάρχει διάλυμα σταθερής σύστασης (διάλυμα  $HCl$  0,1N). Η χημική σύσταση της μεμβράνης ποικίλει ανάλογα με τον κατασκευαστή αλλά συνήθως αποτελείται κατά 70% από  $SiO_2$  και από μεταβλητά ποσοστά  $Na_2O$ ,  $CaO$ ,  $LiO$  και  $BaO$ . Το διοξείδιο του πυριτίου ( $SiO_2$ ) που αποτελεί το σκελετικό υλικό του γυαλιού προσροφά στρώμα νερού και δημιουργεί σε κάθε μια από τις δυο επιφάνειες της γυάλινης μεμβράνης εφυδατωμένο στρώμα διοξειδίου του πυριτίου. Το λεπτό αυτό επιφανειακό στρώμα πάχους περίπου 10-4 nm, έχει την μορφή ζελέ και συμπεριφέρεται σαν ιονανταλλάκτης.

Τα κατιόντα νατρίου ( $Na^+$ ) του εφυδατωμένου στρώματος ανταλλάσσονται με ιόντα υδρογόνου, του διαλύματος με αποτέλεσμα την ανάπτυξη ισορροπίας σύμφωνα με την αντίδραση:



Η παραπάνω χημική ισορροπία είναι κατά κανόνα μετατοπισμένη προς τα δεξιά με αποτέλεσμα σχεδόν το σύνολο των ιόντων  $Na^+$ , της επιφάνειας να αντικαθίστανται με ιόντα  $H^+$ . Λόγω της διαφοράς ενεργότητας των ιόντων



υδρογόνου στο διάλυμα και εντός και εκτός της επιφάνειας του γυαλιού, αναπτύσσονται δυναμικά Nerst.

**Εάν η σύσταση του εσωτερικού διαλύματος παραμείνει σταθερή, το δυναμικό κατά μήκος της μεμβράνης θα εξαρτάται μόνο από το pH του εξωτερικού διαλύματος.**

#### **ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ** πεχαμέτρου

Τα πεχάμετρα βαθμονομούνται με πρότυπα ρυθμιστικά διαλύματα που έχουν ακρίβεια +/-0,01 πεχαμετρικής μονάδας, επομένως είναι αδύνατο να αναφέρονται

ενδείξεις pH με τρία δεκαδικά ψηφία, ασχέτως αν το όργανο (κυρίως τα ψηφιακά πεχάμετρα) μας δίνει 3<sup>ο</sup> ή και 4<sup>ο</sup> δεκαδικό ψηφίο.

Πριν από τη χρήση του πεχαμέτρου απαιτείται πάντοτε η διαδικασία βαθμονόμησης. Η διαδικασία αυτή πρέπει να γίνεται τόσο συχνότερα, όσο ακριβέστερες πρέπει να είναι οι ενδείξεις. Η διαδικασία της βαθμονόμησης δεν είναι απαραίτητη, αν δεν ενδιαφέρουν οι τιμές pH, αλλά η μεταβολή του pH (π.χ. σε περίπτωση που εκτελούμε μια ογκομέτρηση).

Αν οι μετρήσεις pH αφορούν δείγματα με αναμενόμενες τιμές pH σε στενή περιοχή (1-2 μονάδων pH), είναι αρκετή η βαθμονόμηση με ένα πρότυπο ρυθμιστικό που βρίσκεται περίπου στο κέντρο της αναμενόμενης περιοχής.

Αν πρόκειται να γίνουν μετρήσεις σε ευρεία περιοχή pH, τότε απαιτούνται δύο ή τρία πρότυπα ρυθμιστικά που απέχουν μεταξύ τους τουλάχιστον 3-4 μονάδες pH. Συνήθως επιλέγονται τα pH=4, pH=7 και pH=10.

Τα pH όπου γίνεται η ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ καλό είναι να περιβάλλουν την αναμενόμενη περιοχή τιμών pH των δειγμάτων.

**Ανάμεσα στις μετρήσεις ξεπλένετε το ηλεκτρόδιο με απιονισμένο νερό και το στεγνώνετε καλά.**

## 1<sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ

### ΕΚΧΥΛΙΣΗ-ΔΙΗΘΗΣΗ

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η εκχύλιση είναι μια από τις συχνότερες "χημικές" διεργασίες που πραγματοποιούνται καθημερινά. Παράδειγμα εκχύλισης είναι η παρασκευή ενός αφεψήματος (καφέ, τσάι, κλπ), η παραλαβή ενός αιθέριου ελαίου, μιας χρωστικής ή μιας δραστικής φαρμακευτικής ουσίας από μια φυτική πρώτη ύλη κ.α. Στην Οργανική Χημεία η διαδικασία της εκχύλισης είναι μια από τις κυριότερες εργαστηριακές τεχνικές.

ΕΚΧΥΛΙΣΗ είναι η διαδικασία Απομόνωσης ή Διαχωρισμού χημικών ενώσεων από αρχικό μίγμα που μπορεί να είναι διάλυμα ή στερεό μίγμα. Η Απομόνωση ή ο Διαχωρισμός της ένωσης (ή των ενώσεων) γίνεται με τη βοήθεια ενός διαλύτη (διαλυτικό μέσο ή **εκχυλιστής**) που έρχεται σε επαφή με το μίγμα και την (τις) διαλύει εκλεκτικά.

Η Εκχύλιση βασίζεται στην κατανομή μιας ένωσης μεταξύ δύο φάσεων, που πρακτικά δεν αναμειγνύονται.

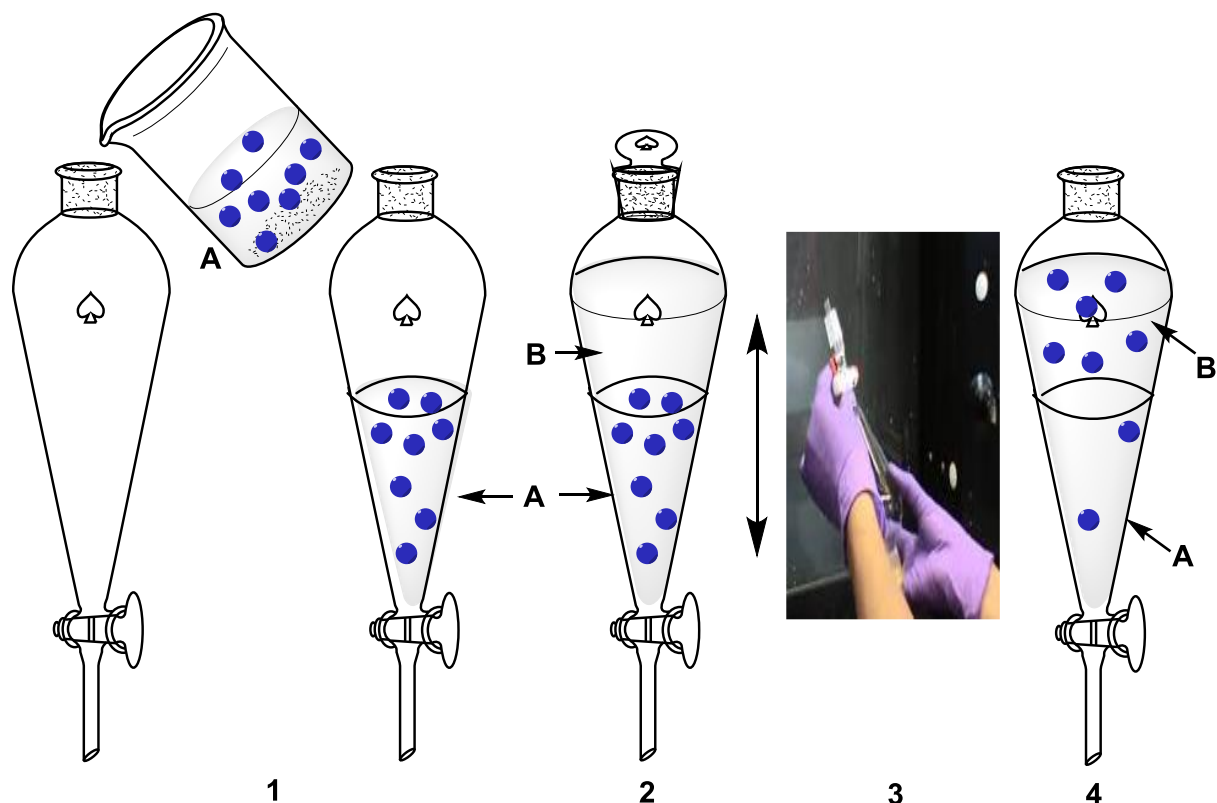
Οι τεχνικές εκχύλισης που έχουν αναπτυχθεί είναι:

- Εκχύλιση στερεών με υγρό (extraction)
- Εκχύλιση στερεής φάσης (solid phase extraction)
- Εκχύλιση υγρού ή στερεού σώματος διαλυμένου σε υγρό από άλλο υγρό (liquid-liquid extraction)

#### **A. Εκχύλιση υγρού ή στερεού σώματος διαλυμένου σε υγρό (διαλύτης A) από άλλο υγρό (εκχυλιστής/διαλύτης B) (liquid-liquid extraction)**

Η Εκχύλιση υγρού ή στερεού σώματος διαλυμένου σε υγρό από άλλο υγρό (liquid-liquid extraction) είναι η πλέον διαδεδομένη τεχνική τόσο στην Οργανική όσο και στην Αναλυτική Χημεία και πραγματοποιείται στα ακόλουθα στάδια:

1. Διάλυση του υγρού ή στερεού σώματος στον διαλύτη A (Παρασκευή **εκχυλιζόμενου** διαλύματος) και μεταφορά στην εκχυλιστική χοάνη.
2. Προσθήκη **εκχυλιστή** διαλύτη / διαλύτης B – σχηματισμός δύο φάσεων.
3. Έντονη ανακίνηση της εκχυλιστικής χοάνης με περιοδική απαέρωση.
4. Διαχωρισμός των δύο φάσεων σε ηρεμία και τελική κατανομή ουσίας στις δύο φάσεις.



Την κατανομή αυτή της ένωσης εκφράζει ο **Συντελεστής Κατανομής** που είναι μια σταθερά για τη δεδομένη ένωση και το ζεύγος των διαλυτών που συμμετέχουν στην εκχύλιση σε μια δεδομένη θερμοκρασία. Είναι ένα αδιάστατο μέγεθος, για τον λόγο αυτό μπορούν να χρησιμοποιηθούν οποιεσδήποτε μονάδες συγκέντρωσης (ίδιες και για τους δύο διαλύτες).

**B.  $K_D$  = Συντελεστής Κατανομής (Distribution Coefficient)**

$$K_D = \frac{C_2}{C_1}$$

$C_1$ : συγκέντρωση της ουσίας στον **εκχυλιζόμενο** (διαλύτη A)

$C_2$ : συγκέντρωση της ουσίας στον **εκχυλιστή** (διαλύτη B)

**Γ. Κριτήρια Επιλογής Εκχυλιστικού μέσου (Εκχυλιστής)**

Ένας διαλύτης, για να επιλεγεί ως εκχυλιστής, πρέπει να τηρεί τις παρακάτω προϋποθέσεις:

1. Να μην αντιδρά με την ουσία που εκχυλίζουμε.
2. Να διαλύει περισσότερο την ουσία που εκχυλίζουμε από τις άλλες που συνυπάρχουν.

3. Να έχει διαφορετική πυκνότητα από το διαλύτη που είναι διαλυμένη η ουσία.
4. Να μην αναμειγνύεται με το διαλύτη που είναι διαλυμένη η ουσία.
5. Να έχει χαμηλό σημείο ζέσεως.
6. Να είναι ασφαλής (να μην είναι τοξικός και εύφλεκτος)

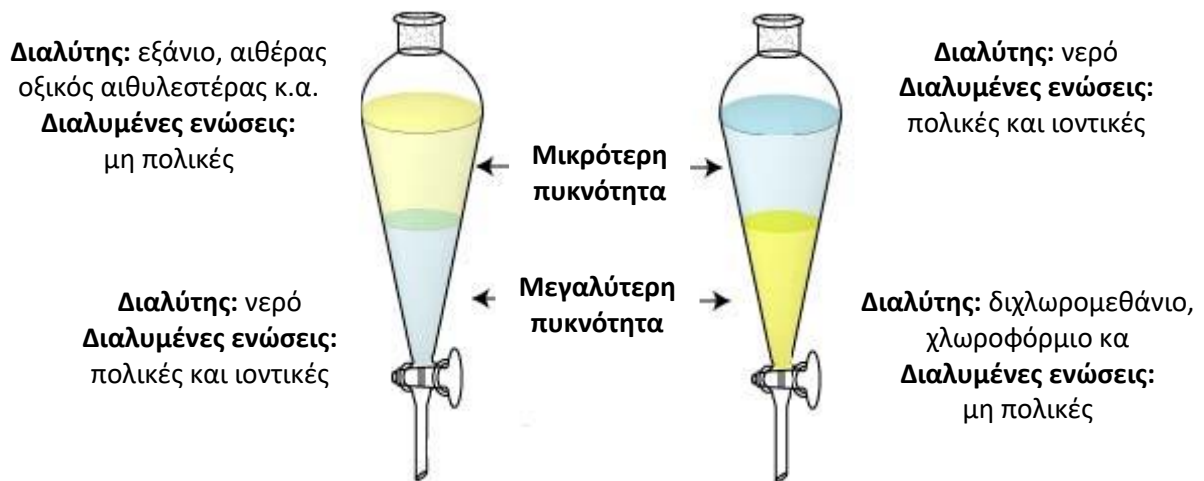
**Η κατανομή των 2 φάσεων (εκχυλιστή και του εκχυλιζόμενου διαλύματος) εξαρτάται από την πυκνότητά των διαλυτών.**

Πιο συγκεκριμένα ισχύουν τα ακόλουθα:

$$d_{H_2O} = 1g/mL$$

$$d_{org} < d_{H_2O}$$

$d_{org} > d_{H_2O}$  για χλωριωμένους διαλύτες



**Προσοχή:** διαλύτες όπως η αιθανόλη, η ακετόνη, η μεθανόλη κ.α. δε χρησιμοποιούνται σε εκχύλιση με νερό γιατί αναμειγνύονται!!!

**Ερώτημα:** Αν έχουμε στη διάθεσή μας 100 mL εκχυλιστή διαλύτη, τι θα προτιμήσουμε να κάνουμε, μία (1) εκχύλιση με όλο τον εκχυλιστή διαλύτη ή πολλές εκχυλίσεις με λιγότερο εκχυλιστή διαλύτη;

$V_1 =$  mL εκχυλιζόμενου διαλύτη A

$V_2 =$  mL εκχυλιστή διαλύτη B

$W_0 =$  g αρχικής διαλυμένης ουσίας

$W_1 =$  g ουσίας που μένουν στον εκχυλιζόμενο διαλύτη A μετά την 1η εκχύλιση

$W_2 =$  g ουσίας που μένουν στον εκχυλιζόμενο διαλύτη A μετά τη 2η εκχύλιση

## 1η Εκχύλιση

$$K_D = \frac{C_2}{C_1} = \frac{\frac{W_0 - W_1}{V_2}}{\frac{W_1}{V_1}} \Rightarrow W_1 = W_0 \frac{V_1}{K_D V_2 + V_1} \quad \text{2}^{\text{η}} \text{ Εκχύλιση}$$

$$K_D = \frac{C_2}{C_1} = \frac{\frac{W_1 - W_2}{V_2}}{\frac{W_2}{V_1}} \Rightarrow W_2 = W_1 \frac{V_1}{K_D V_2 + V_1} \quad \Rightarrow \quad W_2 = W_0 \left[ \frac{V_1}{K_D V_2 + V_1} \right]^2$$

Άρα για  $n$  εκχυλίσεις ισχύει:

$$W_n = W_0 \left[ \frac{V_1}{K_D V_2 + V_1} \right]^n$$

$W_n$  = g ουσίας που μένουν μετά από  $n$  εκχυλίσεις στον εκχυλιζόμενο διαλύτη A

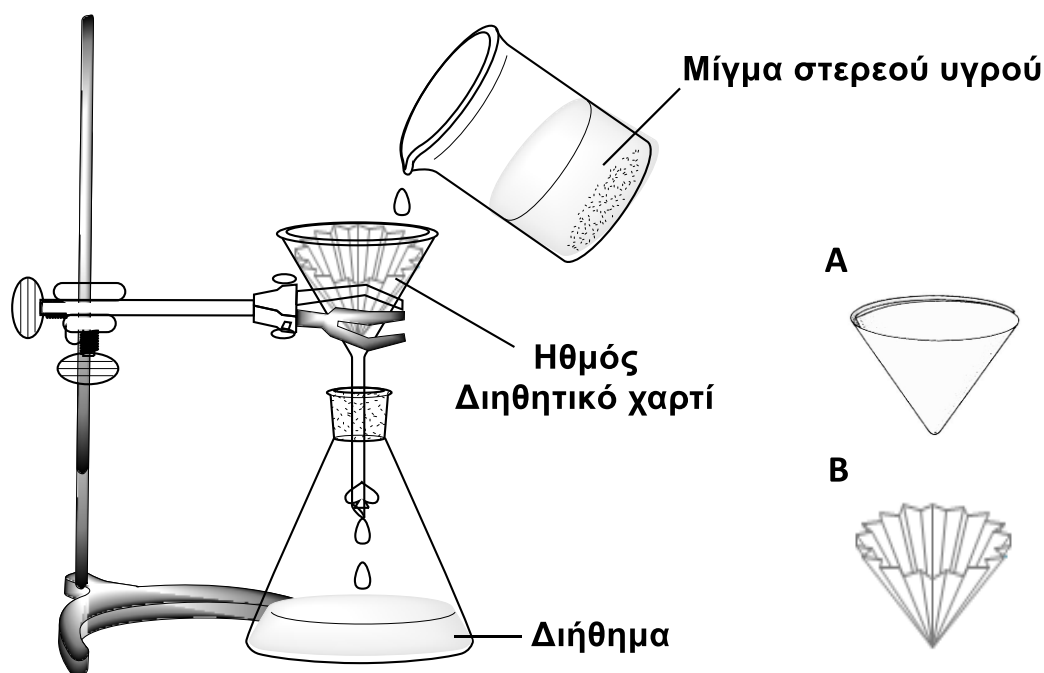
$W_n \rightarrow 0$  όταν το  $V_2$  μικρό και  $n$  μεγάλο

Άρα καλύτερα αποτελέσματα έχουμε όταν κάνουμε πολλές εκχυλίσεις με μικρότερες ποσότητες διαλύτη, παρά μια εκχύλιση με όλο τον όγκο του διαλύτη

### Δ. Διήθηση

Διήθηση είναι μέθοδος διαχωρισμού στερεάς φάσης (ιζήματος) από υγρή φάση (διάλυμα ή μητρικό υγρό). Η Διήθηση μπορεί να γίνει με χαρτί διήθησης (διηθητικό χαρτί) τοποθετημένο σε χωνί (γυάλινο ή από πολυπροπυλένιο), με πορσελάνινο ηθμό, ή γυάλινο χωνί με πορώδη πυθμένα. Η Διήθηση που πραγματοποιείται με διηθητικό χαρτί μπορεί να πραγματοποιηθεί είτε με απλό (A) είτε με πτυχωτό (B) ηθμό. Οι πτυχωτοί ηθμοί είναι για γρήγορες διηθήσεις που μας ενδιαφέρει η συλλογή του διηθήματος και όχι του ιζήματος. Η διήθηση μεγάλου όγκου στερεών επιταχύνεται με τη βοήθεια κενού. Το κενό μπορεί να δημιουργηθεί με υδραντλία ή μηχανική αντλία.





## ΠΕΙΡΑΜΑ 1Α

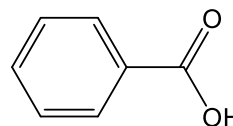
### Εισαγωγή

Συμβαίνει συχνά χημικές ενώσεις να έχουν παρόμοια χαρακτηριστικά με αποτέλεσμα να είναι δύσκολος ο διαχωρισμός τους. Μία ένωση που περιέχει στο μόριο της μία όξινη (ή βασική) ομάδα, μπορεί εύκολα να διαχωριστεί από άλλες ενώσεις αφού υπάρχει δυνατότητα αξιοποίησης αυτής της ιδιότητας στον διαχωρισμό.

Στην Εργαστηριακή Άσκηση: πρέπει να γίνει ο διαχωρισμός του **βενζοϊκού οξέος** από μίγμα που περιέχει επίσης **1,2 διφαινυλο εθαν-1,2-διόνη** και **NaCl**.

### Βενζοϊκό οξύ

- Οργανική ένωση
- Λευκό Στερεό
- Μικρή διαλυτότητα στο νερό
- Μεγάλη διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες

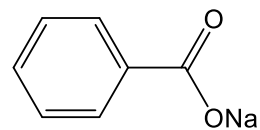


Είναι διαλυτό σε μέσης πολικότητας διαλύτες όπως ο **οξικός αιθυλεστέρας** (**CH<sub>3</sub>COOCH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>**)

Ο οξικός αιθυλεστέρας είναι ένας διαλύτης χαμής τοξικότητας και αναμειγνύεται με το νερό μερικώς.

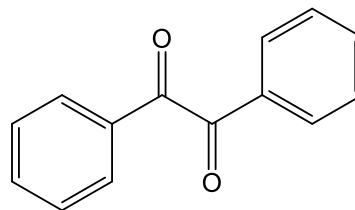
### Βενζοϊκό νάτριο

- Οργανικό Αλάτι
- Λευκό Στερεό
- Διαλυτό στο κρύο νερό
- Αδιάλυτο σε οργανικούς διαλύτες



### 1,2 Διφαινυλο εθαν-1,2-διόνη (Diphenylethane-1,2-dione, Benzil, Dibenzoyl, Bibenzoyl)

- Οργανική ένωση
- Κίτρινο Στερεό
- Μικρή διαλυτότητα στο νερό
- Μεγάλη διαλυτότητα σε οργανικούς διαλύτες
- Είναι διαλυτό στον οξικό αιθυλεστέρα



### NaCl

- Ανόργανη ένωση
- Διαλυτή στο κρύο νερό
- Αδιάλυτη σε οργανικούς διαλύτες
- Λευκό Στερεό

Αν σε ένα διάλυμα **1,2 διφαινυλο εθαν-1,2-διόνη (διβενζόυλ)** και **βενζοϊκού οξέος** σε διαλύτη οξικό αιθυλεστέρα προστεθεί υδατικό διάλυμα **ανθρακικού νατρίου**, τότε το οξύ θα σχηματίσει το **αντίστοιχο αλάτι (βενζοϊκό νάτριο)** που έχει διαφορετικές ιδιότητες διαλυτότητας από το βενζοϊκό οξύ (είναι διαλυτό στο κρύο νερό). Το βενζοϊκό νάτριο θα απομακρυνθεί στο υδατικό διάλυμα. Η διβενζόυλ θα παραμείνει στον οξικό αιθυλεστέρα. Στη συνέχεια στο υδατικό διάλυμα το βενζοϊκό νάτριο με οξίνιση (προσθήκη οξέος) θα μετατραπεί σε βενζοϊκό οξύ το οποίο θα ανακτηθεί, αφού είναι αδιάλυτο στο νερό. Αυτός ο τύπος διαχωρισμού γίνεται με **εκχύλιση υγρού ή στερεού σώματος διαλυμένου σε υγρό από άλλο υγρό (liquid-liquid extraction)**.

Επίσης μία **οργανική βάση** (πχ τριαιθυλαμίνη, ανιλίνη) μπορεί να διαχωριστεί με αντίστοιχο τρόπο. Με οξίνιση (προσθήκη οξέος) της οργανικής βάσης θα σχηματιστεί το αντίστοιχο υδατοδιαλυτό προϊόν (άλας). Αν μετά την κατανομή του άλατος στην υδατική φάση προστεθεί βάση, θα επανασηματιστεί η οργανική βάση.

## Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης

Ο διαχωρισμός  $C_6H_5COOH$  (βενζοϊκό οξύ) από άλλες οργανικές και ανόργανες προσμίξεις.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

### Υλικά

- Διαχωριστική Χοάνη
- Ζυγός
- Στήριγμα & Κρίκος
- σταγονομετρική πιπέττα
- Ποτήρι ζέσεως
- Κωνική φιάλη (50 mL)
- Ογκομετρικοί κύλινδροι 25mL, 10mL.

### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Οξικός αιθυλεστέρας
- Διάλυμα  $Na_2CO_3$  1N
- Διάλυμα HCl 1N
- Μίγμα: βενζοϊκού οξέος, NaCl  
Διβενζόουλ

### Πειραματική Διαδικασία:

1. Ζυγίστε 1,5g του μίγματος ενώσεων (βενζοϊκό οξύ, διβενζόουλ, μικρή ποσότητα NaCl)
  2. Διαλύστε το μίγμα των ενώσεων σε 15 mL οξικού αιθυλεστέρα σε μία κωνική φιάλη των 50 mL.
    - Διάλυση βενζοϊκού οξέος και διβενζόουλ
  3. Προσθέστε 10 mL  $H_2O$  και αναδέψτε καλά
    - Διάλυση NaCl
  12. Μεταφέρετε το περιεχόμενο της κωνικής στην εκχυλιστική χοάνη.
  13. Προσθέστε 7 mL διαλύματος  $Na_2CO_3$  1N.
  5. Ανακινήστε έντονα την εκχυλιστική χοάνη **κάνοντας περιοδικά απαέρωση**.
    - Πραγματοποιείται η αντίδραση:  
$$2C_6H_5COOH + Na_2CO_3 \longrightarrow 2 C_6H_5COONa + H_2O + CO_2$$
    - Παράλληλα πραγματοποιείται εκχύλιση
- Εκχυλιζόμενη ουσία:**  $C_6H_5COONa$
- Εκχυλιστής:**  $H_2O$
6. Αφήστε τις φάσεις να διαχωριστούν πλήρως
    - **Υδατική Φάση :**  $C_6H_5COONa$ , NaCl
    - Οργανική Φάση (οξικός αιθυλεστέρας):** διβενζόουλ

7. Μετά το τέλος της εκχύλισης στην υδατική φάση ελέγξτε το pH.
- Γίνεται έλεγχος ολοκλήρωσης της αντίδρασης μετατροπής του  $C_6H_5COOH$  σε  $C_6H_5COONa$  αφού υπάρχει περίσσεια  $Na_2CO_3$  ( $pH > 7$ ).
  - Αν δεν έχει ολοκληρωθεί η μετατροπή προσθέστε επιπλέον  $Na_2CO_3$  επαναλάβετε την εκχύλιση έως  $pH > 7$
8. Διαχωρίστε την οργανική από την υδατική φάση – Απορρίψτε την οργανική φάση που περιέχει τη διβενζόυλ.
9. Συλλέξτε την υδατική φάση (περιέχει το  $C_6H_5COONa$  και  $NaCl$ ) και προσθέστε  $HCl$  1N (οξίνιση)
- Πραγματοποιείται η αντίδραση:  

$$C_6H_5COONa + HCl \longrightarrow C_6H_5COOH \downarrow + NaCl$$
10. Ελέγξτε το pH ( $pH < 7$ )
- Γίνεται έλεγχος ολοκλήρωσης της αντίδρασης μετατροπής του  $C_6H_5COONa$  σε  $C_6H_5COOH$ , αφού υπάρχει περίσσεια  $HCl$  ( $pH < 7$ ).
  - Αν δεν έχει ολοκληρωθεί η μετατροπή προσθέστε επιπλέον  $HCl$  έως  $pH < 7$
11. Πραγματοποιήστε Διήθηση με πτυχωτό ηθμό.
- Το Διήθημα: περιέχει  $NaCl$  και απορρίπτεται  
 Ηθμός: στερεό  $C_6H_5COOH$
12. Αφήστε το στερεό  $C_6H_5COOH$  στον ηθμό ώστε σιγά-σιγά να απομακρυνθεί το νερό που περιέχει.
13. Ζυγίστε το  $C_6H_5COOH$

**ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ:** Συχνά κατά τη διάρκεια της εκχύλισης παράγονται αέρια που αν δεν απομακρυνθούν με απαέρωση/εκτόνωση υπάρχει κίνδυνος έκρηξης.

#### **ΕΡΓΑΣΙΑ**

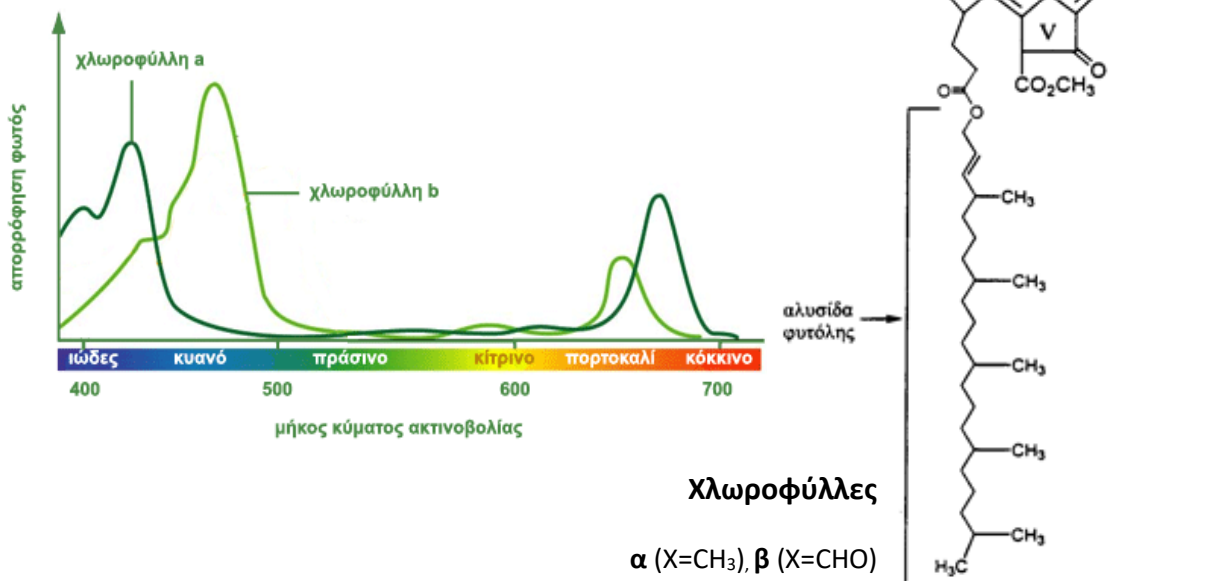
1. Τι θα συνέβαινε στην περίπτωση που στο μίγμα υπήρχε και σαλικυλικό οξύ;
2. Γιατί οι διαλύτες αιθανόλη και μεθανόλη αναμιγνύονται με το νερό; (δικαιολογήστε).

## ΠΕΙΡΑΜΑ 1B

### Εισαγωγή

Οι χλωροφύλλες είναι χρωστικές που εμπλέκονται στη φωτοσύνθεση και είναι υπεύθυνες για τη δέσμευση της φωτεινής ακτινοβολίας. Οι χλωροφύλλες είναι πολύπλοκες οργανικές ενώσεις που απαντώνται στα φυτά, στα πρώτιστα, στα κυανοφύκη και σε ορισμένα βακτήρια (βακτηριοχλωροφύλλες). Στο κέντρο του μόριου τους φέρουν ένα άτομο μαγνησίου. Οι συνηθέστεροι τύποι χλωροφυλλών είναι η χλωροφύλλη α και η χλωροφύλλη β, που διαφέρει ελάχιστα ως προς τη δομή της από τη χλωροφύλλη α όπως φαίνεται στο σχήμα. Λόγω της απορρόφησης της μπλε και την ερυθρής ακτινοβολίας και της ανάκλασης την πράσινης ακτινοβολίας, δίνουν στα φυτά το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα.

Το φάσμα απορρόφησης των Χλωροφυλλών α και β είναι το ακόλουθο:



«Οι χλωροφύλλες λαμβάνονται με εκχύλιση με διαλύτες φυσικών ποικιλιών βρωσίμων φυτικών υλών, αγρωστωδών, τριφυλλιού και τσουκνίδας. Ακολουθεί απομάκρυνση του διαλύτη, κατά την οποία μπορεί επίσης να απομακρυνθεί, πλήρως ή μερικώς, το φυσικό συμπλοκοποιημένο μαγνήσιο, οπότε προκύπτουν οι αντίστοιχες φαιοφυτίνες. Οι κύριες χρωστικές ύλες είναι οι φαιοφυτίνες και οι μαγνησιοχλωροφύλλες. Το εκχύλισμα, από το οποίο έχει απομακρυνθεί ο διαλύτης, περιέχει επίσης άλλες χρωστικές, όπως

καροτενοειδή, καθώς και έλαια, λίπη και κηρούς προερχόμενα από την πρώτη ύλη. Για την εκχύλιση επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται μόνο οι εξής διαλύτες: ακετόνη, μεθυλ-αιθυλ-κετόνη, διχλωρομεθάνιο, διοξείδιο του άνθρακα, μεθανόλη, αιθανόλη, προπανόλη-2 και εξάνιο»

«Κηρώδες στερεό, του οποίου το χρώμα ποικίλλει από πράσινο της ελιάς έως βαθύ πράσινο ανάλογα με την περιεκτικότητα σε συμπλοκοποιημένο μαγνήσιο.»

Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης: ΟΔΗΓΙΑ 2008/128/ΕΕ, 22/12/2008 για τη θέσπιση ειδικών κριτηρίων καθαρότητας για τις χρωστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα



**Φύλλα Στέβιας (Αποξηραμένα)**

Είναι 10 με 15 φορές πιο γλυκά από την ζάχαρη τεύτλων. Για την αποξήρανση τους, δηλαδή την απομάκρυνση του νερού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν αφυγραντήρες αλλά και φούρνοι με χαμηλή ένταση.



**Σόγια**

Ο καρπός της σόγιας περιέχει περίπου 40% πρωτεΐνες υψηλής βιολογικής αξίας εφόσον περιέχει και όλα τα απαραίτητα για τη διατροφή αμινοξέα, 15% διαλυτούς και 15% αδιάλυτους υδατάνθρακες, 20% λάδι και είναι επίσης πολύ πλούσιος σε βιταμίνες και μεταλλικά στοιχεία.

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Εκχύλιση α- και β- χλωροφύλλης από δείγμα ζωοτροφών.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

#### **Υλικά**

- ζυγός
- στήριγμα
- κρίκος
- ιγδίο πορσελάνης
- ογκομετρικός κύλινδρος 25 mL
- ογκομετρική φιάλη 100mL
- ποτήρι ζέσεως
- Χωνί

#### **Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες**

- Ακετόνη, Aceton
- Μίγμα ζωοτροφών: αλεσμένα φύλλα Στέβιας και αλεσμένος καρπός σόγιας

#### **Πειραματική Διαδικασία**

1. Ζυγίστε 1,5 g ζωοτροφής.  
(μίγμα αποξηραμένων φύλλων στέβιας και αλεσμένης σόγιας)
2. Μεταφέρετε το μίγμα σε ιγδίο (γουδί).
3. Λειοτριβήστε το μίγμα και εκχυλίστε τις χρωστικές με 25 mL ακετόνης  
➤ *Εκχύλιση στερεού-υγρού,*  
*Εκχυλιστής διαλύτης: Ακετόνη*  
*Εκχυλιζόμενη ουσία: Χλωροφύλλες α και β*
4. Διηθήστε και παραλάβετε το διήθημα σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL.
5. Επαναλαμβάνετε την εκχύλιση με επιπλέον 25 mL ακετόνης.
6. Διηθήστε και παραλάβετε το διήθημα στην ίδια ογκομετρική ογκομετρική φιάλη.
7. Συμπληρώστε με ακετόνη την ογκομετρική φιάλη μέχρι τη χαραγή.

## ΠΕΙΡΑΜΑ 1Γ

### Εισαγωγή-Καροτένιο

#### A. Καροτενοειδή

Τα καροτενοειδή είναι οργανικές φυσικές χρωστικές ουσίες που βρίσκονται στους χλωροπλάστες και χρωμοπλάστες πολλών φωτοσυνθετικών οργανισμών. Βασικό τους χαρακτηριστικό είναι ότι η δομή τους αποτελείται από 40 άτομα άνθρακα και εμπεριέχει ένα εκτεταμένο σύστημα συζυγιακών διπλών δεσμών<sup>1</sup> με αποτέλεσμα τα μόρια αυτά να απορροφούν το ιώδες και το κυανό φως. Έτσι, τελικά τα μόρια αυτά είναι ορατά με χρώμα κίτρινο, πορτοκαλί ή ερυθρό. Ως αποτέλεσμα, ένα μεγάλο πλήθος φυσικών προϊόντων οφείλουν το χρωματισμό τους στη μεγάλη περιεκτικότητά τους σε καροτενοειδή (πχ καρότα, τομάτες κλπ). Τα καροτενοειδή, επειδή αποτελούν αβλαβείς φυσικές χρωστικές ουσίες βρίσκουν ευρύτατη χρήση στη βιομηχανία τροφίμων και η παρουσία πολλών από αυτά (καθαρών μορίων ή μιγμάτων) επισημαίνεται στην ετικέτα των τροφίμων ως "αριθμοί Ε", οι οποίοι είναι χαρακτηριστικοί για κάθε επιτρεπόμενο πρόσθετο.

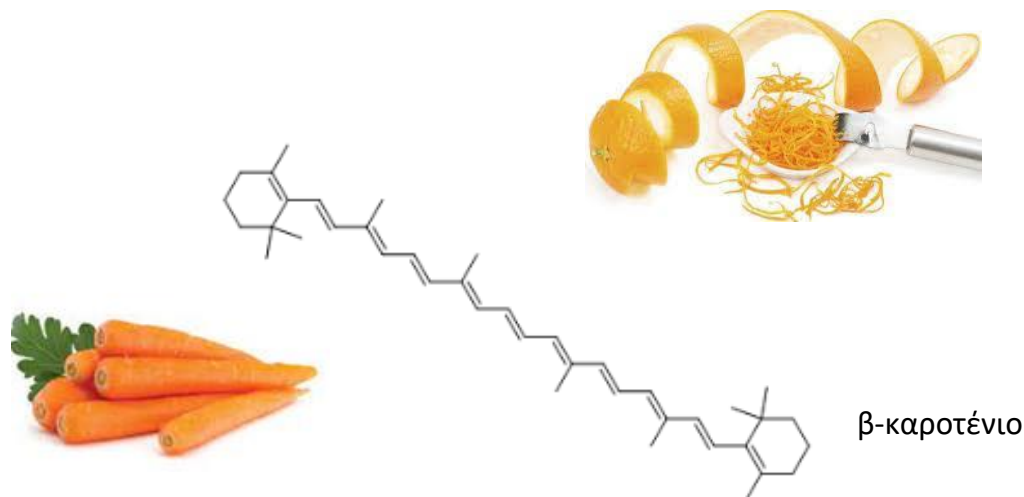
Έως σήμερα, έχουν απομονωθεί και αναγνωριστεί περισσότερα από 600 καροτενοειδή, τα οποία διακρίνονται σε καροτένια και ξανθοφύλλες. Τα καροτένια αποτελούνται αποκλειστικά από άνθρακα και υδρογόνο και έχουν γενικό τύπο:  $C_{40}H_{x}$ , ενώ οι ξανθοφύλλες περιέχουν και άτομα οξυγόνου (π.χ. υδροξυλομάδες, καρβονυλομάδες, καρβοξυλικές ομάδες, εστέρες). Τα καροτενοειδή χαρακτηρίζονται από μια κεντρική γραμμική αλυσίδα με την αλληλουχία των συζυγιακών διπλών δεσμών. Στα δύο άκρα της αλυσίδας υπάρχουν οι πλευρικές ομάδες που διαφέρουν ανάλογα με το μόριο. Οι πλευρικές αυτές ομάδες μπορεί να είναι ίδιες ή διαφορετικές μεταξύ τους, κυκλικές ή όχι. Παρότι τα μόρια αυτά βρίσκονται σε όλα τα φωτοσυνθετικά κύτταρα, το χρώμα τους καλύπτεται από το πράσινο της χλωροφύλλης, ενώ η ενέργεια που απορροφούν μπορεί να μεταφερθεί στη χλωροφύλλη. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι σε καταστάσεις έντονου φωτισμού, τα καροτενοειδή προστατεύουν τη χλωροφύλλη, ενώ είναι γνωστό ότι τα μόρια αυτά προσλαμβάνουν την επιπλέον ενέργεια από τη χλωροφύλλη και την αποδίδουν ως θερμότητα, αντί αυτή η ενέργεια να αποδοθεί στο οξυγόνο, γεγονός που

---

<sup>1</sup> Συζυγιακό σύστημα διπλών δεσμών είναι η εναλλαγή σε ένα μόριο διπλού και απλού δεσμού (ο ένας μετά τον άλλον).



θα επέφερε τη φωτοξείδωση και καταστροφή του φωτοσυνθετικού μηχανισμού. Το φθινόπωρο, όταν πλέον η χλωροφύλλη αποσυντίθεται, τότε γίνεται ορατό το χρώμα τους. Στον άνθρωπο, τα καροτενοειδή (κυρίως το **β-καροτένιο**, το πιο άφθονο καροτένιο στις τροφές) δρουν ως προβιταμίνη Α, αφού έχουν τη δυνατότητα να μετατρέπονται σε ρετινάλη, η οποία έχει επίσης σημαντική αντιοξειδωτική ικανότητα.



*«Μείγματα καροτενίων λαμβάνονται από φυσικές ποικιλίες εδώδιμων φυτών, καρότα, φυτικά έλαια, χορτάρι, ήμερο τριφύλλι (μηδική η ήμερος) και τσουκνίδα (κνίδη) δι' εκχύλισης αυτών με διαλύτη. Η κύρια χρωστική ουσία αποτελείται από καροτενοειδή, μεταξύ των οποίων υπερिशύει το β-καροτένιο. Ενδέχεται να περιέχονται επίσης α-καροτένιο, γ-καροτένιο και άλλες χρωστικές. Εκτός από τις χρωστικές, το προϊόν ενδέχεται να περιέχει έλαια, λίπη και κηρούς που αποτελούν φυσικά συστατικά της πρώτης ύλης. Για την εκχύλιση μπορούν να χρησιμοποιούνται μόνον οι εξής διαλύτες: ακετόνη, μεθυλαιθυλκετόνη, μεθανόλη, αιθανόλη, προπανόλη-2, εξάνιο (1), διχλωρομεθάνιο και διοξείδιο του άνθρακα»*

*Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης: ΟΔΗΓΙΑ 2008/128/ΕΕ, 22/12/2008 για τη θέσπιση ειδικών κριτηρίων καθαρότητας για τις χρωστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα*

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης :** Εκχύλιση β-καροτενίου από καρότο και φλούδα πορτοκαλιού.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.



ντομάτας (ντοματοχυμός, ντοματοπελτές, σκόνη ντομάτας). Το όνομά του προέρχεται από τη συστηματική ονομασία της ντομάτας: ***Solanum lycopersicum***. Λόγω της υψηλής ακορεστότητάς του το λυκοπένιο είναι μία από τις πλέον ισχυρές αντιοξειδωτικές ουσίες φυτικής προέλευσης.

Ο βασικός ρόλος του στους ιστούς είναι η αποτελεσματική εξουδετέρωση των οξυγονούχων ελεύθερων ριζών και των δραστικών οξυγονούχων ενώσεων (reactive oxygen species, ROS), που δημιουργούνται στους αερόβιους οργανισμούς κατά τις βιοχημικές μεταβολικές διεργασίες, όπως και κατά τις ενεργειακές διεργασίες που πραγματοποιούνται στα μιτοχόνδρια. Με τον τρόπο αυτό το λυκοπένιο προλαμβάνει ζημιές στο DNA και βοηθά στην καλύτερη λειτουργία των κυττάρων. Το λυκοπένιο αποτελεί πρόδρομη ένωση της βιοσύνθεσης όλων των καροτενοειδών.

Η βιοσύνθεση του λυκοπενίου πραγματοποιείται μόνο στους φυτικούς οργανισμούς και ο άνθρωπος το λαμβάνει αποκλειστικά μέσω της τροφής και κυρίως μέσω της κατανάλωσης τομάτας και επεξεργασμένων προϊόντων της. Ως εξαιρετικά λιπόφιλη ένωση το λυκοπένιο συσσωρεύεται στους λιπαρούς ιστούς, στο αίμα (με τη βοήθεια λιποπρωτεϊνών), όπως επίσης και στις μεμβράνες των κυττάρων.

Διατροφή πλούσια σε λυκοπένιο έχει ευεργετικά αποτελέσματα στην υγεία και υπάρχουν ενδείξεις ότι περιορίζει την πιθανότητα εμφάνισης διάφορων τύπων καρκίνων και ιδιαίτερα του καρκίνου του προστάτη. Επίσης, αναφέρεται ότι περιορίζει τον κίνδυνο εμφάνισης διάφορων καρδιαγγειακών νόσων, της εκφύλισης της ωχράς κηλίδας και καταρράκτη, όπως και άλλων εκφυλιστικών νόσων στα ηλικιωμένα άτομα. Αυτό δεν αποδεικνύει την προστατευτική αξία του ίδιου του λυκοπενίου μόνου του, εφόσον μαζί του προσλαμβάνονται πολλά άλλα χρήσιμα συστατικά, ωστόσο στο εμπόριο κυκλοφορούν πολλά διατροφικά συμπληρώματα πλούσια σε λυκοπένιο.

*«Το λυκοπένιο λαμβάνεται με εκχύλιση με διαλύτες φυσικών ποικιλιών της τομάτας (*Lycopersicon esculentum* L.), ακολουθούμενη από απομάκρυνση του διαλύτη. Επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται μόνον οι εξής διαλύτες: διχλωρομεθάνιο, διοξείδιο του άνθρακα, οξικός αιθυλεστέρας, ακετόνη, προπανόλη-2, μεθανόλη, αιθανόλη, εζάνιο. Το κύριο χρωμοφόρο συστατικό της τομάτας είναι το λυκοπένιο ενώ σε μικρές ποσότητες απαντούν και άλλα*

*καροτενοειδή. Εκτός από τις χρωστικές, το προϊόν ενδέχεται να περιέχει έλαια, λίπη, κηρούς και αρτυματικές ύλες που αποτελούν φυσικά συστατικά της τομάτας.»*

*Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης: ΟΔΗΓΙΑ 2008/128/ΕΕ, 22/12/2008 για τη θέσπιση ειδικών κριτηρίων καθαρότητας για τις χρωστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα*

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης :** Εκχύλιση Λυκοπενίου από χυμό τομάτας

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

**Υλικά**

**Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες**

- |                            |                       |
|----------------------------|-----------------------|
| • Μαγνητικός αναδευτήρας   | • Χυμός ντομάτας      |
| • Σφαιρική φιάλη των 50 mL | • Οξικός αιθυλεστέρας |
| • Μαγνήτης ανάδευσης       |                       |

**Πειραματική διαδικασία**

1. Σε σφαιρική φιάλη μεταφέρετε 5g χυμού ντομάτας και προσθέτετε 10 mL οξικού αιθυλεστέρα.
2. Αναδέψτε το μίγμα για 30 min.
3. Συλλέξτε το εκχύλισμα και μεταφέρετε το σε περιέκτη

## 2<sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ

### ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ

#### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

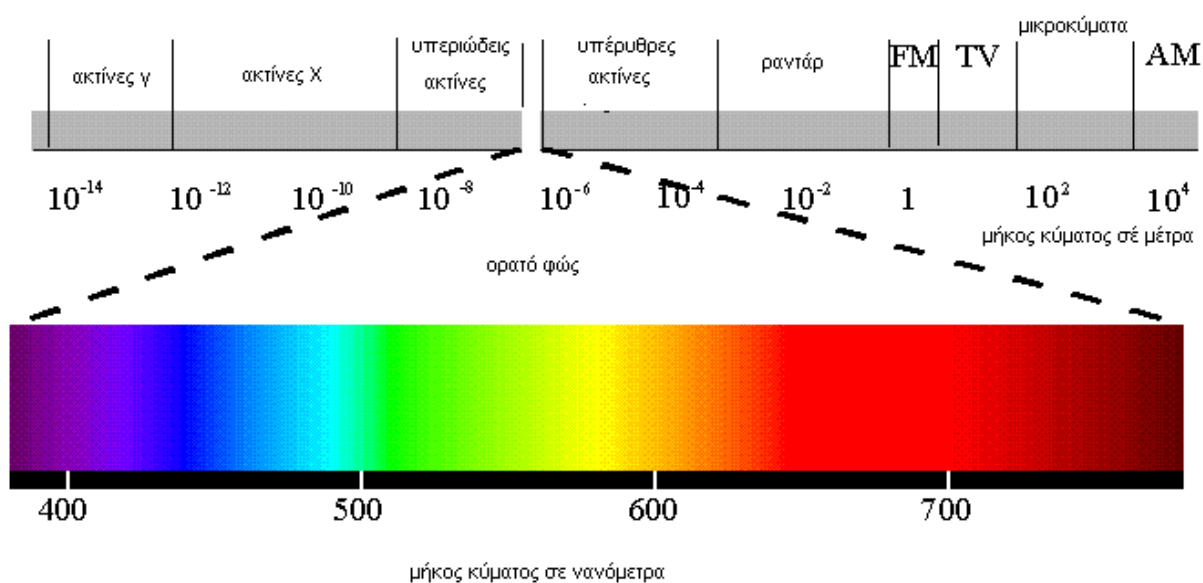
Οι φασματοσκοπικές μέθοδοι χημικής ανάλυσης, όπου ανήκει και η φασματοφωτομετρία UV-VIS, χρησιμοποιούνται για την επίλυση διαφόρων χημικών προβλημάτων, που έχουν σχέση: με τη δομή, την ταυτοποίηση, την ποιοτική ή ποσοτική ανάλυση διαφόρων ενώσεων, κ.α.

Τα πλεονεκτήματά τους είναι:

1. Απαιτούνται μικρές ποσότητες δείγματος.
2. Τα δείγματα ανακτούνται.
3. Έχουν μεγάλη ακρίβεια.
4. Παρουσιάζουν μεγάλη ευαισθησία.
5. Είναι ταχύτερες μέθοδοι.

Βασίζονται κυρίως στην επίδραση κατάλληλης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας σε μια ουσία, που δεσμεύεται από τα άτομα, ή τα μόρια της ύλης.

#### Α. Ηλεκτρομαγνητικό Φάσμα



<http://users.sch.gr/>

Για την μελέτη της αλληλεπίδρασης ακτινοβολίας με την ύλη αναπτύχθηκαν οι ακόλουθες τεχνικές:

### **Φασματοσκοπικές Τεχνικές**

Βασίζονται στην ικανότητα διαφόρων ουσιών να εκπέμπουν ή να αλληλεπιδρούν με ακτινοβολία χαρακτηριστικών συχνοτήτων.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!** Πραγματοποιείται καταγραφή φασμάτων (μήκος κύματος και ισχύος-εντάσεως) της ακτινοβολίας)

### **Μη Φασματοσκοπικές Τεχνικές.**

Βασίζονται στην αλληλεπίδραση ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας και ύλης, η οποία συνεπάγεται αλλαγή στη διεύθυνση ή τις φυσικές ιδιότητες της ακτινοβολίας.

**ΠΡΟΣΟΧΗ!** Δε χρησιμοποιούνται/καταγράφονται φάσματα.

Παραδείγματα αλληλεπίδρασης Ακτινοβολίας και ύλης αποτελούν:

#### **1. Ακτινοβολία Υπεριώδους-ορατού (Ultraviolet-Visible – UV-Vis, ακτινοβολία 200 – 800 nm)**

*Η απορρόφηση της ορατής ή υπεριώδους ακτινοβολίας προκαλεί μεταπτώσεις ηλεκτρονίων εξωτερικών στοιβάδων.*

#### **2. Ακτινοβολία Υπερύθρου (Infra Red – IR)**

*Η απορρόφηση υπερύθρου ακτινοβολίας προκαλεί διεγέρσεις δόνησης, παραμόρφωσης και περιστροφής των δεσμών των μορίων.*

### **B. Φασματοσκοπία Υπεριώδους Ορατού**

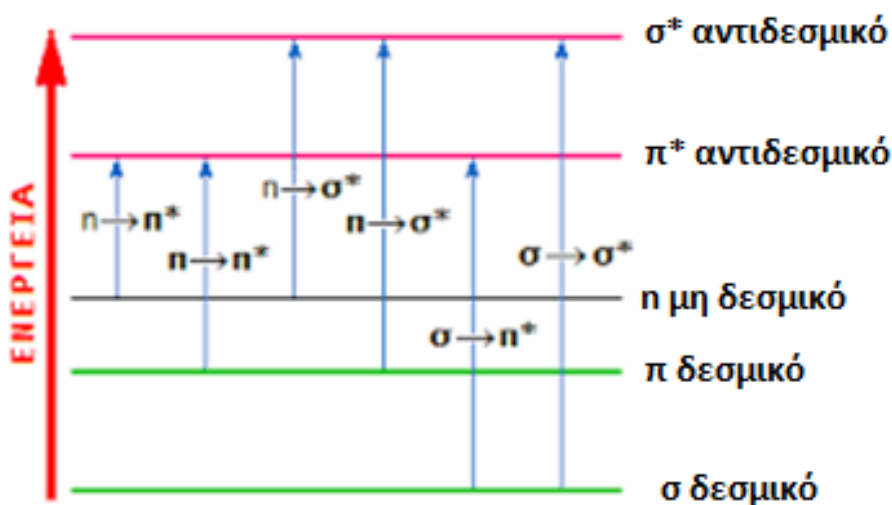
Το τμήμα του μορίου που είναι υπεύθυνο για την απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας καλείται **χρωμοφόρο**. Αυτό μπορεί να είναι μία χαρακτηριστική ομάδα, ένας απομονωμένος πολλαπλός δεσμός ή ένα σύστημα πολλαπλών δεσμών.

Παραδείγματα Χρωμοφόρων ομάδων: C=O, C=C, C=N, N=O, N=N κ.ά.

Η απορρόφηση της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας επηρεάζεται και από ομάδες που ονομάζονται **Αυξόχρωμες** και είναι κορεσμένες ομάδες που διαθέτουν ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων (-OH, -OR, -NH<sub>2</sub>, αλογόνα).

Σύμφωνα με την θεωρία των μοριακών τροχιακών, η διέγερση ενός ηλεκτρονίου σθένους λόγω απορρόφησης ακτινοβολίας αντιστοιχεί στην μετάβαση ενός ηλεκτρονίου από τη

δεσμική κατάσταση σε αντιδεσμική καθώς επίσης από την μη δεσμική στην αντιδεσμική όπως φαίνεται στο παρακάτω σχήμα:

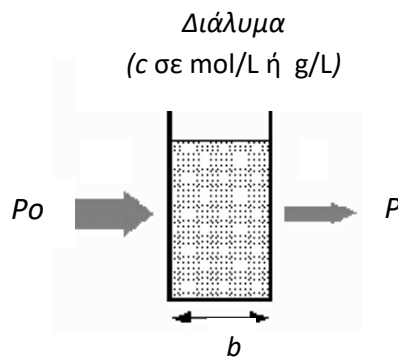


Στις διάφορες οργανικές ενώσεις πραγματοποιούνται διεγέρσεις του τύπου:

- $\sigma \rightarrow \sigma^*$  Η μετάπτωση αυτή εμφανίζεται στους απλούς δεσμούς (πχ κορεσμένοι υδρογονάνθρακες C-H, C-C) και η ενέργεια που απαιτείται είναι ιδιαίτερα μεγάλη. Τα μέγιστα της απορρόφησης αυτών των μεταπτώσεων σπάνια παρατηρούνται. Μπορούν να προέλθουν από ακτινοβολία έως 150 nm.
- $n \rightarrow \sigma^*$  Η μετάπτωση αυτή εμφανίζεται σε κορεσμένες ενώσεις που περιέχουν άτομα με ελεύθερα ζεύγη ηλεκτρονίων (μη δεσμικά ηλεκτρόνια) στις αλκοόλες (-OH), αιθέρες (R-O-R), αλκυλαλογονίδια (R-X), αμίνες (RNH<sub>2</sub>, R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>NH, R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>R<sub>3</sub>N) κ.α. Μπορούν να προέλθουν από ακτινοβολία 150-250nm.
- $\pi \rightarrow \pi^*$  &  $n \rightarrow \pi^*$  Η ενέργεια που απαιτείται για τις μεταπτώσεις αυτές προέρχεται από ακτινοβολία 200-700 nm. Οι μεταπτώσεις  $\pi \rightarrow \pi^*$  παρατηρούνται σε αλκένια C=C και αλκίνια (C≡C) και οι μεταπτώσεις  $n \rightarrow \pi^*$  παρατηρούνται σε καρβονυλικές ενώσεις (R<sub>1</sub>R<sub>2</sub>C=O, RHC=O), καρβοξυλικές ενώσεις (-COO<sup>-</sup>), αμίδια (RCONHR), κ.α.

### Γ. Νόμος Των Beer-Lambert

Η ένταση/ισχύς της ακτινοβολίας του φωτός που προσπίπτει σε ένα διάλυμα και η ποσότητα της ακτινοβολίας που απορροφάται από αυτό, σε σχέση με την περιεκτικότητα σε διαλυμένη ουσία εκφράζεται από τον Νόμο των Beer-Lambert.



Ισχύει:

$$A = \log(P_0 / P) = \log(1/T) = \log 1 - \log T = -\log T = -\log 10^{-\epsilon lc} = \epsilon bc_{\text{mol/L}} = \alpha bc_{\text{g/L}}$$

$A$  = **Απορρόφηση** (Absorbance). Καθαρός αριθμός.

$P_0$  = Ισχύς της προσπίπτουσας ακτινοβολίας.

$P$  = Ισχύς της εξερχόμενης από το διάλυμα ακτινοβολίας.

$T$  = **Διαπερατότητα** (Transmittance) =  $P/P_0$  που εκφράζεται συνήθως επί τοις %  $T$ .

$c$  = η συγκέντρωση του διαλύματος σε mol/L ή g/L.

$b$  = το μήκος της διαδρομής που διάνυσε η δέσμη μέσα στο διάλυμα σε cm.

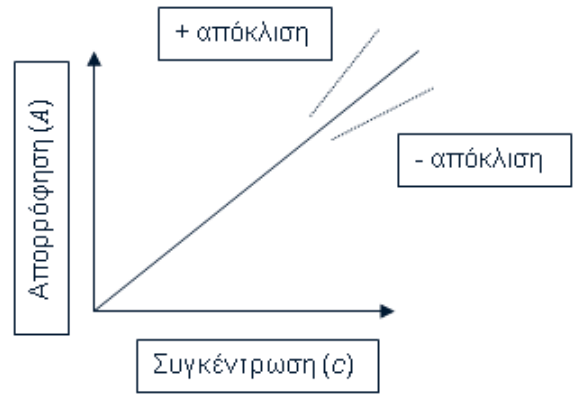
$\epsilon$  = σταθερά αναλογίας που ονομάζεται μοριακή απορροφητικότητα (molar absorptivity) όταν η  $c$  εκφράζεται σε mol/L.

$\alpha$  = σταθερά αναλογίας που ονομάζεται απορροφητικότητα (absorptivity) όταν η  $c$  εκφράζεται σε g/L.

Η γραφική απεικόνιση του νόμου Beer-Lambert δηλαδή του ποσοστού της ακτινοβολίας που απορροφάται από το διάλυμα ( $A$ ) μιας ουσίας σε μήκος κύματος  $\lambda_{\text{max}}$  σε σχέση με την συγκέντρωση ( $C$ ) της ουσίας λέγεται **πρότυπη καμπύλη** και είναι γραμμική. Η συνάρτηση  $A=f(C)$  χρησιμεύει στο να διαπιστωθεί αν η ουσία που αναλύεται ακολουθεί τον νόμο Beer-Lambert και στο να υπολογιστεί η συγκέντρωση της ουσίας σ' ένα διάλυμα άγνωστης συγκέντρωσης.



Συχνά σε πολύ ψηλές συγκεντρώσεις ουσίας, η σχέση  $A=f(C)$  παύει να είναι γραμμική. Η περιοχή αυτής της πρότυπης καμπύλης δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό άγνωστης συγκεντρώσεως ουσίας, διότι δεν ακολουθείται πια ο νόμος Beer-Lambert.

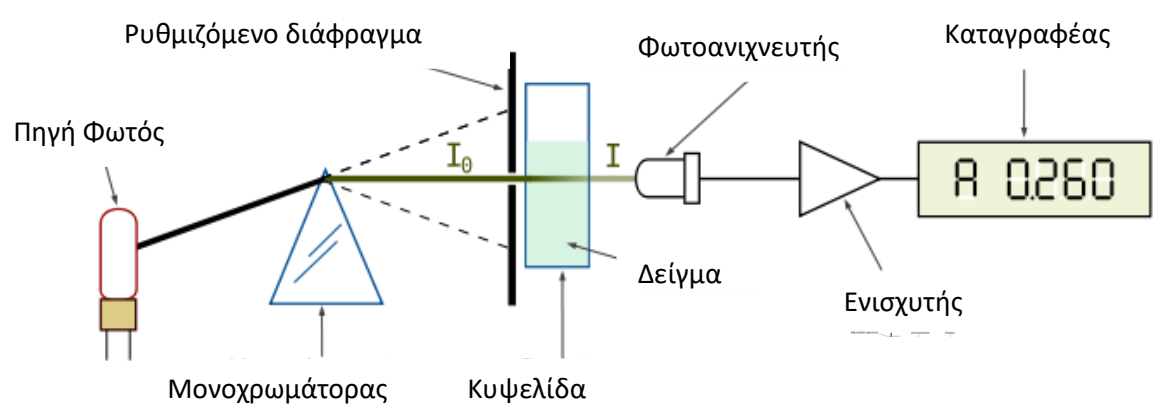


Ο νόμος Beer-Lambert ισχύει με τις εξής προϋποθέσεις :

- Τα διαλύματα δεν είναι πυκνά (απορρόφηση από 0,1 έως 1).  
Στα πυκνά διαλύματα οι αποστάσεις μεταξύ των μορίων μικραίνουν. Όταν οι αποστάσεις είναι πολύ μικρές τότε χάνεται η ικανότητα των μορίων να απορροφούν στο συγκεκριμένο  $\lambda$ , γιατί αλληλεπιδρούν μεταξύ τους.
- Ο μόνος μηχανισμός αλληλεπίδρασης μεταξύ διαλυμένης ουσίας και ακτινοβολίας είναι η απορρόφηση.
- Η ακτινοβολία που πέφτει στο δείγμα είναι μονοχρωματική
- Το δείγμα βρίσκεται σε κυψελίδα με ομοιόμορφη διατομή
- Τα σωματίδια που απορροφούν δρουν ξεχωριστά το ένα από το άλλο και άσχετα προς τον αριθμό και το είδος τους.  $A_{ολ} = A_1 + A_2 + \dots$

**Δ. Φασματοφωτόμετρο**

Η μέτρηση της Απορρόφησης της ακτινοβολίας γίνεται από με τα φασματοφωτόμετρα.



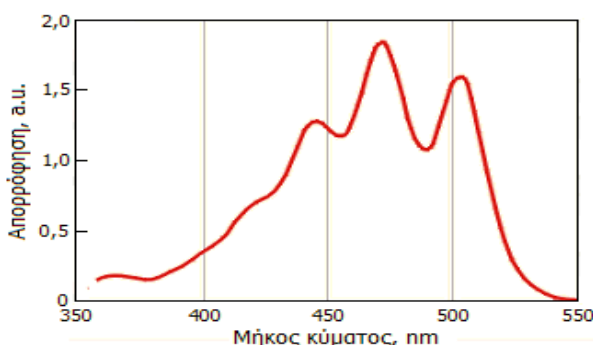
Τα φασματοφωτόμετρα αποτελούνται από τις παρακάτω βασικές δομικές μονάδες :

- Πηγή ακτινοβολίας σταθερής ισχύος

- **Επιλογέα μήκους κύματος** για την απομόνωση της επιθυμητής ακτινοβολίας - **Μονοχρωμάτορας** και **ρυθμιζόμενο διάφραγμα**.
- **Κυψελίδα** για την τοποθέτηση δείγματος
- **Ανιχνευτή ακτινοβολίας**, που μετατρέπει το οπτικό σήμα σε ηλεκτρικό
- **Σύστημα μέτρησης**, που αποτελείται από **ενισχυτή σήματος** και **όργανο ανάγνωσης**.

### Ε. Φάσμα απορρόφησης

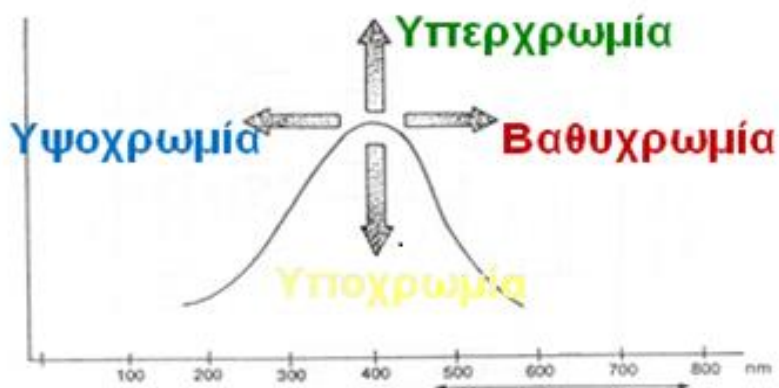
Η καταγραφή της απορρόφησης, της διαπερατότητας ή της έντασης της ακτινοβολίας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος, ή τη συχνότητα της ακτινοβολίας αποτελεί το **φάσμα απορρόφησης**.



### ΣΤ. Πως επηρεάζουν οι αυξόχρωμες και οι χρωμοφόρες ομάδες την απορρόφηση

Ανάλογα με την παρουσία ή την απουσία των αυξόχρωμων ή χρωμοφόρων ομάδων στα μόρια παρατηρούνται οι ακόλουθες μεταβολές:

**Βαθυχρωμία:** Η μετατόπιση της απορρόφησης σε μεγαλύτερα μήκη κύματος. Προκαλείται από την παρουσία χρωμοφόρων ομάδων. Η παρουσία αυξόχρωμης ομάδας εντείνει, σε κάποιο βαθμό, τη βαθυχρωμία.



**Υψοχρωμία:** Η απομάκρυνση χρωμοφόρου ή αυξόχρωμης, σε μικρότερο βαθμό, ομάδας μετατοπίζει την απορρόφηση σε μικρότερα μήκη κύματος .

**Υπερχρωμία:** Αύξηση της μοριακής απορροφητικότητας και επομένως αύξηση της απορρόφησης. Παρατηρείται με προσθήκη αυξόχρωμης ομάδας.

**Υποχρωμία:** Μείωση της μοριακής απορροφητικότητας και επομένως μείωση της απορρόφησης. Παρατηρείται με την απομάκρυνση από το μόριο αυξόχρωμης ομάδας.

## Εφαρμογή

Η φασματοφωτομετρία χρησιμοποιείται για:

1. τον προσδιορισμό της δομής μίας ένωσης
2. τον ποιοτικό προσδιορισμό μίας ουσίας
3. την ποσοτική ανάλυση μίας ουσίας ή μίγματος ουσιών κ.ά.

## Ποσοτική Ανάλυση Δείγματος

1. **Καταγράφεται το φάσμα απορρόφησης του δείγματος**
2. **Επιλέγεται** το κατάλληλο μήκος κύματος ( $\lambda_{max}$ ), δηλαδή αυτό στο οποίο παρατηρείται η **μέγιστη απορρόφηση** για το δεδομένο δείγμα.
  - Παρατήρηση: Εάν δεν επιλεγόταν το μήκος κύματος της μέγιστης απορρόφησης αλλά ένα άλλο, το οποίο αντιστοιχεί σε ένα από τα απότομα τμήματα της καμπύλης του φάσματος, η ανάλυση θα ήταν προβληματική, αφού ακόμη και μια μικρή διακύμανση του μήκους κύματος είναι δυνατόν να προκαλούσε ένα μεγάλο σφάλμα στην απορρόφηση.
3. Αφού επιλεγεί το σωστό μήκος κύματος, στη συνέχεια θα πρέπει να κατασκευαστεί η **καμπύλη βαθμονόμησης ή καμπύλη αναφοράς** (πρότυπη καμπύλη).

**Η ΚΑΜΠΥΛΗ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ Ή ΚΑΜΠΥΛΗ ΑΝΑΦΟΡΑΣ** είναι η γραφική παράσταση που απεικονίζει το ποσοστό της ακτινοβολίας που απορροφάται από το διάλυμα μιας ουσίας (A) σε μήκος κύματος  $\lambda_{max}$ , σε σχέση με την συγκέντρωση της ουσίας (C). Αποτελεί απεικόνιση της απορρόφησης συναρτήσει της συγκέντρωσης για μια σειρά πρότυπων διαλυμάτων των οποίων οι συγκεντρώσεις είναι γνωστές με ακρίβεια.

Η συνάρτηση  $A=f(C)$  χρησιμεύει στο να διαπιστώσουμε αν η ένωση που εξετάζουμε ακολουθεί τον νόμο Lambert-Beer και για να υπολογίσουμε την συγκέντρωση της ουσίας σ' ένα διάλυμα της άγνωστης συγκέντρωσης.

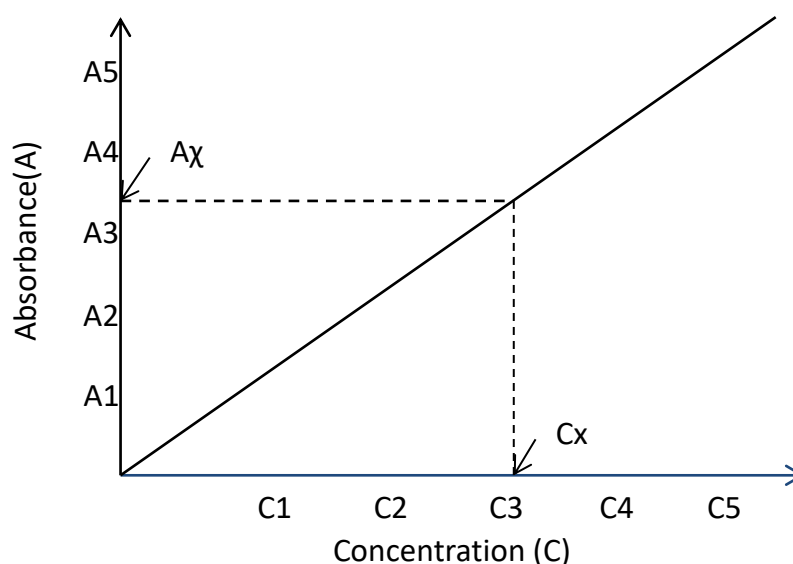
➤ Παρατήρηση

A. Επειδή οι καμπύλες βαθμονόμησης χρησιμοποιούνται στον προσδιορισμό αγνώστων συγκεντρώσεων η ακρίβειά τους είναι σημαντική.

B. Τα πρότυπα διαλύματα πρέπει να παρασκευάζονται με πανομοιότυπο τρόπο μεταξύ τους, με μόνη διαφοροποίηση τις μεταξύ τους συγκεντρώσεις.

### Κατασκευή μίας πρότυπης καμπύλης

Αφού φωτομετρηθούν, μετρηθεί δηλαδή η απορρόφηση  $A_1, A_2, A_n$ , διαφορετικών αλλά γνωστών συγκεντρώσεων διαλυμάτων της ουσίας  $C_1, C_2, C_n$ , σημειώνεται σε χιλιοστομετρικό χαρτί η τιμή της απορρόφησης κάθε δείγματος (τεταγμένη) σε συνάρτηση με τη γνωστή του συγκέντρωση (τετμημένη) και ενώνονται τα σημεία. Εφ' όσον η ουσία που εξετάζουμε ακολουθεί τον νόμο Lambert-Beer, η καμπύλη που προκύπτει είναι μία ευθεία γραμμή η μια άκρη της οποίας περνά από το μηδέν δηλ., όταν η συγκέντρωση είναι μηδέν ( $C = 0$ ), η απορρόφηση είναι ίση με το μηδέν ( $A = 0$ ). Στην ουσία το σημείο  $(0,0)$  αναφέρεται στο τυφλό δείγμα το οποίο έχει  $A=0$  και  $C=0$ .



## 4. Προσδιορισμός άγνωστης συγκέντρωση

### 4.α. Γραφικά

Για να προσδιοριστεί στη συνέχεια η άγνωστη συγκέντρωση ( $x$ ) της ουσίας φωτομετρούμε το δείγμα με την άγνωστη συγκέντρωση και σημειώνουμε την απορρόφηση του ( $Ax$ ). Από την τιμή  $Ax$  στον άξονα της απορρόφησης φέρνουμε μια οριζόντια γραμμή η οποία τέμνει την πρότυπη καμπύλη και κατόπιν από το σημείο τομής φέρνουμε μια γραμμή κάθετο προς την τετμημένη. Το σημείο  $Cx$  στο οποίο η κάθετος τέμνει τον άξονα της συγκεντρώσεως, είναι η συγκέντρωση  $x$  του διαλύματος που φωτομετρήσαμε.

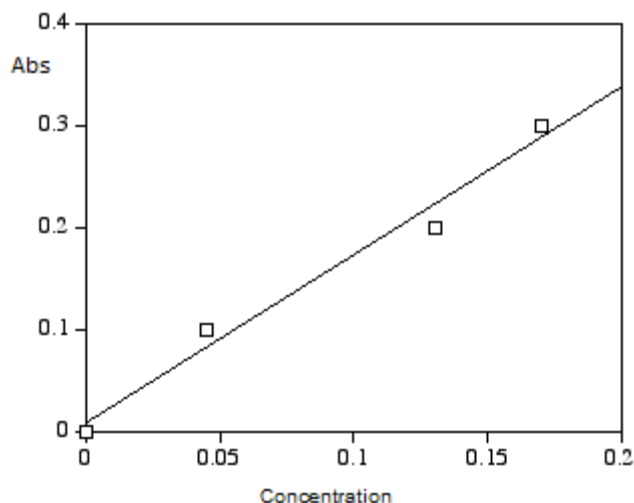
#### 4.β. Με χρήση ελαχίστων τετραγώνων

Όταν σχεδιαστεί η καμπύλη βαθμονόμησης (ευθεία), ακολουθεί η εύρεση της εξίσωσης της ευθείας με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Η εξίσωση της ευθείας είναι της μορφής:

$$Y = \alpha(\text{κλίση})x + \beta(\text{τομή})$$

Στη συνέχεια μετράται η απορρόφηση του αγνώστου διαλύματος στο ίδιο μήκος κύματος και είναι πλέον δυνατός ο υπολογισμός της συγκέντρωσης από την κλίση της ευθείας.

**Ο υπολογισμός της εξίσωσης μπορεί να γίνει και με τη χρήση του προγράμματος EXCEL.**



- Καταγράφονται τα δεδομένα σε δύο στήλες (A, c).
- Δημιουργείται το **ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ** των σημείων (insert scatter chart) αφού επιλεγεί το περιεχόμενο των στηλών.

**ΔΙΑΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ** είναι ένα γράφημα που αναδεικνύει την σχέση μεταξύ δύο μεταβλητών. Στον οριζόντιο άξονα μετράται η μία μεταβλητή (ανεξάρτητη) και στον κάθετο η άλλη μεταβλητή (εξαρτημένη).

**ΕΞΑΡΤΗΜΕΝΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ (Y)** είναι η μεταβλητή της οποίας τις μεταβολές θέλουμε να εξηγήσουμε.

**ΑΝΕΞΑΡΤΗΤΗ ΜΕΤΑΒΛΗΤΗ (X)** είναι η μεταβλητή που πιστεύουμε ότι επιδρά στην Y, ευθύνεται για τις μεταβολές της Y και επομένως χρησιμοποιείται για να ερμηνεύσουμε την μεταβλητικότητα που παρουσιάζει η εξαρτημένη μεταβλητή.

- c. Επιλέγονται τα σημεία στη γραφική απεικόνιση και στη συνέχεια επιλέγεται (δεξί κλικ) η εντολή: εισαγωγή γραμμής τάσης (insert trend line).
- d. Στο παράθυρο που εμφανίζεται επιλέγεται το είδος της εξίσωσης (linear). Παράλληλα επιλέγεται: display equation on chart, display R-squared value on chart).
- e. Η τετραγωνική ρίζα του R δίνει το συντελεστή συσχέτισης r

**ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ (r):** Η ποσοτική μέτρηση της έντασης (γραμμικής) σχέσης μεταξύ δύο μεταβλητών ονομάζεται συντελεστής συσχέτισης (correlation coefficient).

- Το εύρος τιμών του συντελεστή συσχέτισης είναι από -1,00 έως +1,00.
- Τιμές κοντά στο -1,00 και 1,00 υποδεικνύουν τέλεια (ισχυρή) συσχέτιση.
- Τιμές του δείκτη κοντά στο 0 υποδηλώνουν ότι οι δύο μεταβλητές δεν σχετίζονται γραμμικά.
- Αρνητικές τιμές υποδεικνύουν αρνητική συσχέτιση, ενώ θετικές τιμές υποδεικνύουν θετική συσχέτιση.
- Η συσχέτιση μεταξύ δυο μεταβλητών μπορεί να είναι: Τέλεια θετική(αρνητική), έντονη θετική (αρνητική), ασθενής θετική (αρνητική)

- f. Αντικαθιστούμε το  $R^2$  με το r.

ΠΡΟΣΟΧΗ!!! Με τον τρόπο αυτό δεν υπολογίζονται οι τυπικές αποκλίσεις (SD) της κλίσης και της τομής και δεν μπορούμε να επιλέξουμε τον αριθμό των σημαντικών ψηφίων.

- g. Για να βρεθεί η άγνωστη συγκέντρωση για ένα δείγμα, αφαιρείται το σημείο τομής από την ανάγνωση της απορρόφησης και διαιρείται το αποτέλεσμα με την κλίση.

### Παράδειγμα για το προηγούμενο γράφημα ισχύει:

Απορρόφηση = 1,65 (συγκέντρωση) + 0,008

Κλίση: 1,65 , Τομή: 0,008

### Παρατηρήσεις

- Κατά τον καταρτισμό των γραφημάτων βαθμονόμησης, πρέπει να μην χαθεί η ακρίβεια των πειραματικών δεδομένων. Για το λόγο αυτό, πρέπει να επιλέγονται άξονες που εκπροσωπούν την ακρίβεια του οργάνου. Για παράδειγμα, εάν διαβάζεται η απορρόφηση στο δεύτερο δεκαδικό ψηφίο πχ 0,47 κατά την κατασκευή του άξονα απορρόφησης πρέπει το 0,47 να μπορεί να βρίσκεται με ακρίβεια.
- Συχνά σε πολύ ψηλές συγκεντρώσεις ουσίας, η σχέση  $A=f(C)$  παύει να είναι γραμμική. Η περιοχή αυτή της πρότυπης καμπύλης δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό άγνωστης συγκεντρώσεως ουσίας, διότι δεν ακολουθείται πια ο νόμος των Lambert-Beer

## ΠΕΙΡΑΜΑ 2Α

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Ποιοτικός προσδιορισμός α- και β- χλωροφύλλης με φωτομετρική μέθοδο σε δείγμα ζωοτροφών.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες/Υλικά

- Ακετόνη
- Κυψελίδες
- Εκχυλίσματα Ζωοτροφών

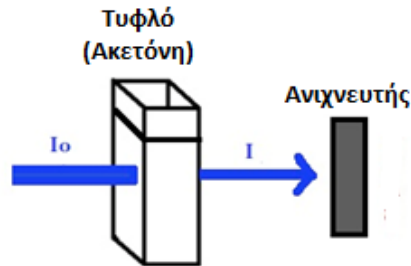
### Πειραματική Διαδικασία

1. Ανοίξτε το φασματοφωτόμετρο. Αφήστε να ζεσταθεί 15 min
2. Επιλέξτε μήκος κύματος στο φωτόμετρο,  $\lambda_{1\max}=430$  nm (χλωροφύλλη Α).
  - Τα επιλεγμένα μήκη κύματος αντιστοιχούν στα μήκη κύματος μέγιστης απορρόφησης των δύο χλωροφυλλών (βλέπετε φάσμα απορρόφησης χλωροφυλλών).

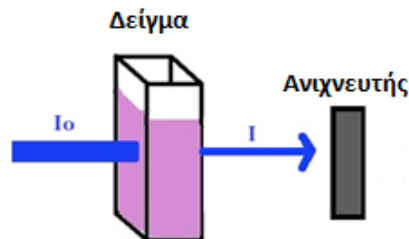
Το μήκος κύματος όπου παρατηρείται το μεγαλύτερο ποσοστό απορρόφησης, καλείται μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης και συμβολίζεται με  $\lambda_{\max}$ .

3. Τοποθετήστε το τυφλό δείγμα στην κυψελίδα (ακετόνη).

- Λευκό διάλυμα, ή **τυφλό δείγμα** (blank), είναι το διάλυμα που έχει υποστεί όλες ακριβώς τις επεξεργασίες όπως και το άγνωστο, αλλά δεν περιέχει την ουσία που εξετάζουμε.



- Η κυψελίδα που περιέχει το λευκό διάλυμα ονομάζεται και κυψελίδα αναφοράς. Είναι κατασκευασμένη από χαλαζία, ή γυαλί ανάλογα με την περιοχή μέτρησης.
5. Μηδενίστε το φωτόμετρο (Θέτετε την τιμή της Απορρόφησης (A) στο 0).
    - Με τον μηδενισμό αφαιρούνται οι απορροφήσεις τόσο της κυψελίδας όσο και του τυφλού δείγματος.
  6. Φωτομετρήστε (μετρήστε A) το διήθημα στα  $\lambda_{1\max} = 430 \text{ nm}$ .



7. Επιλέξτε μήκος κύματος στο φωτόμετρο,  $\lambda_{2\max} = 455 \text{ nm}$  (χλωροφύλλη β).
8. Μηδενίστε το φωτόμετρο με το τυφλό δείγμα.
9. Φωτομετρήστε (μετρήστε A) το διήθημα στα  $\lambda_{2\max} = 455 \text{ nm}$ .

### Παρατήρηση

Στην περίπτωση που τα δείγματα είναι πυκνά και οι μετρήσεις αποκλίνουν από την περιοχή ισχύος του νόμου των Beer-Lambert τότε πρέπει να γίνουν οι κατάλληλες αραιώσεις που θα προσαρμόσουν τις απορροφήσεις των δειγμάτων κατάλληλα.

### ΕΡΓΑΣΙΑ

Συγκεντρώστε τα αποτελέσματα όλων των εργαστηριακών ομάδων και κατατάξτε τα δείγματά σας με αύξουσα σειρά ως προς την περιεκτικότητα σε στέβια.



## ΠΕΙΡΑΜΑ 2B

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Ποσοτικός προσδιορισμός β-καροτενίου με φωτομετρική μέθοδο σε εκχύλισμα καρότου και πορτοκαλιού.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

### Υλικά

- Πιπέτα 100-1000 mL
- ποτήρι ζέσεως
- ογκομετρικές φιάλες (5 mL)
- Κυψελίδες

### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

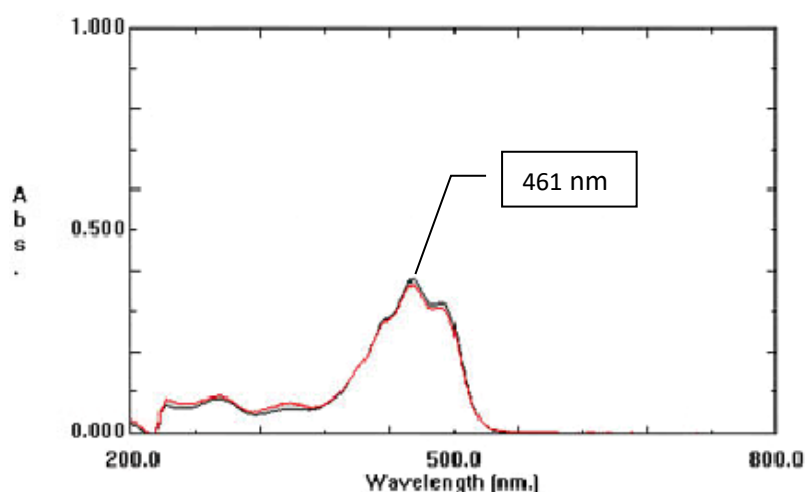
- Ακετόνη
- Εξάνιο
- Πρότυπο διάλυμα β-καροτενίου σε Ακετόνη:εξάνιο 1:1 (C=40 µg/mL).

### Πειραματική Διαδικασία

**Πριν την εργαστηριακή άσκηση:** Να γίνουν οι υπολογισμοί για την παρασκευή διαλυμάτων β-καροτενίου σε Ακετόνη:εξάνιο 1:1 τελικού όγκου **5mL** και συγκέντρωσης: 2µg/mL, 4µg/mL, 6µg/mL και 8 µg/mL. Το αρχικό διαθέσιμο διάλυμα έχει συγκέντρωση 40µg/mL.

### Κατά την εργαστηριακή άσκηση

1. Ανάψτε το φασματοφωτόμετρο. Αφήστε να ζεσταθεί για 15 λεπτά.
2. Επιλέξτε το μήκος μέγιστης απορρόφησης ( $\lambda_{\max}=461 \text{ nm}$ ) του β-καροτενίου όπως προκύπτει από το φάσμα απορρόφησης.



3. Προετοιμάστε τα πρότυπα διαλύματα β-καροτενίου σε ακετόνη τελικού όγκου 5 mL. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων β-καροτενίου σε ακετόνη πρέπει να είναι: 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL και 8 µg/mL.

4. Ξεπλύνετε τις κυψελίδες με ακετόνη καλά. Προσοχή στη χρήση των κυψελίδων! Είναι ιδιαίτερα ακριβές!!!
5. Τοποθετήστε αρχικά σε μία κυψελίδα μόνο ακετόνη (τυφλό) και μηδενίστε το όργανο.
6. Τοποθετήστε τα διαλύματα που παρασκευάσατε στις κυψελίδες.
7. Βεβαιωθείτε ότι η διαφανής πλευρά της κυψελίδας είναι καθαρή. Καθαρίστε τη κυψελίδα με χαρτί. Προσοχή μην χαράξετε την κυψελίδα κατά τον καθαρισμό της.
8. Μετρήστε τις απορροφήσεις των προτύπων διαλυμάτων και καταγράψετε.
9. Σε κενή κυψελίδα μεταφέρετε το προς προσδιορισμό διάλυμα (εκχύλισμα καρότου) και φωτομετρείστε.
10. Καταγράψτε τις μετρήσεις

#### **ΕΡΓΑΣΙΑ**

1. Σχεδιάστε την πρότυπη καμπύλη στο EXCEL (εξίσωση της ευθείας και r)
2. Υπολογίστε τη συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος από την εξίσωση της ευθείας.

### 3<sup>η</sup> ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ ΑΣΚΗΣΗ

#### ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΛΕΠΤΗΣ ΣΤΟΙΒΑΔΑΣ

##### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρωματογραφία είναι μια εργαστηριακή τεχνική η οποία χρησιμοποιείται για την ανάλυση και τον διαχωρισμό μιγμάτων οργανικών ενώσεων. Η τεχνική αυτή βασίζεται στην **κατανομή** ενώσεων που πρέπει να διαχωριστούν σε δύο φάσεις. Η μία φάση παραμένει ακίνητη (στατική φάση), ενώ η δεύτερη βρίσκεται σε συνεχή ροή (κινητή φάση). Η επιλογή των δύο φάσεων γίνεται με τρόπο ώστε τα συστατικά του μίγματος να κατανέμονται μεταξύ της κινητής και της στατικής φάσης σε διαφορετικό βαθμό. Τα συστατικά τα οποία κατακρατούνται ισχυρότερα από τη στατική φάση, κινούνται αργά κατά τη ροή της κινητής φάσης, ενώ τα συστατικά τα οποία κατακρατούνται ασθενέστερα από τη στατική φάση, κινούνται ταχύτερα με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό τους.

Οι διάφορες χρωματογραφικές μέθοδοι διαφέρουν μεταξύ τους ως προς:

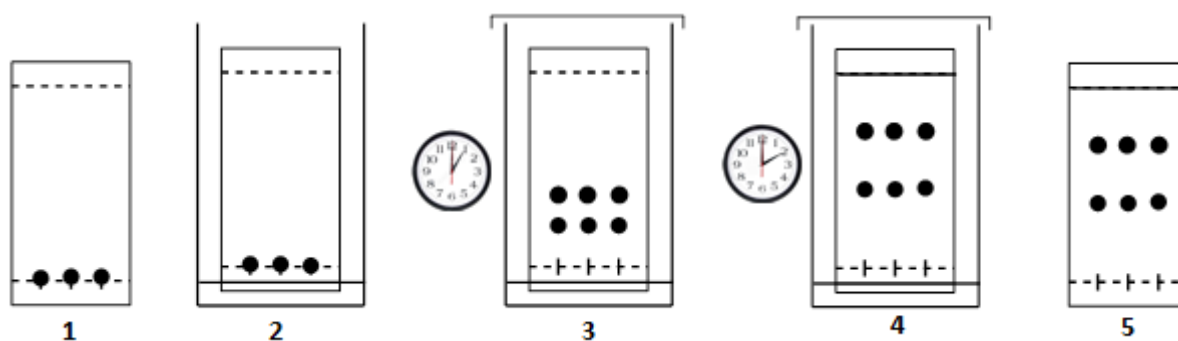
- α. **τη φύση της κινητής φάσης** (υγρή ή αέρια) ή **της στατικής** (στερεό ή υγρό πάνω σε στερεό υπόστρωμα)
- β. το **μηχανισμό διαχωρισμού** (προσρόφηση, ιοντοανταλλαγή, κατανομή, μέγεθος μορίων)
- γ. **το μέσο στο οποίο έχει τοποθετηθεί η στατική φάση** (στήλη, λεπτή στοιβάδα πάνω σε γυάλινη πλάκα, χαρτί).

##### **A. Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (Χ.Λ.Σ.) - Thin Layer Chromatography (T.L.C)**

Η **χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας** είναι μια απλή και γρήγορη τεχνική που μπορεί να οδηγήσει στον προσδιορισμό: του αριθμού των συστατικών ενός μίγματος χημικών ενώσεων, της ταυτότητας μιας ένωσης σε ένα μίγμα συγκρίνοντάς τη με γνωστή ένωση κ.α.

Μία πλάκα **χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας** (πλάκα TLC) είναι μία πλάκα από γυαλί, μέταλλο, ή πλαστικό το οποίο είναι επικαλυμμένο με ένα λεπτό στρώμα ενός στερεού προσροφητικού υλικού **-στατική φάση-** (συνήθως διοξείδιο του πυριτίου/SiO<sub>2</sub>/silica gel ή σπανιότερα τριοξείδιο του Αργιλίου/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/Alumina κ.α.). Μια μικρή ποσότητα του μίγματος που πρόκειται να αναλυθεί τοποθετείται κοντά στο κάτω μέρος αυτής της πλάκας (1). Η πλάκα TLC στη συνέχεια τοποθετείται σε ένα δοχείο που

περιέχει διαλύτη -**θάλαμος ανάπτυξης**-, έτσι ώστε μόνο το κάτω μέρος της πλάκας είναι στο υγρό (2). Αυτό το υγρό - **μέσο έκλουσης ή διαλύτης ανάπτυξης**- είναι η κινητή φάση, και υψώνεται αργά στην πλάκα TLC μέσω τριχοειδούς φαινομένου (3). Όταν ο διαλύτης φθάσει στην κορυφή της πλάκας (4), η πλάκα απομακρύνεται από το θάλαμο ανάπτυξης, ξηραίνεται, και τα διαχωρισμένα συστατικά του μίγματος επισημαίνονται (5). Εάν οι ενώσεις είναι έγχρωμες, είναι ορατές. Τις περισσότερες φορές οι ενώσεις είναι άχρωμες, έτσι χρησιμοποιείται είτε UV ακτινοβολία είτε ατμοί ιωδίου είτε διάφορα χημικά αντιδραστήρια για την εμφάνιση των ενώσεων.



## B. Επιλογή Διαλύτη

Η επιλογή του διαλύτη έκλουσης/κινητής φάσης εξαρτάται από την στατική φάση της πλάκας TLC. Έτσι, την περίπτωση που χρησιμοποιηθεί ως στατική φάση το διοξείδιο του πυριτίου/SiO<sub>2</sub>/silica gel :

- Ένας **πολικός διαλύτης** ή μίγμα διαλυτών, μπορεί να απομακρύνει τις διαλυμένες ουσίες από τις θέσεις προσρόφησης και οι ενώσεις να μετακινηθούν υψηλότερα προς το μέτωπο διαλύτη.
- Ένας **μη πολικός διαλύτης** μόλις που μπορεί να καταφέρει να τις μετακινήσει.

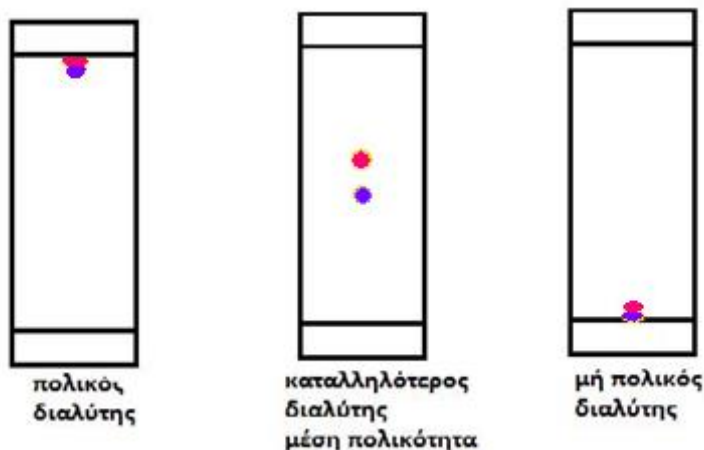
Για πλάκες TLC καλυμμένες με διοξείδιο του πυριτίου, η ισχύς του μέσου έκλουσης αυξάνει με την ακόλουθη σειρά:

Όταν πρέπει να προσδιοριστεί ο καταλληλότερος διαλύτης ή μίγμα διαλυτών για να αναπτυχθεί ένα χρωματογράφημα γίνεται μια σειρά δοκιμών.

Εξάνιο  
 Πετρελαϊκός αιθέρας  
 Κυκλοεξάνιο  
 Τολουόλιο  
 Διχλωρομεθάνιο  
 Διαιθυλαιθέρας  
 Οξικός αιθυλεστέρας  
 Ακετόνη  
 Αιθανόλη  
 Μεθανόλη  
 Ακετονιτρίλιο

Αύξηση ικανότητας έκλουσης όταν η στατική φάση είναι SiO<sub>2</sub>

Παρατηρώντας προσεκτικά και καταγράφοντας τα αποτελέσματα της χρωματογραφίας σε κάθε σύστημα διαλύτη διαπιστώνει κανείς ότι όσο αυξάνεται η πολικότητα του συστήματος διαλυτών, όλα τα συστατικά του μίγματος κινούνται γρηγορότερα (και αντίστροφα με τη μείωση της πολικότητας). **Το ιδανικό σύστημα διαλύτη είναι απλά το σύστημα που δίνει τον καλύτερο διαχωρισμό των συστατικών του μίγματος.**



Οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται συνήθως είναι το εξάνιο, ο πετρελαϊκός αιθέρας και ο οξικός αιθυλεστέρας. Ο διαιθυλαιθέρας αποφεύγεται, γιατί είναι πολύ εύφλεκτος. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν επίσης αλκοόλες (μεθανόλη, αιθανόλη) και ακετόνη. Το οξικό οξύ μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε ένα μικρές συγκεντρώσεις, γιατί είναι μη-πτητικό και πολύ πολικό. Οι χλωριωμένοι διαλύτες διχλωρομεθάνιο ή χλωροφόρμιο έχουν καλή διαχωριστική ικανότητα, αλλά είναι τοξικοί και θα πρέπει να αποφεύγονται.

### Γ. Αλληλεπιδράσεις μεταξύ της ένωσης και του προσροφητή.

Ο διαχωρισμός των ενώσεων βασίζεται στον ανταγωνισμό ανάμεσα στη διαλυμένη ουσία και την κινητή φάση για τη σύνδεσή τους σε θέσεις πάνω στη στατική φάση. Έτσι, αν χρησιμοποιηθεί το διοξείδιο του πυριτίου ως στατική φάση (πολικό) και αναλυθούν δύο ενώσεις που διαφέρουν σε πολικότητα με τη μία **πιο πολική ένωση** να έχει **ισχυρότερη αλληλεπίδραση** με το διοξείδιο του πυριτίου, τότε η απομάκρυνση της από τις θέσεις σύνδεσης είναι δυσκολότερη. Πολικά μόρια έχουν την τάση να κινηθούν με μικρότερη ταχύτητα σε σχέση με τα μη πολικά.

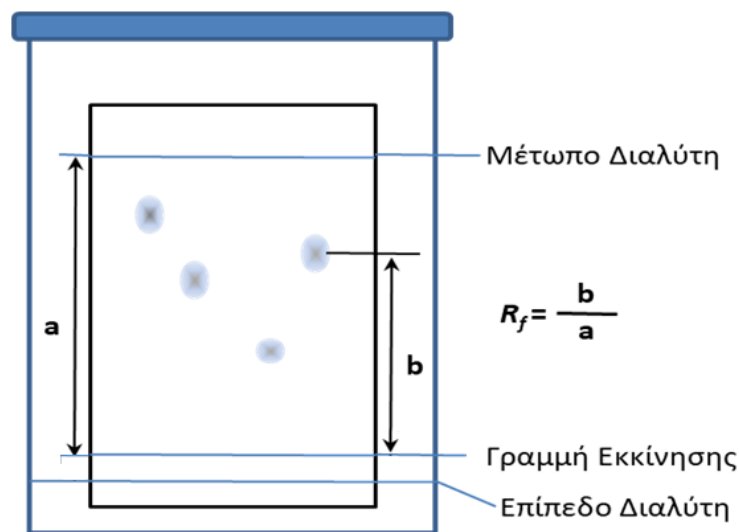
Η δύναμη με την οποία μία οργανική ένωση συνδέεται με ένα προσροφητικό εξαρτάται από την ισχύ των ακόλουθων τύπων αλληλεπιδράσεων:

- ιόντων-διπόλου (πχ οξέα)
- δεσμού υδρογόνου (πχ αλκοόλες, αμίνες)
- διπόλου-διπόλου (πχ αλδεΐδες κετόνες)
- δυνάμεις Van der Waals (πχ αλκάνια, αλκυλαλογονίδια κτλ)

↑  
Αύξηση  
προσρόφησης

#### Δ. Ο συντελεστής κατακράτησης, $R_f$ (*retention factor*)

Ο συντελεστής κατακράτησης,  $R_f$ , ορίζεται ως η απόσταση που διανύεται από την ένωση διαιρούμενη με την απόσταση που διανύεται από τον διαλύτη.



Για παράδειγμα, εάν μία ένωση διανύσει 2,0 cm και το μέτωπο του διαλύτη διανύσει 5,0 cm, το  $R_f$  είναι 0,4.

Το  $R_f$  για μια ένωση είναι σταθερό μόνο εάν οι συνθήκες χρωματογραφίας παραμένουν σταθερές. Δηλαδή:

- σύστημα διαλυτών
- προσροφητικό υλικό
- πάχος του προσροφητικού υλικού
- ποσότητα του δείγματος
- θερμοκρασία

Οι παράγοντες αυτοί είναι δύσκολο να διατηρηθούν σταθεροί από πείραμα σε πείραμα. Όσο μεγαλύτερο είναι το  $R_f$  μιας ένωσης, τόσο μεγαλύτερη είναι η απόσταση που διανύει στην πλάκα TLC. Κατά τη σύγκριση δύο διαφορετικών ενώσεων που μελετούνται κάτω από ίδιες συνθήκες χρωματογραφίας, η ένωση με το **μεγαλύτερο  $R_f$**  είναι η

**λιγότερο πολική**, επειδή δεν αλληλεπιδρά ισχυρά με τον πολικό προσροφητή στην πλάκα TLC. Επιπλέον, αν είναι γνωστές οι δομές των ενώσεων στο μίγμα, μπορεί να προβλεφθεί ότι μια ένωση με χαμηλή πολικότητα θα έχει μεγαλύτερη τιμή  $R_f$  από μία πολική ένωση.

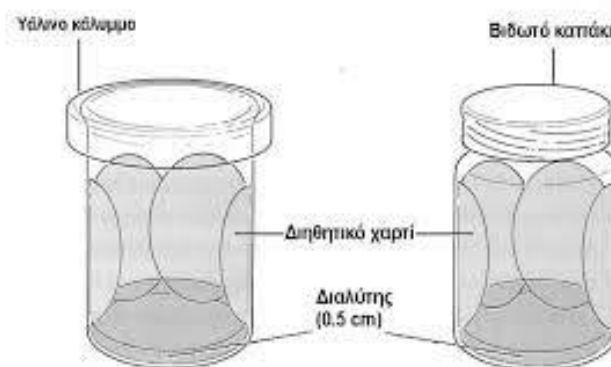
Το  $R_f$  παρέχει στοιχεία για την ταυτότητα μιας ένωσης. Όταν ένα τυχαίο δείγμα και ένα πρότυπο δείγμα μιας ένωσης αναπτύσσονται στο ίδιο χρωματογράφημα και βρεθούν να έχουν την ίδια τιμή  $R_f$ , είναι πιθανό (αλλά όχι σίγουρο) να είναι ταυτόσημα. Εάν έχουν διαφορετικές τιμές  $R_f$ , είναι σίγουρα διαφορετικές ενώσεις.

### Ε. Διαδικασία Χρωματογραφίας Λεπτής Στοιβάδας

#### Βήμα 1 : Προετοιμασία του δοχείου ανάπτυξης

Το δοχείο ανάπτυξης είναι ένας ειδικά σχεδιασμένος θάλαμος ή ένα βάζο με καπάκι.

- Προσθέστε διαλύτη μέσα στον θάλαμο σε ύψος ελάχιστα μικρότερο από 0,5 εκατοστά.



- Για τον κορεσμό του θαλάμου με ατμούς διαλύτη τοποθετείστε στο εσωτερικό του ποτηριού διεθητικό χαρτί.
- Κλείστε τον θάλαμο ανάπτυξης για να επέλθει κορεσμός.

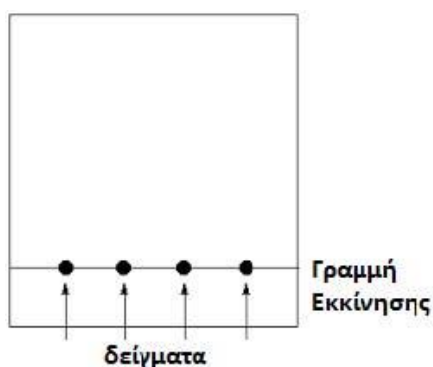
**Βήμα 2 : Προετοιμασία της πλάκας** Οι πλάκες TLC που χρησιμοποιούνται έχουν διαστάσεις 20 cm X 20 cm. Κάθε μεγάλο φύλλο κόβεται σε πλάκες οι οποίες έχουν ύψος 5 εκατοστά και διάφορα πλάτη ανάλογα με τα αριθμό των δειγμάτων που πρόκειται να αναλυθούν. Ο χειρισμός των πλακών πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή έτσι ώστε να μην καταστραφεί η επίστρωση του προσροφητικού υλικού και να μην λεκιαστεί.

- Μετρήστε 0,5 cm από το κάτω μέρος της πλάκας με έναν χάρακα και χρησιμοποιώντας ένα μολύβι και σχεδιάστε μια γραμμή κατά μήκος της.

Αυτή είναι η **γραμμή εκκίνησης**.

- Κάτω από τη γραμμή, σημειώστε ελαφρά το όνομα ή τους κωδικούς των δειγμάτων που θα αναλύσετε. Αφήστε αρκετό χώρο μεταξύ των δειγμάτων. Τοποθετήστε περίπου 4 δείγματα σε πλάκα εύρους 5 εκατοστών.

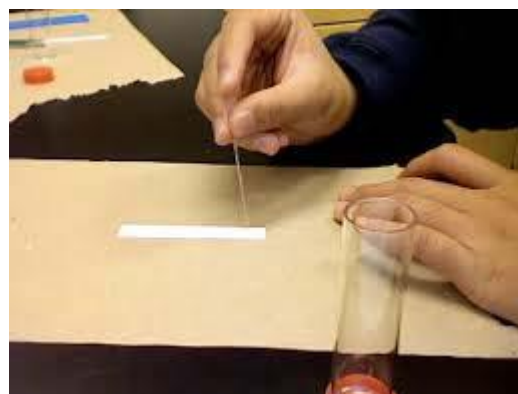
ΠΡΟΣΟΧΗ: μην πιέσετε το μολύβι και τραυματίσετε την επίστρωση.



**Βήμα 3 :** Τοποθέτηση του δείγματος στην πλάκα TLC.

Αν το δείγμα δεν είναι ήδη σε διάλυμα, διαλύστε περίπου 1 mg σε 1 mL ενός πτητικού διαλύτη όπως: εξάνιο, οξικό αιθυλεστέρα, ή διχλωρομεθάνιο. Αν το δείγμα είναι πολύ συμπυκνωμένο θα πρέπει να αραιωθεί.

- Βυθίστε έναν τριχοειδή σωλήνα μέσα στο διάλυμα και, στη συνέχεια, αγγίξτε απαλά την άκρη του πάνω στην επισημασμένη θέση για το δείγμα στη πλάκα TLC.



Μην αφήσετε την κηλίδα να γίνει πάρα πολύ μεγάλη, μπορείτε να αγγίξετε και να ανασηκώσετε τον τριχοειδή αμέσως από τη πλάκα.

- Επαναλάβετε το τελευταίο βήμα πολλές φορές και η κηλίδα θα παραμείνει μικρή.

**Βήμα 4 :** Ανάπτυξη της πλάκας

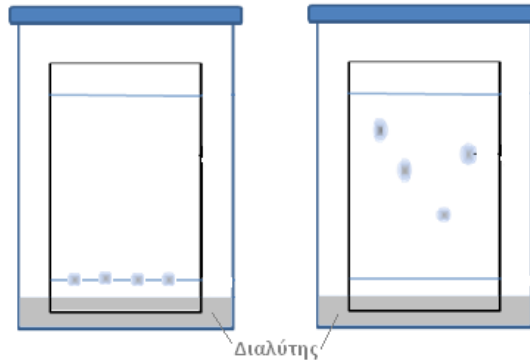
- Τοποθετήστε την πλάκα TLC που προετοιμάσατε στο θάλαμο ανάπτυξης, κλείνοντας το καπάκι, και αφήστε το σε ηρεμία στον πάγκο σας. Ο διαλύτης θα μετακινηθεί πάνω στην πλάκα TLC μέσω τριχοειδών.

ΠΡΟΣΟΧΗ: Βεβαιωθείτε ότι ο διαλύτης δεν καλύπτει το σημείο εκκίνησης του δείγματος.

- Αναπτύξτε το χρωματογράφημα έως ότου ο διαλύτης είναι περίπου μισό εκατοστό κάτω από την κορυφή της πλάκας (**μέτωπο του διαλύτη**).



- Αφαιρέστε την πλάκα από το θάλαμο ανάπτυξης και σημειώστε το μέτωπο του διαλύτη με ένα μολύβι.
- Αφήστε την πλάκα να στεγνώσει.



### **Βήμα 5 :** Η εμφάνιση των κηλίδων

- Αν υπάρχουν διακριτές έγχρωμες κηλίδες σχεδιάστε το περίγραμμά τους ελαφρά με ένα μολύβι.

Τα περισσότερα δείγματα δεν είναι έγχρωμα και μπορούν να εμφανιστούν:

- ✓ παρουσία υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) οπότε και γίνεται το περίγραμμά τους.

ΠΡΟΣΟΧΗ!!! Το Υπεριώδες φως βλάπτει τα μάτια και το δέρμα! Φοράτε γάντια, γυαλιά και ΔΕΝ κοιτάτε απευθείας τον λαμπτήρα.

- ✓ παρουσία ατμών Ιωδίου (ενώσεις που έχουν πολλαπλούς δεσμούς)

ΠΡΟΣΟΧΗ!!! Όσοι αντιμετωπίζετε προβλήματα υγείας που σχετίζονται με τον θυρεοειδή αδένα πρέπει να είστε ιδιαίτερα προσεκτικοί.

- ✓ μετά από ψεκασμό της πλάκας με διάφορα αντιδραστήρια και θέρμανση (π.χ. αμινοξέα με αντιδραστήριο νινυδρίνης, αλκοόλες με αντιδραστήρια που περιέχουν  $H_2SO_4$  κ. α.).

Στην περίπτωση που τα δείγματα είναι πάρα πολύ πυκνά και οι κηλίδες των διαφόρων ενώσεων εμφανίζονται ενοποιημένες επαναλαμβάνετε τη διαδικασία.

## ΠΕΙΡΑΜΑ 3

### Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης

Εύρεση του αριθμού των συστατικών μίγματος.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

### Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

#### Υλικά

- Πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας
- Θάλαμοι ανάπτυξης
- Τριχοειδείς σωλήνες
- Μολύβι, χάρακας.

#### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Εκχύλισμα β καροτενίου (καρότο )
- Μίγματα διαλυτών κυκλοεξανίου τολουολίου
- Εκχύλισμα Τομάτας
- Εκχύλισμα Πορτοκάλι - Σαγκουίνι

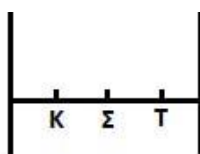
#### Πειραματική διαδικασία

1. Προετοιμάστε τους θαλάμους ανάπτυξης προσθέτοντας 5 mL από τα ακόλουθα συστήματα διαλυτών με αναλογίες Τολουόλιο/Κυκλοεξανίου:

Τολουόλιο	Κυκλοεξάνιο
0	10
1	9
2	8
3	7
4	6

Τολουόλιο	Κυκλοεξάνιο
5	5
6	4
7	3
8	2
10	0

2. Σημειώστε με ένα μολύβι στη πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (T.L.C.) τη γραμμή εκκίνησης (0,5 cm από το κάτω μέρος) την οποία στη συνέχεια χωρίστε σε τέσσερα ίσα μέρη και σημειώστε τα αρχικά κάθε εκχυλίσματος: α. Καρότου (β καροτένιο), β. χυμού Σαγκουίνι γ. Τομάτας (λυκοπένιο)



3. Με ένα τριχοειδή σωλήνα μεταφέρετε μια σταγόνα από κάθε εκχύλισμα στις αντίστοιχες επισημασμένες θέσεις του πλακιδίου (T.L.C.)
4. Τοποθετείστε το πλακίδιο στο θάλαμο και αναπτύξτε το χρωματογράφημα.
5. Σημειώστε με μολύβι το μέτωπο του διαλύτη και τις παρατηρούμενες κηλίδες.
6. Συγκεντρώστε τα χρωματογραφήματα και φωτοτυπήστε τα.

### **ΕΡΓΑΣΙΑ**

1. Επιλέξτε το καταλληλότερο σύστημα διαλυτών ανάπτυξης.

#### **Για τον διαλύτη αυτό**

2. Καταγράψτε τον αριθμό των συστατικών των δειγμάτων.
3. Υπολογίστε τα  $R_f$  των ουσιών.
4. Από το συγκεκριμένο χρωματογράφημα έχετε τη δυνατότητα να ανιχνεύσετε την παρουσία λυκοπενίου και καροτενίου στα εκχυλίσματα. Ποια είναι τα συμπεράσματά σας;
5. Εξηγήστε τη διαφορά που παρουσιάζουν τα  $R_f$  των έγχρωμων κηλίδων **στα διαφορετικά συστήματα διαλυτών ανάπτυξης.**

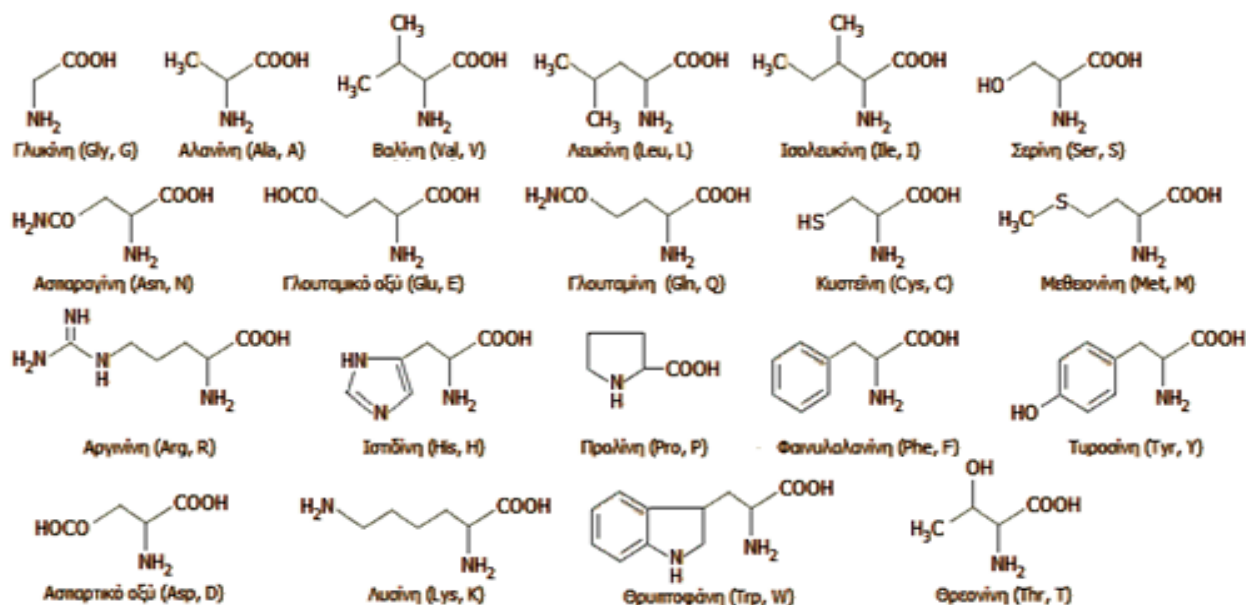
## 4<sup>η</sup> ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ

### ΟΞΕΟΒΑΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

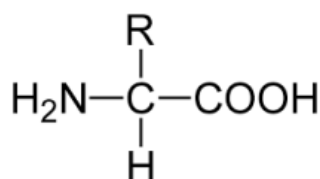
#### ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

##### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι πρωτεΐνες είναι μακρομόρια που αποτελούν περισσότερο από το 50% του ξηρού βάρους των κυττάρων. Συμμετέχουν σε ένα μεγάλο αριθμό λειτουργιών ως δομικά στοιχεία (κολλαγόνο, ελαστίνη κ.α.) και ως ένζυμα, που εμπλέκονται στον μεταβολισμό. Παρουσιάζουν σπουδαία βιολογική δράση, αφού σε αυτές ανήκουν οι ορμόνες, τα αντιγόνα, οι πρωτεΐνες με προστατευτική δράση στο αίμα, με αποθηκευτική, αντιβιοτική και άλλες δράσεις. Με υδρόλυση των πρωτεϊνών λαμβάνονται τα 20 αμινοξέα που αποτελούν και τις δομικές μονάδες των πρωτεϊνών.



Τα αμινοξέα είναι οργανικές ενώσεις που περιέχουν στο μόριο τους μία αμινομάδα (-NH<sub>2</sub>), μία καρβοξυλική ομάδα (-COOH), ένα άτομο υδρογόνου και μία πλευρική αλυσίδα -R συνδεδεμένα με ένα α άτομο άνθρακα (βρίσκεται σε α θέση ως προς την καρβοξυλική ομάδα).

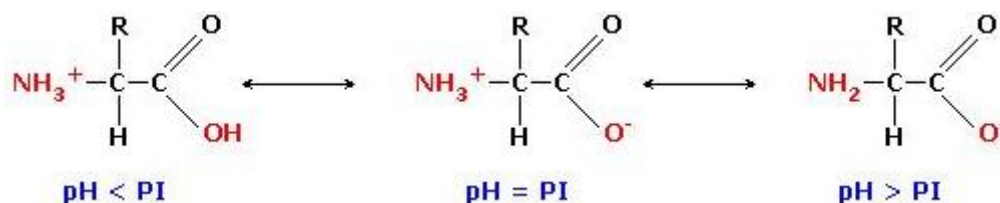


Τα συνήθη αμινοξέα είναι 20 και κατηγοριοποιούνται με βάση τις ιδιότητες της ομάδας R:

- μη πολικές αλειφατικές
- αρωματικές, πολικές μη φορτισμένες
- θετικά φορτισμένες (βασικές)
- αρνητικά φορτισμένα (όξινα) ομάδες.

Σε διάλυμα με ουδέτερο pH τα αμινοξέα συναντιούνται κατά κύριο λόγο στη μορφή διπολικών ιόντων. Ένα διπολικό ιόν μπορεί να δρα είτε σαν οξύ (δότης πρωτονίου) είτε σαν βάση (δέκτης πρωτονίου). Χημικές ενώσεις που έχουν αυτή την διττή φύση ονομάζονται αμφοτερίζουσες.

Η χαρακτηριστική τιμή pH στην οποία σχηματίζονται τα διπολικά ιόντα ονομάζεται ισοηλεκτρικό σημείο (pI) ενός αμινοξέος. Στο ισοηλεκτρικό σημείο, η **αμινομάδα** είναι **θετικά φορτισμένη** και η **καρβοξυλομάδα αρνητικά φορτισμένη**, έτσι, το διπολικό ιόν είναι ουδέτερο (καθαρό ηλεκτρικό φορτίο μηδέν). Τα αμινοξέα σε υδατικό διάλυμα υπάρχουν κυρίως στην ισοηλεκτρική μορφή.



Ένα αμινοξύ έχει αρνητικό φορτίο σε οποιοδήποτε pH μεγαλύτερο του pI, και θετικό φορτίο σε οποιοδήποτε pH μικρότερο από το pI. Επιπλέον, κάθε αμινοξύ έχει τη δική του τιμή pI.

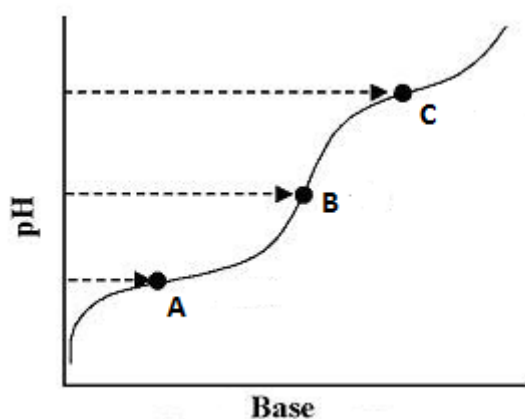
#### A. Καμπύλη τιτλοδότησης αμινοξέος

Η καμπύλη τιτλοδότησης αμινοξέος γίνεται με παρακολούθηση του pH διαλύματος αμινοξέος μετά από διαδοχική προσθήκη οξέος ή βάσεως. Η καμπύλη τιτλοδότησης είναι η απεικόνιση του pH σε συνάρτηση με τον όγκο του διαλύματος που προστίθεται ή ορθότερα με τον αριθμό των ισοδυνάμων που προστίθενται ανά mole του δείγματος. Κατά την ογκομέτρηση του αμινοξέος με οξύ, το αμινοξύ λειτουργεί ως μια βάση (A-), και κατά την ογκομέτρηση με βάση, λειτουργεί ως οξύ (HA). Για αυτή την τιτλοδότηση

εφαρμόζεται η εξίσωση των Henderson-Hasselbalch και το αμινοξύ αντιστοιχεί είτε στο προϊόν σύζευξης βάσης  $A^-$  είτε στο συζυγές οξύ  $HA$ .

$$pH = pKa + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Η  $Ka$ , ή σταθερά διάστασης είναι ένα μέτρο της ισχύος του οξέος ή της βάσης. Το  $pKa$  ( $-COOH$ ) στην περίπτωση του αμινοξέος είναι ίσο με το  $pH$  στο οποίο η μισή ποσότητα του οξέος έχει αντιδράσει με τη βάση. Όταν η καμπύλη φθάσει στην πρώτη από τις δύο επίπεδες περιοχές (plateau-σημείο A) έχει αποπρωτονιωθεί το ήμισυ της καρβοξυλομάδας. Στο σημείο καμπής (σημείο B) η καρβοξυλομάδα είναι εντελώς αποπρωτονιωμένη και εδώ βρίσκεται το ισοηλεκτρικό σημείο. Σε αυτό το σημείο υπάρχει το αμινοξύ στην αμφοτερίζουσα μορφή. Στη δεύτερη από τις δύο επίπεδες περιοχές, (σημείο C), το μισό της αμινομάδας έχει πρωτονιωθεί.



Το ισοηλεκτρικό σημείο ενός αμινοξέος μπορεί να υπολογιστεί σύμφωνα με την ακόλουθη εξίσωση:

$$pI = \frac{pKa[-COOH] + pKa[-NH_3^+]}{2}$$

Η εξίσωση αυτή ισχύει μόνο στην περίπτωση των αμινοξέων που δεν φέρουν όξινη ή βασική ομάδα στην αλυσίδα R.

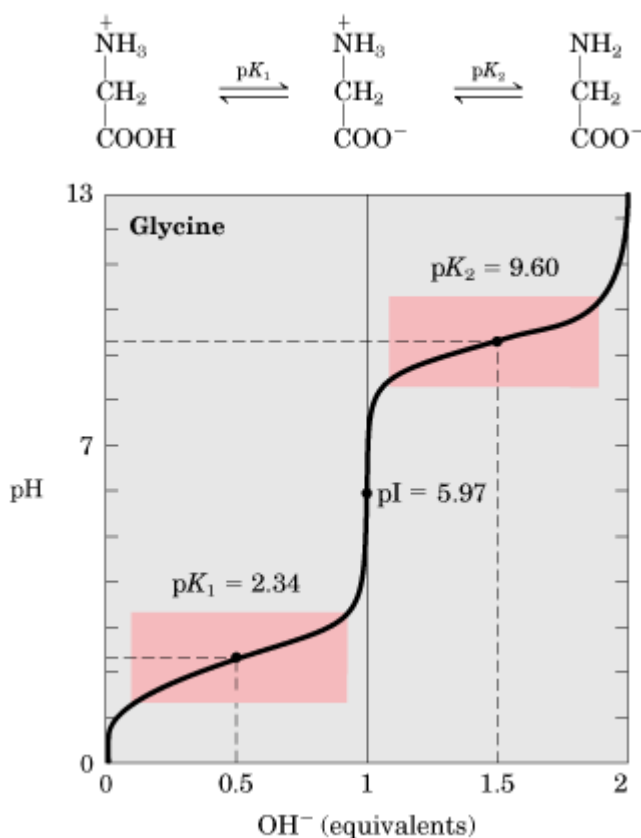
## B. Παραδείγματα Καμπύλης Τιτλοδότησης

### I. Γλυκίνη

Με δεδομένο ότι κατά την τιτλοδότηση της γλυκίνης εφαρμόζεται η εξίσωση Henderson-Hasselbalch, η γλυκίνη έχει μια καρβοξυλική ομάδα και μια αμινομάδα, με  $pKa$  2,34 και 9,6 αντίστοιχα.

Ειδικότερα, σε υδατικό διάλυμα με pH 6, η γλυκίνη εμφανίζεται με τη μορφή διπολικού ιόντος στο οποίο η καρβοξυλομάδα είναι μη πρωτονιωμένη (COO<sup>-</sup>) και η αμινομάδα πρωτονιωμένη δίνοντας υποκατεστημένο ιόν αμμωνίου (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>).

Σε όξινο διάλυμα, (πχ. pH = 3,0), η καρβοξυλομάδα πρωτονιώνεται (-COOH). Η προσθήκη του οξέος μειώνει το pH του διαλύματος αρχικά γρήγορα και στη συνέχεια πιο αργά αφού δημιουργείται ρυθμιστικό με το καρβοξύλιο. Στο pH 2,34 έχει καταναλωθεί το μισό του οξέος.



<http://cbc.arizona.edu/>

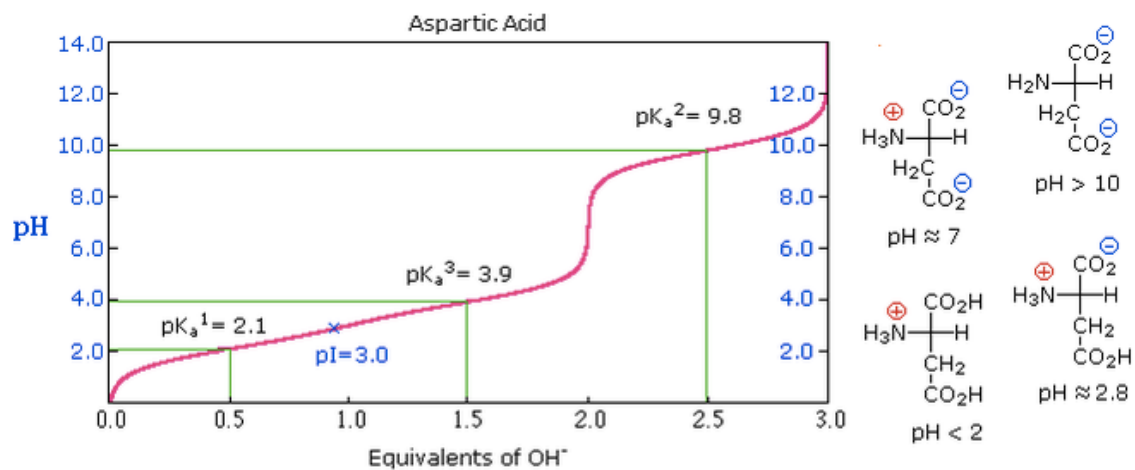
Η τιτλοδότηση της αμινομάδας με βάση ακολουθεί μια παρόμοια καμπύλη στην αλκαλική περιοχή. Η καρβοξυλομάδα αποπρωτονιώνεται (σχηματισμός -COO<sup>-</sup>) όπως και η αμινομάδα (σχηματισμός -NH<sub>2</sub>). Σε pH μεγαλύτερο του 11-12 έχουμε πλήρη αποπρωτονίωση.

Στη τομή μεταξύ της τιτλοδότησης της καρβοξυλομάδας και της τιτλοδότησης της αμινομάδας βρίσκεται το ισοηλεκτρικό σημείο (pI).

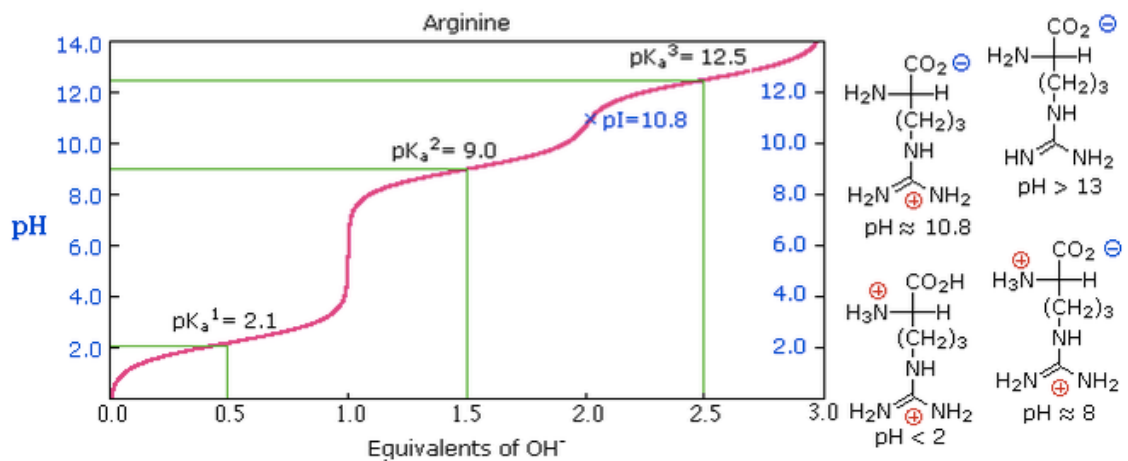
Έτσι, το ισοηλεκτρικό σημείο για τη γλυκίνη υπολογίζεται να είναι:  $(2,34 + 9,6) / 2 = 5,97$ .

## II. Ασπαρτικό οξύ & Αργινίνη

Η παρουσία επιπλέον όξινων ή βασικών ομάδων στη πλευρική αλυσίδα επηρεάζει το  $pI$  που δίνεται ως μέσος όρος των  $pK_a$  των δύο οξέων ή βάσεων. Έτσι, για το ασπαρτικό οξύ και το γλουταμικό οξύ με αρνητικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα  $pI = \frac{1}{2}(pK_a^1 + pK_a^3)$ , όπου  $pK_a^1$  είναι το  $pK_a$  της πλευρικής αλυσίδας.



Για τη Ιστιδίνη και την Λυσίνη και Αργινίνη με θετικά φορτισμένη πλευρική αλυσίδα ισχύει  $pI = \frac{1}{2}(pK_a^2 + pK_a^3)$ .



<https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/proteins.htm>



## ΠΕΙΡΑΜΑ 4Α.

### ΜΕΛΕΤΗ ΟΞΙΝΩΝ ΚΑΙ ΒΑΣΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΤΩΝ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

#### Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης

Η μελέτη των όξινων και βασικών ιδιοτήτων των αμινοξέων μέσω καμπύλης τιτλοδότησης. Προσδιορισμός των τιμών  $pK_a$ , ισηλεκτρικού σημείου  $pI$  και αναγνώριση ενός αγνώστου αμινοξέος.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

#### Υλικά

- 2 Ποτήρια Ζέσεως των 50 mL
- Σταγονομετρικά
- 2 Προχοΐδες των 50 mL
- Στήριγματα για τις προχοΐδες
- Πεχάμετρο
- Μαγνητικός Αναδευτήρας

#### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

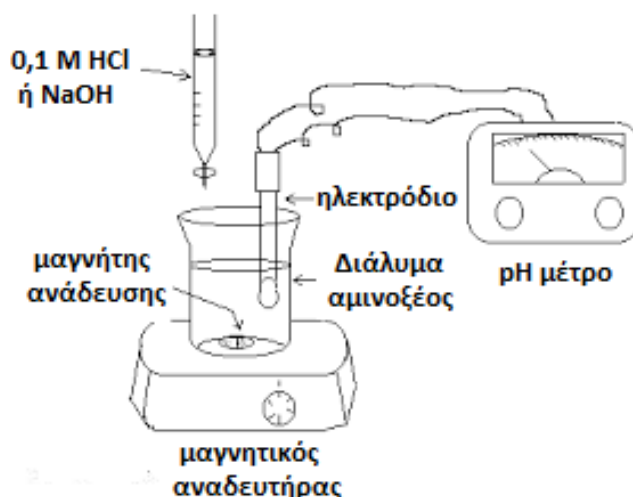
- Διάλυμα αμινοξέος 0,1 M
- Διάλυμα NaOH 0,1 M
- Διάλυμα HCl 0,1 M

#### Πειραματική διαδικασία

##### A. Όγκομέτρηση με HCl

1. Σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL προσθέστε με σιφώνιο 10 mL διαλύματος του αμινοξέος 0,1M και 10 mL απιονισμένου νερού.
2. Ξεπλύνετε την προχοΐδα με διάλυμα HCl (τρεις φορές).
3. Καταγράψτε το pH του διαλύματος του αμινοξέος
4. Γεμίστε την προχοΐδα με διάλυμα HCl 0,1 M

(Βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της προχοΐδας είναι γεμάτο με διάλυμα HCl και προσέξτε τον μηνίσκο).



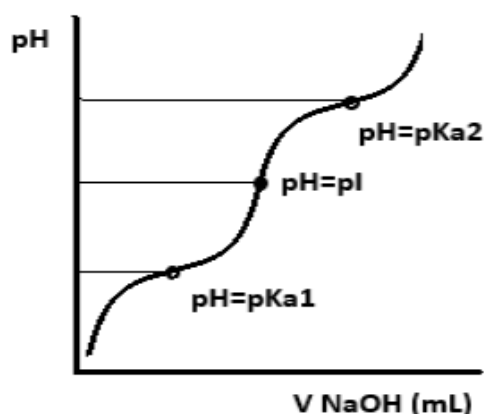
5. Τοποθετήστε το ποτήρι που περιέχει το διάλυμα αμινοξέος κάτω από την προχοΐδα.
6. Βυθίστε το ηλεκτρόδιο στο διάλυμα του αμινοξέος και καταγράψτε το pH.
7. Προσθέστε υπό ανάδευση 1 mL διαλύματος HCl, και καταγράψτε το pH του διαλύματος. Επαναλαμβάνετε την προσθήκη 1mL διαλύματος HCl και την παράλληλη καταγραφή, μέχρι το pH του διαλύματος γίνει 1,5.

## B. Ογκομέτρηση με NaOH

1. Ξεπλύνετε την προχοΐδα με διάλυμα NaOH (τρεις φορές).
2. Γεμίστε την προχοΐδα με διάλυμα NaOH (βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της προχοΐδας είναι γεμάτο με διάλυμα NaOH και προσέξτε τον μηνίσκο).
3. Τοποθετήστε το ποτήρι που περιέχει το διάλυμα αμινοξέος κάτω από την προχοΐδα.
4. Βυθίστε το ηλεκτρόδιο στο διάλυμα του αμινοξέος και καταγράψτε το pH.
5. Προσθέστε 1 mL διαλύματος NaOH, και καταγράψτε το pH του διαλύματος.
6. Επαναλάβετε την προσθήκη 1 mL διαλύματος NaOH και την παράλληλη καταγραφή μέχρι όπου το pH του διαλύματος να αρχίζει να παρουσιάζει μεγάλη μεταβολή, οπότε μειώνετε την ποσότητα του διαλύματος NaOH προσθέτοντας, 0,5 mL και καταγράφοντας τις τιμές του pH.
7. Όταν η μεταβολή του pH σταματήσει να είναι έντονη προσθέστε από 1 mL διαλύματος NaOH μέχρις όπου το pH του διαλύματος δεν μεταβάλλεται.

## ΕΡΓΑΣΙΑ

1. Σχεδιάστε την καμπύλη τιτλοδότησης στο EXCEL (γραφική παράσταση του pH του διαλύματος έναντι του όγκου της βάσης που προστέθηκε στο αμινοξύ) όπως παρακάτω:
2. Από την καμπύλη τιτλοδότησης καθορίστε:
  - το pKa της καρβοξυλικής ομάδας
  - το pKa αμινομάδας
  - το ισοηλεκτρικό σημείο (pI).

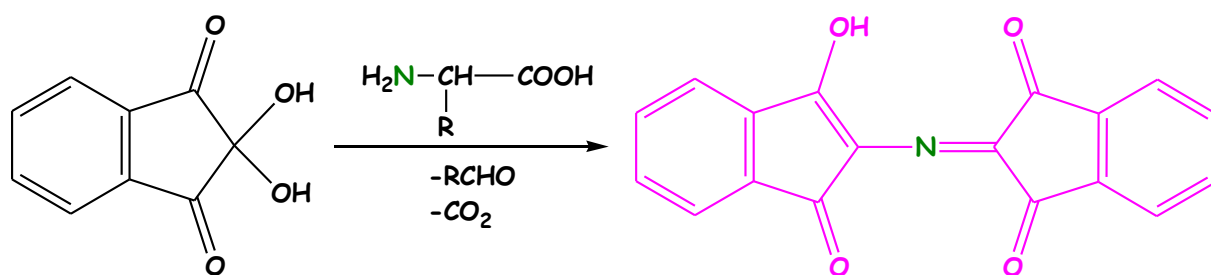


Συγκρίνετε τις τιμές αυτές με τις τιμές τις βιβλιογραφίας και αποφασίστε σε ποιο αμινοξύ μπορεί να αντιστοιχεί

## ΠΕΙΡΑΜΑ 4B.

### ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΜΙΝΟΞΕΩΝ

Το γεγονός ότι τα αμινοξέα στην πλειονότητά τους δεν είναι ορατά τόσο στην ηλεκτροφόρηση όσο και στη χρωματογραφία, οδήγησε στην εύρεση της ΑΝΤΙΔΡΑΣΗΣ ΝΙΝΥΔΡΙΝΗΣ. Αιθανολικό διάλυμα νινυδρίνης 1% w/v αντιδρά με ελεύθερα αμινοξέα δίνοντας ένα έγχρωμο ιώδες προϊόν το οποίο είναι ορατό και εύκολα ανιχνεύσιμο, αφού απορροφά σε μήκος κύματος  $\lambda_{\max}=570\text{nm}$  σύμφωνα με της αντίδραση:



Η αντίδραση αυτή γίνεται σε pH 5-7 από όλα τα α-αμινοξέα που έχουν ελεύθερη αμινομάδα (συμμετέχει αποκλειστικά η πρωτοταγής αμινομάδα του αμινοξέος).

Η νινυδρίνη αντιδρά με όλα τα α-αμινοξέα και δίνει διμοριακή κυανή ένωση, εκτός της προλίνης με την οποία δίνει κίτρινο χρώμα.

Η αντίδραση αυτή όμως δεν αφορά αποκλειστικά τα αμινοξέα, αλλά είναι δυνατό να λάβει χώρα και με οιαδήποτε άλλο μόριο που φέρει μια πρωτοταγή αμινομάδα.

Στην περίπτωση των πρωτεϊνών το εμφανιζόμενο χρώμα μπορεί να είναι και κόκκινο ή και καφέ ανάλογα με τη φύση της πρωτεΐνης.

Η αντίδραση αυτή είναι γενική και δίνεται σε pH 5-7 από όλα τα α-αμινοξέα που έχουν ελεύθερη αμινομάδα.

#### Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης

Ανίχνευση αμινοξέων και πρωτεϊνών με αντίδραση νινυδρίνης.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

#### Υλικά

- 6 δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες

#### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Διάλυματα αμινοξέων και πρωτεϊνικών δειγμάτων
- Αντιδραστήριο Νινυδρίνης (Αιθανολικό 1%)

### **Πειραματική διαδικασία**

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος το σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα

ΔΕΙΓΜΑΤΑ: Αιθανόλη, Γλυκίνη, Προλίνη, Ασπράδι Αυγού, Πρωτεΐνη Σόγιας και Γάλα

2. Προσθέστε περίπου 0,5 ml (10 σταγόνες) αντιδραστηρίου Νυνιδρίνης στο δείγμα.

3. Τοποθετείστε το δοκιμαστικό σωλήνα (όταν απαιτείται) στο υδατόλουτρο.

4. Καταγράψτε τον ακριβή χρόνο αντίδρασης, την θερμοκρασία και τις παρατηρήσεις σας.

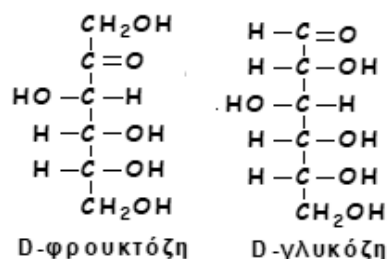
## 5η ΟΜΑΔΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΑΣΚΗΣΕΩΝ

### ΣΑΚΧΑΡΑ

#### ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΑΛΔΟΖΩΝ – ΚΕΤΟΖΩΝ - ΠΟΛΥΣΑΚΧΑΡΙΤΩΝ

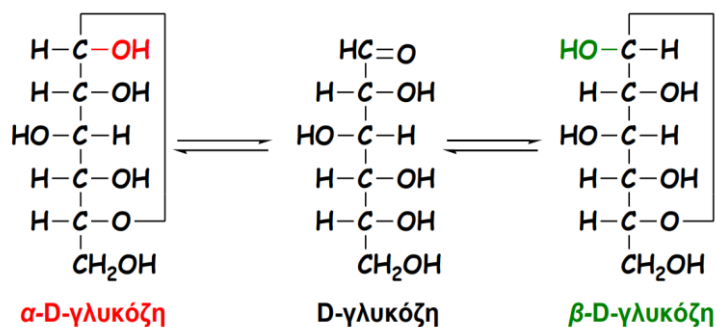
##### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα σάκχαρα ανάλογα με το είδος της λειτουργικής ομάδας (αλδεΐδη ή κετόνη) που περιέχουν στο μόριο τους διακρίνονται σε αλδόζες (D-Γλυκόζη) και κετόζες (D-Φρουκτόζη)



##### Ανάγοντα Σάκχαρα

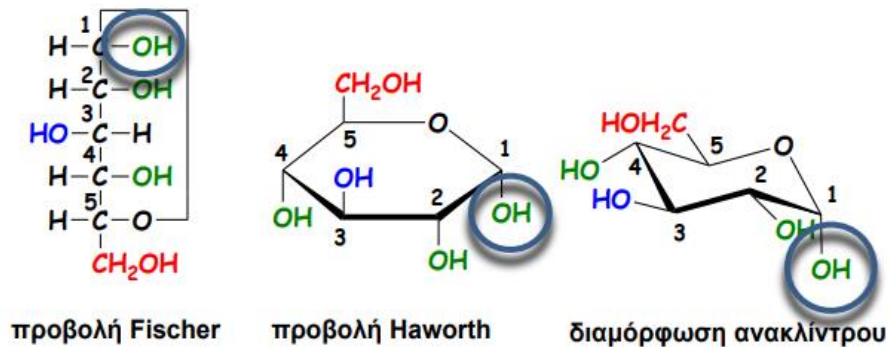
Σε ένα υδατικό διάλυμα, οι τρεις μορφές ενός σακχάρου (δυο κυκλικές και μια άκυκλη) βρίσκονται σε ισορροπία. Στις κυκλικές δομές προκύπτει ένα επιπλέον υδροξύλιο που λέγεται ημιακεταλικό ή ανωμερικό.



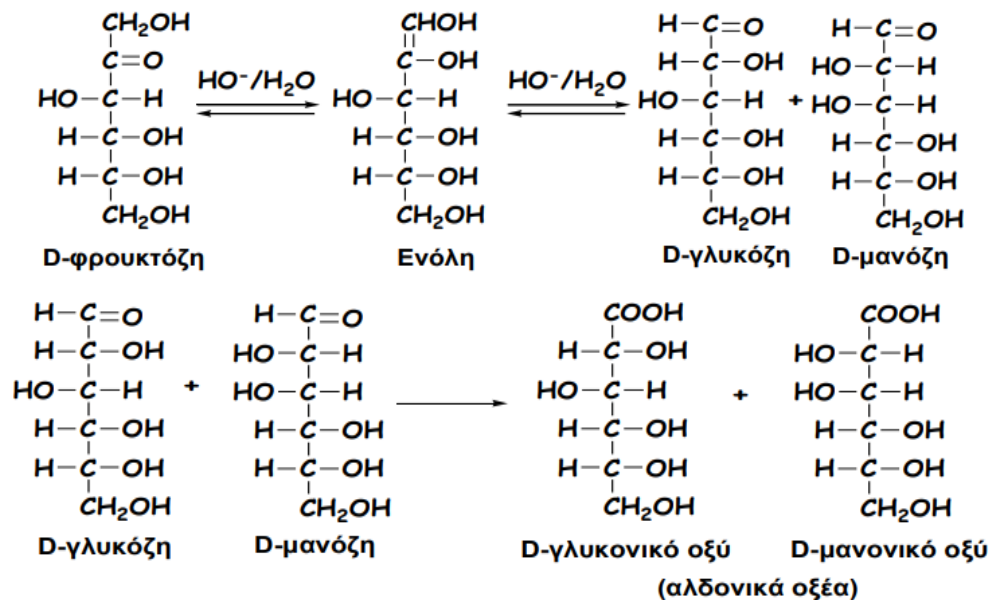
Το φαινόμενο ότι σε ένα υδατικό διάλυμα η μια ανωμερική κυκλική μορφή (πχ. η α-D-γλυκόζη) μετατρέπεται προοδευτικά, μέσω της άκυκλης μορφής στην άλλη ανωμερική με παράλληλη παρατήρηση προοδευτικής μεταβολής της τιμής της στροφικής ικανότητας, έως ότου σταθεροποιηθεί σε μια νέα τιμή λέγεται Πολυστροφισμός.

Οι μονοσακχαρίτες αλδόζες και κετόζες έχουν αναγωγικές ιδιότητες. Τα σάκχαρα που εμφανίζουν πολιστροφισμό είναι και ανάγοντα σάκχαρα αφού μπορούν από την κυκλική να μετατραπούν στην άκυκλη μορφή. Έτσι, τα απλά σάκχαρα και οι δισακχαρίτες στην περίπτωση που έχουν ελεύθερο ημιακεταλικό υδροξύλιο (κυκλωμένα) παρουσιάζουν

αναγωγικές ιδιότητες και ανάγουν τον δισθενή χαλκό σε μονοσθενή δίνοντας τα αντίστοιχα οξέα.



Τα κέτο σάκχαρα όπως η D-φρουκτόζη μετατρέπονται στην ενεδιόλη και μέσω αυτής οξειδώνονται.

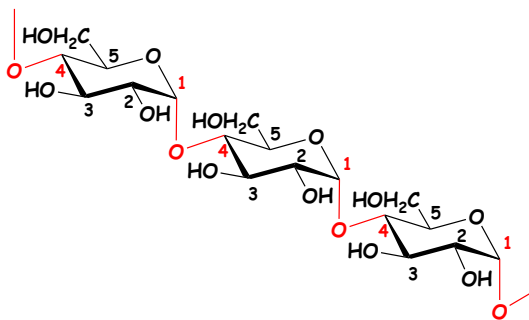


### Πολυσακχαρίτες-Άμυλο

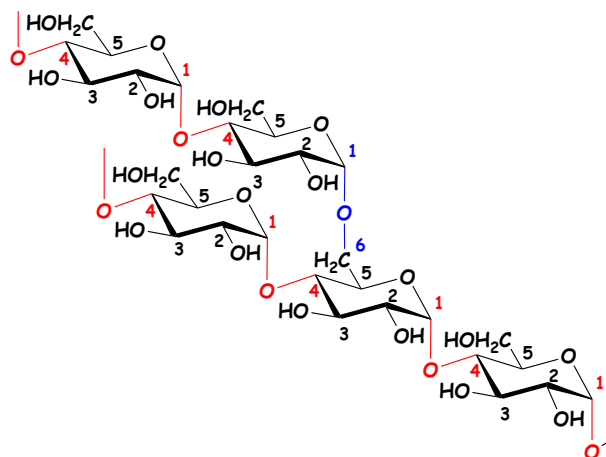
Το άμυλο βρίσκεται σε αφθονία στους φυτικούς ιστούς της πατάτας, του ρυζιού, του καλαμποκιού, στο αλεύρι κλπ.

Αποτελείται από ένα μίγμα δυο διαφορετικών πολυσακχαριτών, της αμυλόζης (20%) και της αμυλοπηκτίνης (80%).

Η **αμυλόζη** είναι ένας γραμμικός ομοπολυσακχαρίτης, δηλαδή αποτελείται από χιλιάδες μόρια του ίδιου μονοσακχαρίτη ( $\alpha$ -D-γλυκόζη) που είναι συνδεδεμένα γραμμικά μέσω  **$\alpha(1,4)$ -γλυκοζιτικών δεσμών**.



Η **αμυλοπηκτίνη** διακλαδισμένος ομοπολυ-σακχαρίτης, ο οποίος αποτελείται από χιλιάδες μόρια του ίδιου μονοσακχαρίτη ( $\alpha$ -D-γλυκόζη) γραμμικά μέσω  **$\alpha(1,4)$ -γλυκοζιτικών δεσμών**. Διακλαδώσεις μέσω  $\alpha(1,6)$ -γλυκοζιτικών δεσμών.



## ΠΕΙΡΑΜΑ 5A

### ΔΟΚΙΜΗ Seliwanoff

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Διάκριση μεταξύ κετοζών και αλδοζών σακχάρων

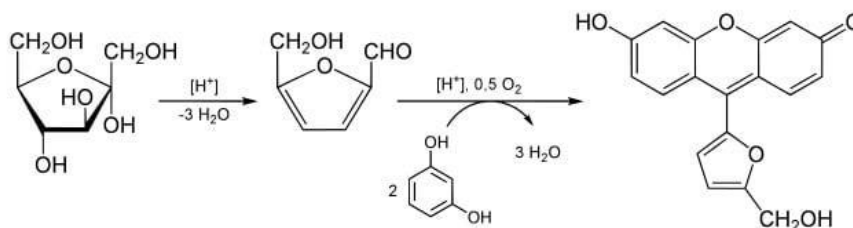
Η δοκιμή του **Seliwanoff** χρησιμοποιείται για τη διάκριση μεταξύ σακχάρων που έχουν ομάδα κετόνης (κετόζη) και σακχάρων που έχουν ομάδα αλδεϋδης (αλδόζη).

Στόχοι της δοκιμής του Seliwanoff

A. ανίχνευση της παρουσίας κετοεξοζών σε ένα δείγμα.

B. διάκριση των κετοζών από τις αλδόζες.

Το αντιδραστήριο αυτής της δοκιμής αποτελείται από ρεσορκινόλη και πυκνό HCl.



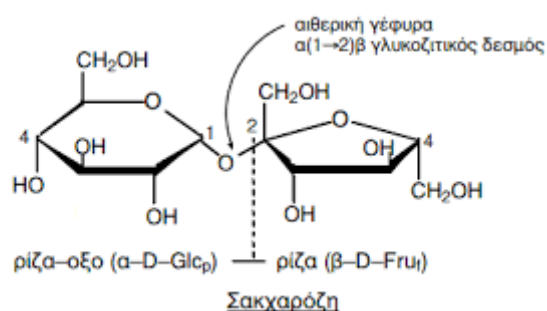
Οι **κετόζες** υφίστανται **αφυδάτωση** παρουσία συμπυκνωμένου οξέος για να δώσουν 5-υδροξυμεθυλ φουρφουράλη

Η αφυδατωμένη κετόζη αντιδρά με δύο ισοδύναμα ρεσορκινόλης σε μια σειρά αντιδράσεων συμπύκνωσης για να παράγει ένα σύμπλοκο (όχι ένα ίζημα), που ονομάζεται **ξανθινοειδές**, με βαθύ κόκκινο κερασί χρώμα.

Η όξινη υδρόλυση πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών οδηγεί σε απλούστερα σάκχαρα έτσι υδατάνθρακες όπως η σακχαρόζη δίνει επίσης ένα θετικό γιατί υδρολύεται το σάκχαρο με οξύ για να δώσει φρουκτόζη.

- Οι κετόζες αφυδατώνονται ταχύτερα από τις αλδόζες.

- Οι αλδόζες μπορεί να αντιδράσουν ελαφρώς για να παραγάγουν ένα αχνό ροζ έως κόκκινο κεράσι χρώμα εάν η δοκιμή παραταθεί.



- Το προϊόν και ο χρόνος αντίδρασης της αντίδρασης οξείδωσης βοηθούν στη διάκριση μεταξύ υδατανθράκων.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

#### Υλικά

#### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- 2 δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες
- Υδατόλουτρο
- Διαλύματα σακχάρων
- Αντιδραστήριο **Seliwanoff**

#### Παρασκευή Αντιδραστηρίου Seliwanoff:

Προσθέστε 0,05% ρεσορκινόλη (m-υδροξυβενζόλιο) σε 3N HCl.

Ή Διαλύστε 50 mg ρεσορκινόλης σε 33 ml πυκνού HCl και αραιώστε έως τα 100 ml με νερό.

#### Γενικό Πειραματικό

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2 mL (10 σταγόνες) αντιδραστηρίου **Seliwanoffs** σε κάθε σωλήνα.



4. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες στο υδατόλουτρο ( ζέον) για 1 λεπτό
5. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος

#### ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Ο σχηματισμός του συμπλέγματος κόκκινου κερασιού δείχνει **ένα θετικό αποτέλεσμα** που σημαίνει ότι το δεδομένο δείγμα περιέχει κετόζες.
- Η **απουσία τέτοιου χρώματος** ή η εμφάνιση του χρώματος μετά από παρατεταμένη χρονική περίοδο υποδηλώνει αρνητικό αποτέλεσμα που σημαίνει ότι το δείγμα δοκιμής δεν έχει κετόζες.
- Η αντίδραση χρώματος του Seliwanoff χρησιμοποιείται στη μέθοδο για τον **χρωματομετρικό προσδιορισμό της φρουκτόζης**.
- Η **υψηλή συγκέντρωση γλυκόζης ή άλλου σακχάρου** μπορεί να επηρεάσει την παραγωγή παρόμοιων χρωματισμένων ενώσεων με το αντιδραστήριο Seliwanoff.
- Ο **παρατεταμένος βρασμός** μπορεί να μετατρέψει τη γλυκόζη σε φρουκτόζη με την καταλυτική δράση του οξέος και να σχηματίσει ένα κόκκινο-σύμπλοκο κερασιών δίνοντας ένα ψευδώς θετικό αποτέλεσμα.
- Αυτή η δοκιμή είναι μια γενικευμένη δοκιμή και δεν κάνει διάκριση μεταξύ συγκεκριμένων κετοζών και απαιτείται ξεχωριστή δοκιμή για τη συγκεκριμένη ταυτοποίηση σακχάρου κετόζης.

### ΠΕΙΡΑΜΑ 5B

#### ΔΟΚΙΜΗ Benedict

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Ανίχνευση της παρουσίας **αναγωγικού σακχάρου**.

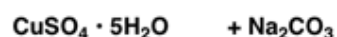
**Το αντιδραστήριο Benedict χρησιμοποιείται:**

**A. Για τον προσδιορισμό της παρουσίας ή της απουσίας αναγωγικού σακχάρου στο διάλυμα.**

**B. Για να προσδιοριστεί ποσοτικά η συγκέντρωση γλυκόζης στο διάλυμα.**

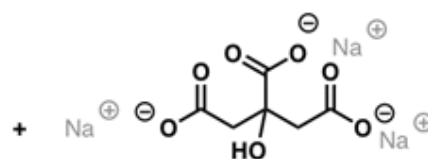
Το διάλυμα Benedict είναι ένα βαθύ-μπλε αλκαλικό χημικό αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο της παρουσίας της λειτουργικής ομάδας αλδεΐδης -CHO που αποτελείται από πενταένυδρο θεικό χαλκό ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), ανθρακικό νάτριο ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), κιτρικό νάτριο ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) και απεσταγμένο νερό.

i) Preparation of the solution:



*Copper sulfate*

*Sodium carbonate*

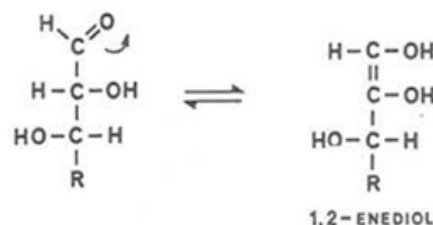


*Sodium citrate*

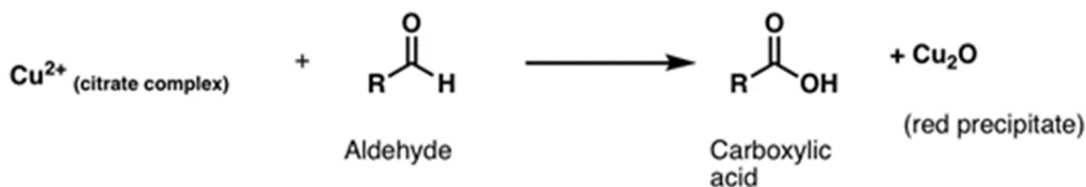
Το **ανθρακικό νάτριο** καθιστά **αλκαλικές συνθήκες** που απαιτούνται για την οξειδοαναγωγική αντίδραση. Το **κιτρικό νάτριο συμπλοκοποιείται με τα ιόντα χαλκού (II)** για να αποφευχθεί η αποικοδόμηση σε ιόντα χαλκού (I) κατά την αποθήκευση του αντιδραστηρίου.

Η δοκιμή εκτελείται με **θέρμανση** του διαλύματος αναγωγικού σακχάρου με το αντιδραστήριο Benedict.

Η παρουσία του **αλκαλικού** ανθρακικού νατρίου μετατρέπει το σάκχαρο σε έναν ισχυρό αναγωγικό παράγοντα που ονομάζεται ενεδιόλη.



Κατά τη διάρκεια της αντίδρασης, οι ενεδιόλες ανάγουν τον χαλκού  $\text{Cu}^{2+}$  που υπάρχει στο αντιδραστήριο Benedict σε χαλκό  $\text{Cu}^+$  που εμφανίζεται ως ερυθρό οξείδιο του χαλκού ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) αδιάλυτο στο νερό.



Όταν το διάλυμα αντιδραστηρίου Benedict και τα αναγωγικά σάκχαρα θερμαίνονται μαζί, το διάλυμα αλλάζει το **χρώμα του σε πορτοκαλί-κόκκινο / κόκκινο ίζημα**.

Το ερυθρόχρωμο οξείδιο του χαλκού είναι αδιάλυτο στο νερό και ως εκ τούτου, διαχωρίζεται από το διάλυμα.

Όταν η συγκέντρωση του αναγωγικού σακχάρου είναι υψηλή στο διάλυμα, τότε το χρώμα γίνεται πιο έντονο (κοκκινωπό) και ο όγκος του ιζήματος αυξάνεται στον δοκιμαστικό σωλήνα καθιστώντας το σαφώς ορατό.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

### Υλικά

- 2 δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες
- Υδατόλουτρο

### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Διαλύματα σακχάρων
- Αντιδραστήριο **Benedict**

### Παρασκευή Αντιδραστηρίου Benedict :

Για την Παρασκευή ενός λίτρου αντιδραστηρίου διαλύονται 100 g άνυδρου ανθρακικού νατρίου 173 g κιτρικό νάτριο και 17.3 g ένυδρου θειικού χαλκού.

### Απαιτούμενα υλικά

Δοκιμαστικοί ΣΩΛΗΝΕΣ, Βάση δοκιμαστικού σωλήνα, Πιπέτες, Υδατόλουτρο

### Γενικό Πειραματικό

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2 mL (10 σταγόνες) αντιδραστηρίου **Benedict** σε κάθε σωλήνα.
4. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε υδατόλουτρο ( ζέον) για 3-5 λεπτά
5. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος

Ο χρωματισμός του διαλύματος είναι ανάλογος με το ποσοστό του ανάγοντος σακχάρου:

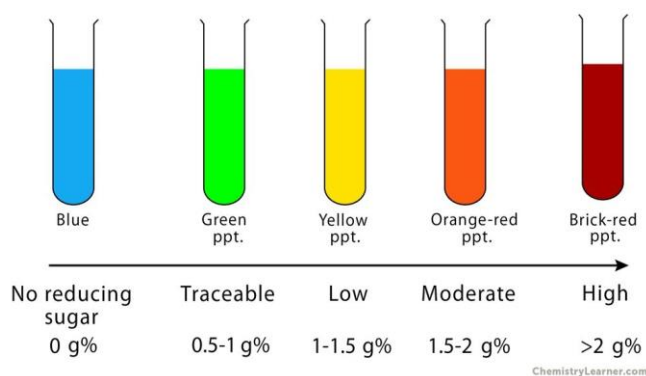
**Μπλέ:** Απουσία ανάγοντος σακχάρου

**Πράσινο:** Ίχνη ανάγοντος σακχάρου

**Κίτρινο:** Χαμηλή παρουσία ανάγοντος σακχάρου

**Πορτοκαλοκόκκινο:** Μέση παρουσία ανάγοντος σακχάρου

**Βαθύ κόκκινο:** Παρουσία ανάγοντος σακχάρου



## ΠΕΙΡΑΜΑ 5Γ

### ΔΟΚΙΜΗ Barfoerd

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Ανίχνευση της παρουσίας μονοσακχαριτών.

Η δοκιμή Barfoed είναι μια χημική δοκιμή που χρησιμοποιείται για την **ανίχνευση της παρουσίας μονοσακχαριτών**.

Αυτή η αντίδραση μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για δισακχαρίτες, αλλά η αντίδραση θα ήταν πολύ αργή.

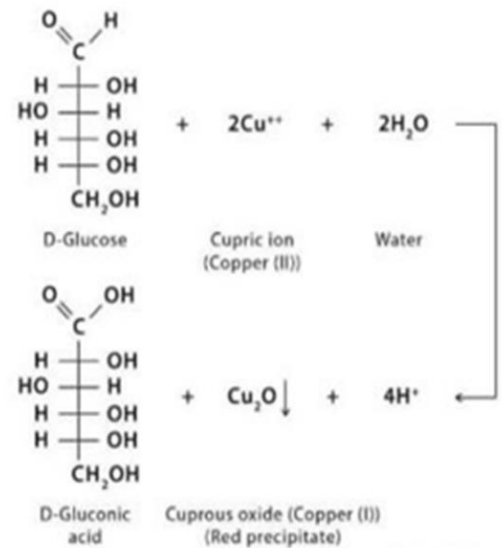
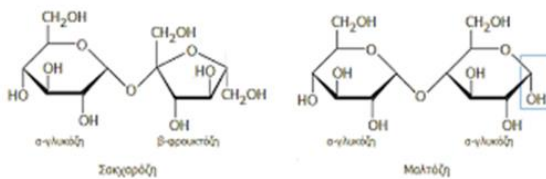
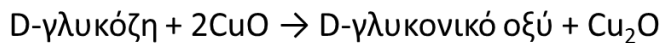
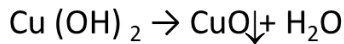
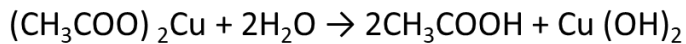
#### **Χρησιμοποιείται:**

Για την ανίχνευση μειωμένων υδατανθράκων.

Για τη διάκριση των αναγωγικών μονοσακχαριτών από τους δισακχαρίτες

- Το αντιδραστήριο Barfoed αποτελείται από **οξικό χαλκό** σε αραιό διάλυμα **οξικού οξέος**.
- Δεδομένου ότι το όξινο pH **δεν ευνοεί την αναγωγή**, οι μονοσακχαρίτες, οι οποίοι είναι ισχυροί αναγωγικοί παράγοντες, αντιδρούν σε περίπου 1-2 λεπτά.
- Οι **δισακχαρίτες χρειάζονται περισσότερο χρόνο** περίπου 7-8 λεπτά, έχοντας πρώτα να υδρολυθούν στο όξινο διάλυμα και μετά να αντιδράσουν με το αντιδραστήριο.
- Μόλις πραγματοποιηθεί η αντίδραση, **σχηματίζεται λεπτό κόκκινο ίζημα** στο κάτω μέρος των πλευρών του σωλήνα.
- Η διαφορά στο χρόνο εμφάνισης του ιζήματος βοηθά στη διάκριση μονοσακχαριτών από δισακχαρίτες.

## Αντίδραση



**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

## Υλικά

## Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- 2 δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες
- Υδατόλουτρο
- Διάλυμα σακχάρων
- Αντιδραστήριο **Barfoerd**

## Παρασκευή Αντιδραστηρίου Barfoerd :

Αντιδραστήριο **Barfoerd**: 0,33M διάλυμα οξικού χαλκού προστίθεται σε 1% οξικό οξύ. Φρεσκοπαρασκευασμένο αντιδραστήριο πρέπει να χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό.

## Γενικό Πειραματικό

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2–3 σταγόνες αντιδραστηρίου **Barfoerd** σε κάθε σωλήνα.
4. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες στο υδατόλουτρο ( ζέον) για 1-2 λεπτά
5. Παρατηρείστε το σχηματισμό ιζήματος

## ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- **Ο βρασμός δεν πρέπει να παραταθεί πέρα από τα 2 λεπτά** καθώς οι δισακχαρίτες ενδέχεται να υδρολυθούν σε μονοσακχαρίτες και να δώσουν θετικό αποτέλεσμα.
- Η παρουσία **ερυθρού ιζήματος** ανιχνεύει την παρουσία αναγόντων μονοσακχαριτών στο δείγμα.
- Εάν το χρώμα **εμφανίζεται μέσα στα πρώτα λεπτά**, το δείγμα περιέχει ανάγοντες μονοσακχαριτών.
- Ωστόσο, **εάν το χρώμα εμφανίζεται μετά τα πρώτα 3 λεπτά**, το δείγμα περιέχει ανάγοντες δισακχαριτών.
- Αυτή η δοκιμή χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό των αναγόντων μονοσακχαριτών και τη διάκριση των αναγόντων δισακχαριτών και μονοσακχαριτών.

## ΠΕΙΡΑΜΑ 5Δ

### ΔΟΚΙΜΗ Ιωδίου

**Σκοπός Εργαστηριακής Άσκησης:** Ανίχνευση αμύλου

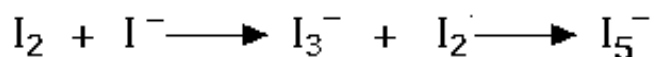
Η δοκιμή ιωδίου είναι μια χημική δοκιμή που χρησιμοποιείται για τη **διάκριση μονο- ή δισακχαριτών από ορισμένους πολυσακχαρίτες όπως αμυλάση, δεξτρίνη και γλυκογόνο.**

Το τεστ ιωδίου βασίζεται στο γεγονός ότι **τα ιόντα πολυϊωδιδίων σχηματίζουν χρωματιστό σύμπλοκο** προσρόφησης με ελικοειδείς αλυσίδες υπολειμμάτων **αμυλόζης του αμύλου (μπλε-μαύρο)**, δεξτρίνης (μαύρο) ή γλυκογόνου (κοκκινωπό-καφέ).

Οι μονοσακχαρίτες, οι δισακχαρίτες και οι διακλαδισμένοι πολυσακχαρίτες όπως η κυτταρίνη παραμένουν άχρωμα. Η **αμυλοπηκτίνη** παράγει μια **πορτοκαλοκίτρινη απόχρωση.**

Το αντιδραστήριο που χρησιμοποιείται στη δοκιμή ιωδίου είναι ένα υδατικό διάλυμα στοιχειακού ιωδίου και ιωδιούχου καλίου.

Το ιώδιο από μόνο του είναι αδιάλυτο στο νερό. Η προσθήκη ιωδίου καλίου καταλήγει σε αναστρέψιμη αντίδραση του ιόντος ιωδίου με ιώδιο για σχηματισμό ιόντος τριοϊωδιδίου, το οποίο αντιδρά περαιτέρω με μόριο ιωδίου για να σχηματίσει ιόν πενταϊωδιδίου. (Iugol's Iodine)



Το διάλυμα του ιωδίου είναι καφέ, ενώ το ιώδιο, το τριιωδίδιο και το ιόν **πενταϊωδιδίου είναι άχρωμα.**

Παρατηρείται ότι η δομή έλικας (πηνίο ή ελατήριο) της αλυσίδας γλυκόζης είναι το κλειδί αυτής της δοκιμής.

Περαιτέρω, **το προκύπτον χρώμα εξαρτάται από το μήκος των αλυσίδων γλυκόζης.**

Τα ιόντα **τριοϊωδιδίου και πενταϊωδιδίου που σχηματίζονται είναι γραμμικά και γλιστρούν μέσα στην έλικα.**

Η ένταση του χρώματος μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας και την παρουσία προσμίξεων νερού οργανικών ενώσεων.

Κατά τη θέρμανση, το σύμπλεγμα μπλε χρώματος αμυλάσης-ιωδίου διαχωρίζεται αλλά σχηματίζεται ξανά κατά την ψύξη επειδή η ελικοειδής δομή έχει διαταραχθεί. Έτσι η αμυλόζη χάνει την ικανότητα πρόσδεσης του ιωδίου και το μπλε χρώμα.

Το μπλε χρώμα επανεμφανίζεται κατά την ψύξη λόγω της ανάκτησης της ικανότητας σύνδεσης ιωδίου λόγω της επαναφοράς της ελικοειδούς δομής.

**Ασφάλεια:** Καταγράψτε τα MSDS των αντιδραστηρίων.

Φοράτε εργαστηριακή ρόμπα, προστατευτικά γυαλιά και γάντια.

#### Υλικά

- 2 δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες

#### Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Διάλυμα αμύλου
- Αντιδραστήριο **ΙΩΔΙΟΥ**

#### Παρασκευή Αντιδραστηρίου **ΙΩΔΙΟΥ:**

5% στοιχειακό ιώδιο αναμιγνύεται με 10% διάλυμα ιωδιούχου κάλιου

#### Γενικό Πειραματικό

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2–3 σταγόνες διαλύματος **ιωδίου** σε κάθε σωλήνα και αναδεύστε καλά.
4. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος

#### ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ

- Η εμφάνιση ενός μπλε-μαύρου ή μοβ χρώματος αντιπροσωπεύει ένα θετικό τεστ, που δείχνει την παρουσία αμύλου.
- Εάν δεν υπάρχει αλλαγή χρώματος, το αποτέλεσμα είναι αρνητικό και δείχνει την απουσία αμύλου.
- Χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της παρουσίας αμύλου σε διάφορα δείγματα.
- Πραγματοποιείται για να δοκιμαστεί η διαδικασία της φωτοσύνθεσης στα φυτά.
- Αυτή η δοκιμή δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί σε όξινες συνθήκες γιατί το άμυλο υδρολύεται.
- Αυτή η δοκιμή είναι ποιοτική και όχι ποσοτική.

### ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

**Υλικά:** 8 σειρές από 5 καθαρούς, στεγνούς δοκιμαστικούς σωλήνες.

**ΓΝΩΣΤΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΣΑΚΧΑΡΩΝ:** γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο

**ΑΓΝΩΣΤΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΣΑΚΧΑΡΩΝ** A, B, C, D, και E που μπορεί να περιέχουν γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο

1. Σε 4 σειρές δοκιμαστικών σωλήνων τοποθετείστε 1 mL διαλύματος από τα σάκχαρα:
  - γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο
2. Σε 4 σειρές δοκιμαστικών σωλήνων τοποθετείστε 1 mL διαλύματος από τα σάκχαρα:
  - A, B, C, D, και E που μπορεί να περιέχουν γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο
3. Σε κάθε σειρά σακχάρων πραγματοποιείτε μία από τις αντιδράσεις: **Seliwanoffs, Benedict, Barfoed και ιωδίου**
4. Παρατηρείστε το χρωματισμό των διαλυμάτων/σχηματισμό ιζήματος

### Εργασία

Αντιστοιχείστε τα A,B,C,D και E με τα σάκχαρα: Γλυκόζη, Φρουκτόζη, Σακχαρόζη, Μαλτόζη και Άμυλο



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Skoog, D. A., Holler, F.J. and Nieman T.A. "Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης", (Εκδ. Κωσταράκης, Αθήνα 2002.
2. Pecsok, Shields, Cairns, McWilliam "Σύγχρονες μέθοδοι στη Χημική Ανάλυση, , Εκδόσεις Πνευματικός, Αθήνα 1980.
3. *Ebbing, Darrell D. Steven D. Gammon, Γενική Χημεία, Μετάφραση: Νικόλαος Δ. Κλούρας, Τραυλός, Αθήνα 2011.*
4. *Vogel, A.I. A Text-book of Quantitative Inorganic Analysis, Longman, London, 1975.*
5. *Chemistry 2A Laboratory Manual Standard Operating Procedures Department of Chemistry University of California - Davis Davis, CA 95616 Summer 2015*  
<http://chemistry.ucdavis.edu/undergraduate/documents/2a-lab-manual-ss15.pdf>
6. *Vogel, A.I. A Text-book of Quantitative Inorganic Analysis, Longman, London, 1975.*
7. John McMurry, "Οργανική Χημεία", Κεφ. 14, 26, Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης, 2017.
8. *Κωνσταντίνου Β. & Κουλαδούρος Η., Πρακτικά και Θεωρητικά Θέματα Γενικής Χημείας, ΓΠΑ, Αθήνα 1999.*
9. *Χατζηγιάννου, Θ.Π. Εργαστήρια και Ασκήσεις Ποσοτικής Αναλυτικής Χημείας, Αθήνα 1992.*
10. *Λιοδάκη Σ. Αναλυτική Χημεία. Παπασωτηρίου, Αθήνα 2001.*
11. *Κλούρας Ν.Δ. Βασική Ανόργανη Χημεία, Τραυλός, Αθήνα 2002.*
12. <http://swc2.hccs.edu/pahlavan>
13. <http://orgchem.colorado.edu/Technique/Procedures/TLC/TLC.html>
14. [http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem\\_lycopene.htm](http://www.chem.uoa.gr/chemicals/chem_lycopene.htm)
15. <https://www2.chemistry.msu.edu/faculty/reusch/virttxtjml/proteins.htm>
16. <http://cbc.arizona.edu/>
17. <http://users.sch.gr/>
18. ΟΔΗΓΙΑ 2008/128/ΕΕ, 22/12/2008 για τη θέσπιση ειδικών κριτηρίων καθαρότητας για τις χρωστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα
19. *Γιαννακούρης, Ν., Νικολιουδάκης, Ν., & Κοκκορόγιαννης, Θ. (2015). ΑΣΚΗΣΗ: ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΦΩΤΟΣΥΝΘΕΤΙΚΕΣ ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ* Γιαννακούρης, Ν., Νικολιουδάκης, Ν., & Κοκκορόγιαννης, Θ. 2015. Οδηγός εργαστηριακών και φροντιστηριακών ασκήσεων βιολογίας [Εργαστηριακός Οδηγός]. Κάλλιπος, Άνοιχτές Ακαδημαϊκές Εκδόσεις. <https://hdl.handle.net/11419/4136>