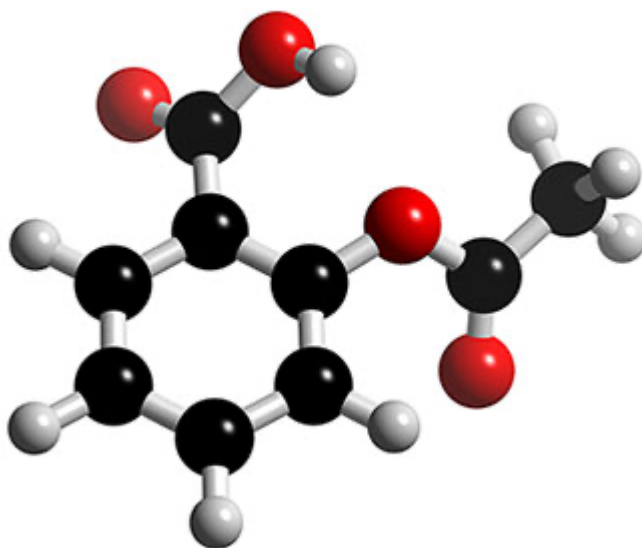


Università degli Studi di Padova
Facoltà di Scienze MM FF NN
Corso di Laurea in Chimica

CORSO DI CHIMICA ORGANICA III

MODULO B: laboratorio
a.a. 2025-2026



Prof. Luca Gabrielli
Prof. Gabriele Giachin

Dipartimento di Scienze Chimiche
Università di Padova
Email: luca.gabrielli@unipd.it; gabriele.giachin@unipd.it

CALENDARIO e PROGRAMMA

Piano	Periodo	lun 29 set 25 – ven 3 ott 25				
		lun 29 set 25	mar 30 set 25	mer 1 ott 25	gio 2 ott 25	ven 3 ott 25
8°	Mattino					
8°	Pomeriggio			CHORG3-A	CHORG3-A	CHORG3-A
6°	Mattino					
6°	Pomeriggio				Strumenti	Strumenti
		lun 6 ott 25 – ven 10 ott 25				
		lun 6 ott 25	mar 7 ott 25	mer 8 ott 25	gio 9 ott 25	ven 10 ott 25
8°	Mattino	CHORG3-A				
8°	Pomeriggio	CHORG3-A	CHORG3-A	CHORG3-A	CHORG3-A	CHORG3-A
6°	Mattino	Strumenti				
6°	Pomeriggio				Strumenti	Strumenti
		lun 13 ott 25 – ven 17 ott 25				
		lun 13 ott 25	mer 14 ott 24	mer 15 ott 25	gio 16 ott 25	ven 17 ott 25
8°	Mattino	CHORG3-A				
8°	Pomeriggio	CHORG3-A	CHORG3-B	CHORG3-B	CHORG3-B	CHORG3-B
6°	Mattino	Strumenti				
6°	Pomeriggio			Strumenti		Strumenti
		lun 20 ott 25 – ven 24 ott 25				
		lun 20 ott 25	mar 21 ott 25	mer 22 ott 25	gio 23 ott 25	ven 24 ott 25
8°	Mattino	CHORG3-B				
8°	Pomeriggio	Recupero	CHORG3-B	CHORG3-B	CHORG3-B	CHORG3-B
6°	Mattino	Strumenti				
6°	Pomeriggio			Strumenti		Strumenti
		lun 27 ott 25 – gio 30 ott 25				
		lun 27 ott 25	mar 28 ott 25	mer 29 ott 25	gio 30 ott 25	
8°	Mattino	CHORG3-B				
8°	Pomeriggio	CHORG3-B				
6°	Mattino	Strumenti				
6°	Pomeriggio	Strumenti				
		lun 17 nov 25 – ven 21 nov 25				
		lun 17 nov 25	mar 18 nov 25	mer 19 nov 25	gio 20 nov 25	ven 21 nov 25
8°	Mattino					
8°	Pomeriggio					CHORG3-C
6°	Mattino					
6°	Pomeriggio					Strumenti
		lun 24 nov 25 – ven 28 nov 25				
		lun 24 nov 25	mar 25 nov 25	mer 26 nov 25	gio 27 nov 25	ven 28 nov 25
8°	Mattino	CHORG3-C				
8°	Pomeriggio	CHORG3-C	CHORG3-C	CHORG3-C	CHORG3-C	CHORG3-C
6°	Mattino	Strumenti				
6°	Pomeriggio	Strumenti	Strumenti	Strumenti	Strumenti	Strumenti
		lun 1 dic 25 – ven 5 dic 25				
		lun 1 dic 25	mar 2 dic 25	mer 3 dic 25	gio 4 dic 25	ven 5 dic 25
8°	Mattino	Recupero				
8°	Pomeriggio	CHORG3-C	CHORG3-C	CHORG3-C	CHORG3-C	
6°	Mattino	Strumenti				
6°	Pomeriggio	Strumenti	Strumenti	Strumenti	Strumenti	

NOTE:

- Il corso di laboratorio (modulo B) si articola in 48 ore di frequenza del laboratorio. Nelle 48 ore di laboratorio sono incluse delle ore dedicate sia all'approfondimento degli argomenti di teoria (complementi di NMR) con esercitazioni mirate (composti incogniti), sia alla presentazione delle esperienze di laboratorio, delle procedure sperimentali e degli strumenti a disposizione in laboratorio.

- La **frequenza è obbligatoria**.

- Per la corretta esecuzione delle tecniche sperimentali e quindi per la sicurezza personale e di tutte le altre persone che frequentano il laboratorio, è necessario affrontare il laboratorio con serietà e preparazione. Questo richiede un approfondimento personale dei diversi argomenti affrontati durante le lezioni in aula, prima dello svolgimento sperimentale delle esperienze. In caso di dubbi o incomprensione di qualsiasi argomento relativo al laboratorio, si consiglia di rivolgersi sempre ai docenti o agli assistenti presenti in laboratorio.

- **Le assenze devono essere giustificate** e segnalate ai docenti per telefono o email agli indirizzi riportati in "Informazioni Generali" (vedi Indice).

- TESTI CONSIGLIATI:

R.M. Roberts, J.C. Gilbert, S.F. Martin: "Chimica Organica Sperimentale" . Zanichelli Editore (BO), prima edizione 1999.

R. M. Silverstein, F.X. Webster: "Identificazione spettroscopica di composti organici". Casa Editrice Ambrosiana (MI), 1999 (traduzione della VI edizione americana).

- TESTI DI APPROFONDIMENTO

B.S. Furniss, A.J. Hannaford, P.W.G. Smith, A.R. Tatchell: "Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry-5th Edition". Longman Scientific & Technical (Harlow, UK), 1989.

'The Handbook of Chemistry and Physics' CRC Press, Boca Raton, Florida (71st ed., 1990-1991).

INDICE

Introduzione

- | | | |
|---|--|---|
| • | Informazioni generali | 6 |
| • | Norme di comportamento e sicurezza nel laboratorio | 8 |

Procedure fondamentali

- | | | |
|---|---|----|
| • | Il quaderno di laboratorio | 12 |
| • | Riscaldamento con riflusso | 14 |
| • | Cristallizzazione | 16 |
| • | Filtrazione | 18 |
| • | Estrazione con imbuto separatore | 19 |
| • | Anidrificazione | 21 |
| • | Utilizzo dell'evaporatore rotante | 23 |
| • | Preparazione di un tubo NMR | 24 |
| • | Preparazione di un campione per analisi IR | 25 |
| • | preparazione di un campione per analisi TLC e GC-MS | 26 |

Esperienze

- | | | |
|---|--|----|
| • | Riduzione del benzofenone ad alcol con sodio boro idruro | 28 |
| • | Sintesi del 4'-metilcalcone | 31 |
| • | Ossidazione del 4'-metilcalcone a calcone epossido | 37 |
| • | Sintesi del cumarin-3-carbossilato di etile (condensazione di Knoevenagel) | 41 |
| • | Identificazione di un composto incognito | 50 |
| • | Esperienza a scelta | 51 |

Appendice

- | | | |
|---|--|----|
| • | Istruzioni per l'uso dello spettrometro NMR Bruker 250 MHz | 53 |
| • | Istruzioni per l'uso del programma di elaborazioni di spettri MESTRE-C | 57 |
| • | Istruzioni per la registrazione di un' analisi GC-MS | 61 |
| • | Istruzioni per la registrazione di uno spettro IR | 67 |
| • | Esempi della compilazione del quaderno di laboratorio | 68 |

INTRODUZIONE

INFORMAZIONE GENERALE

Docenti ed Assistenti presenti in laboratorio

Prof. Luca Gabrielli luca.gabrielli@unipd.it ; Tel: 049 827 5250;

Prof. Gabrieli Giachin gabriele.giachin@unipd.it; Tel: 049 827 5740;

Assistenti:

Lorenzo Goldin lorenzo.goldin@phd.unipd.it
Alessandro Altinerr alessandro.altiner@phd.unipd.it

Personale tecnico:

Andrea Nardi (VI piano) andrea.nardi@unipd.it, Tel: 049 8275274
Rosaria Catia Cucco (VIII piano) rosariacatia.cucco@unipd.it Tel: 049 8275787

Materiale necessario

Ogni studente deve portare in laboratorio

- questo manuale di laboratorio
- un quadernone (DIN A4) a quadretti per la stesura della relazione sull'esperienza e la registrazione di tutte le osservazioni sperimentali inerenti alla stessa (vedi dopo). **Una fotografia o fotocopia di fotografia da attaccare alla prima pagina del quaderno**
- calcolatrice e cancelleria personali
- un camice da laboratorio

Valutazione dell'attività del laboratorio

Il giudizio relativo al modulo di laboratorio sarà integrato nella valutazione dell'esame totale e sarà basato: (i) sulla preparazione e manualità del singolo studente; (ii) sull'osservanza delle norme di sicurezza; (iii) sulla compilazione del quaderno di laboratorio; (iv) sull'ordine e la pulizia del banco di lavoro del gruppo

Accesso al Laboratorio

Ogni studente deve presentare, compilata in ogni parte, la scheda di preparazione all'esperienza : PRE-Lab, (preparazione al laboratorio), come descritto successivamente nella sessione dedicata al quaderno di laboratorio.

NORME DI COMPORTAMENTO E SICUREZZA NEL LABORATORIO

La sicurezza del laboratorio è responsabilità personale di ognuno. E' necessario lavorare con attenzione e consapevolezza in ogni fase della realizzazione dell'esperimento. Questo significa, in primo luogo, approfondire la preparazione dell'esperimento prendendo coscienza della natura dei solventi e dei reagenti che verranno utilizzati, spesso sostanze infiammabili, corrosive, tossiche. Si deve, quindi, porre particolare cautela al loro utilizzo che deve avvenire solo in condizioni di sicurezza evitando: inalazione diretta, travasi azzardati, manipolazione non protetta (camice, guanti, occhiali), fiamme libere. Lo smaltimento di solventi e reagenti deve essere effettuato secondo le procedure indicate. Le norme di comportamento possono essere riassunte per punti considerati fondamentali e inderogabili

1. Indossare sempre **il camice e gli occhiali di protezione** e, quando necessario, i guanti.
2. **Assolutamente vietato fumare**. Non sono ammesse fiamme libere in laboratorio per nessun motivo.
3. Vietato portare e consumare bevande e cibi.
4. Si deve conoscere la collocazione e l'uso corretto dei **dispositivi di emergenza** (uscita di sicurezza, estintori, docce, lavaocchi, coperta ignifuga)
5. **Prepararsi prima** di iniziare l'esperimento. Studiare e capire le procedure sperimentali e le reazioni utilizzate nell'esperimento. Documentarsi sulle proprietà di **solventi, reagenti, intermedi e prodotti** (punto di ebollizione, corrosività, tossicità, rischio di esplosioni) per poter operare con sicurezza. Indicazioni specifiche (uso della cappa, di uno schermo protettivo, di guanti, ecc.) sono fornite nelle schede relative ai diversi esperimenti. Imparare i simboli di pericolosità riportati nei cataloghi ed elencati nell'ultima pagina di questo manuale per tutti i reagenti e prodotti delle diverse esperienze.
6. Seguire rigorosamente le istruzioni e non prendere l'iniziativa di modificare in alcun modo le procedure indicate nelle schede degli esperimenti senza prima consultare gli incaricati del corso.
7. Non versare alcun prodotto, solvente di scarto o residuo solido o liquido negli scarichi dei lavandini o nei cestini della carta straccia. Usare gli appositi contenitori approntati per la raccolta dei residui e degli scarti.
8. Gettare la vetreria di scarto (pipette, capillari e la vetreria rotta non recuperabile) e la vetreria rotta da riparare solo negli appositi contenitori di raccolta.
9. Tenere il proprio banco e tutte le aree di lavoro comuni (bilance, cappe, banchi strumenti) **sempre puliti e in ordine**.
10. Non lasciare mai contenitori con prodotti o soluzioni privi di un'etichetta con l'indicazione del contenuto e del vostro nome. Lavare la vetreria subito dopo l'uso.

Sicurezza personale

Non dimenticare di indossare gli occhiali di protezione e il camice. Si sconsiglia l'uso di lenti a contatto, e si raccomanda di indossare indumenti che consentono una adeguata protezione del corpo e dei piedi. I sandali non sono calzature adeguate. Non indossare sciarpe, cravatte e legare i capelli troppo lunghi.

Istruzioni generali per l'utilizzo di composti chimici

Esistono alcune avvertenze da segnalare per l'utilizzo di particolari classi di composti:

- sostanze infiammabili (esempi: etere etilico, acetone, esano, etanolo, metanolo)

Il livello di cautela dipende dalle caratteristiche di infiammabilità e pericolosità della sostanza. Fra i solventi riportati sopra l'etere etilico è altamente infiammabile e volatile. I vapori possono incendiarsi a contatto con una sorgente di riscaldamento o fiamma libera.

Si raccomanda di

- 1) Lasciare raffreddare sempre il pallone di reazione prima di aprirlo.
- 2) Non rovesciare solventi su piastre riscaldanti accese o mantelli riscaldanti.
- 3) Controllare la temperatura di ebollizione del solvente e non sovrariscaldare ma procedere sempre con cautela, controllando il reflusso regolare del solvente nel refrigerante dell'apparecchiatura a reflusso (vedi dopo).

- solventi organici e composti volatili (esempi: etere di petrolio, acetone, cloruro di metilene, etere etilico, cloroformio, anidride acetica)

Solventi organici quali etere etilico o cloruro dimetilene se inalati accidentalmente possono causare: irritazione delle prime vie respiratorie, intossicazione, nausea, o anche depressione del sistema nervoso centrale. Si raccomanda:

- 1) di usare sempre tali reagenti sotto cappa
- 2) lasciare chiuse le bottiglie dei solventi quando non in uso
- 3) non inalare di proposito i vapori delle miscele di reazione
- 4) non usare pipette con la bocca.

- sostanze corrosive (esempi: acido cloridrico, solforico, idrossido di sodio, anidride acetica)

Acidi e basi forti possono causare lesioni gravi se accidentalmente vengono a contatto con zone esposte della pelle, occhi, o inalati nelle prime vie respiratorie. Il loro utilizzo richiede quindi particolare cautela ed attenzione nei travasi, nelle aggiunte, in qualsiasi operazione di smaltimento (neutralizzazione, diluizione, etc). Si raccomanda di usare sempre occhiali di protezione, guanti, camice, calzature adeguate.

Smaltimento dei residui di laboratorio

In generale viene differenziato lo smaltimento di:
soluzioni acquose: preventivamente neutralizzate
solventi e composti organici clorurati
solventi o composti organici non clorurati
vetro contaminato
altro materiale solido contaminato

Istruzioni dettagliate verranno fornite agli studenti in laboratorio. Si raccomanda di non smaltire miscele di reazione o acque di lavaggio prima di avere controllato il loro contenuto (lastrine TLC, NMR, etc), la loro acidità (cartine di pH), la eventuale presenza di perossidi (cartina amido-iodurata)

Utilizzo della vetreria

Si consigliano alcune precauzioni di ordine pratico:

- evitare di appoggiare recipienti di vetro in prossimità del bordo del bancone di lavoro
- assicurare sempre il recipiente di reazione con morsetti, pinze o anelli
- controllare lo stato della vetreria prima di usarla, per escludere fessurazioni, rubinetti non funzionanti o altro
- Non cercare di forzare giunti bloccati
- Mettere la vetreria rotta nell'apposito contenitore.
- Per prevenire ferite da taglio si consiglia di usare guanti di gomma per lavare la vetreria, e di indossare comunque sempre gli occhiali di protezione
- posizionare i morsetti e le pinze correttamente ed in modo che l'assemblaggio della vetreria non risulti in tensione. (vedi procedure fondamentali)

-

Utilizzo del materiale elettrico

Tra le apparecchiature in dotazione, in questo laboratorio verranno usati frequentemente mantelli riscaldanti e/o agitatori magnetici (vedi illustrazioni sopra)

I mantelli riscaldanti sono caratterizzati da dimensioni diverse in relazione al volume del pallone che si intende riscaldare (100, 250, 500 mL) e sono collegati tramite cavo elettrico ad un regolatore di temperatura (generalmente con una scala da 0-10) che viene direttamente collegato al quadro elettrico.

- In tutte le operazioni di riscaldamento si agisce sul regolatore della temperatura con attenzione, e moderazione. Generalmente non è mai usato a fondo scala.
- non si devono versare solventi o soluzioni corrosive sui cavi elettrici
- prima di aprire il pallone di reazione, il mantello riscaldante deve essere spento, scollegato dalla rete, e possibilmente allontanato.

- prima di essere risposto, il mantello riscaldante deve essere freddo.

Gli agitatori magnetici sono forniti di una regolazione della velocità di agitazione che deve essere controllata in modo da evitare spruzzi, rottura della vetreria, etc. Si raccomanda di non appoggiare gli agitatori su di un lato perchè questo può danneggiare la posizione del magnete e la capacità di agitazione.

PROCEDURE FONDAMENTALI

IL QUADERNO DI LABORATORIO

Un aspetto importante dell'attività nel laboratorio riguarda la registrazione accurata di dati, osservazioni e risultati relativi all'esperimento svolto. Questa registrazione va eseguita nel quaderno di laboratorio, per quanto possibile durante il corso dell'esperimento, altrimenti non appena saranno state completate le analisi dei prodotti. Nel caso si iniziasse una nuova esperienza prima di aver completato le analisi di quella precedente è necessario lasciare nel quaderno una o due facciate libere per l'inserimento dei dati mancanti. Anche se molte delle esperienze di questo corso saranno svolte in gruppo, **ciascuno studente** deve avere e tenere aggiornato un **proprio quaderno di laboratorio**. Il quaderno sarà controllato periodicamente dai docenti che avranno cura di segnalare improprietà o carenze nella stesura per facilitare l'acquisizione da parte dello studente del metodo corretto per svolgere questa parte dell'attività di laboratorio. Alcune indicazioni specifiche cui attenersi:

- Scrivere sulla prima pagina: nome cognome, corso di laurea, anno di corso e numero di matricola, posizione del banco in laboratorio.
- Scrivere a penna
- Numerare tutte le pagine
- Usare le prime due facciate per l'indice e mantenerlo sempre aggiornato
- Riportare sempre la data
- Chi vuole può usare il proprio tablet o PC per tenere una versione elettronica del quaderno, ma il formato dovrà seguire le regole del quaderno cartaceo. Si declinano ogni responsabilità relative all'eventuale danneggiamento di tablet o PC dovuto al contatto con solventi o reagenti.
- Nelle relazioni di laboratorio le esperienze andranno descritte in due modi diversi (vedere esempi in Appendice): una versione del quaderno didattico, come descritta qui sotto (metodologia **A**), e una tipologia simile alla procedura sperimentale di un'articolo scientifico o di una tesi (metodologia **B**).

Le esperienze 1, 2 e 3 andranno riportate seguendo la tipologia **A** (quaderno didattico)

Le esperienze 4 e 6 andranno riportate seguendo la tipologia **B** (procedura sperimentale articolo/tesi).

L'esperienza 5 sarà il composto incognito.

Organizzazione del quaderno didattico (**Metodologia A**):

Lo scopo è quello di stendere una relazione accurata e concisa delle procedure sperimentali adottate in modo che possano essere riprodotte da chiunque ottenendo gli stessi risultati. Il quaderno di laboratorio deve essere organizzato in tre parti (vedi anche esempio riportato nell'appendice):

I. Scheda Pre-lab (parte scritta prima di accedere al laboratorio per eseguire l'esperienza)

La fase di preparazione personale all'esecuzione di ogni esperienza ha come obiettivo la comprensione sia della teoria (tipo di reazione, meccanismo, tecniche spettroscopiche), che della procedura sperimentale (stechiometria dei reagenti, sintesi, isolamento e caratterizzazione del prodotto). Questa fase di studio preliminare permetterà una esecuzione della esperienza in modo cosciente e quindi più sicuro, più rapido e più produttivo. La scheda Pre-Lab costituisce la prima sezione da compilare nel quaderno prima di ogni esperienza e deve contenere le informazioni seguenti:

data: giorno/mese/anno

Titolo: riportare un titolo descrittivo dell'esperienza

obiettivo: descrivere in una frase lo scopo della esperienza

Equazione chimica bilanciata (se possibile): scrivere la reazione e la stechiometria

Fraasi di rischio dei reagenti e solventi utilizzati

Tabella dei reagenti: riportare in tabella i dati necessari per l'esecuzione della reazione, e quindi: nomi dei reagenti iniziali, dati fisici (punto di fusione p.f. (°C), di ebollizione p.e. (°C/torr), densità (g/mL), grammi, mL, moli.

Resa teorica*: Calcolare la resa teorica del prodotto cioè la quantità di prodotto attesa sulla base della conversione quantitativa del reagente limitante (quello in difetto). Riportare i calcoli eseguiti

Meccanismo (dove possibile): scrivere uno schema di meccanismo per la reazione da eseguire mettendo in evidenza, dove appropriato, gli intermedi di reazione attesi.

Procedura: scrivere per punti le fasi della esperienza

II. Procedura sperimentale e osservazioni (scritta durante il laboratorio)

In questa fase vanno descritte tutte le operazioni effettuate in laboratorio per la realizzazione dell'esperienza. In modo conciso ma dettagliato, annotando anche: (i) stato della soluzione (omogenea, eterogenea) (ii) tempi di reazione, (ii) variazioni di colore della miscela di reazione, (iii) formazione di precipitato, (iv) colore del solido isolato, osservazioni condotte nel corso della reazione, dell'isolamento e della purificazione del

prodotto etc. In tabella bisogna riportare i grammi effettivamente pesati, volumi di solventi per la reazione e nella fase di lavaggio e di estrazione, gli eluenti usati, le tlc etc. Dopo aver spiegato la purificazione si inseriscono i dati relativi al prodotto ottenuto (o alla miscela di prodotti) come stato (cristallino, olio...), quantità ottenuta e resa %.

III. Caratterizzazioni

In questa sezione è la discussione degli spettri per la caratterizzazione del prodotto ottenuto:

- **Spettri $^1\text{H-NMR}$, GC-MS, IR registrati e discussione:** Si riportano in tabella i segnali ottenuti. Allegare eventuali spettri (in originale o fotocopia) con una breve interpretazione. per NMR riportare chemical shift, molteplicità, costante di accoppiamento (J in Hz), integrale e quando possibile assegnazione del segnale. Per IR numero d'onda, intensità, tipo e legame. Per GC-MS riportare tempo di ritenzione e masse osservate.
- **discussione dei risultati ottenuti:** della resa ottenuta, della selettività della reazione, etc.

*Calcolo della resa teorica

Per definizione è l'ammontare di prodotto derivante dalla conversione quantitativa del reagente iniziale. Dipende dalla stechiometria della reazione e non tiene conto di eventuali reazioni secondarie che decorrono parallelamente alla reazione principale sottraendo reagente, nè di perdite dovute a procedure di lavorazione ed estrazione del prodotto.

Per calcolare la resa teorica è necessario disporre di una equazione bilanciata. In secondo luogo bisogna identificare i reagenti in eccesso e quindi il reagente in difetto (reagente limitante), cioè quello che determina la resa in prodotto. La resa teorica si calcola quindi determinando le moli iniziali del reagente limite e calcolando, in base alla stechiometria della reazione, le moli attese di prodotto. Da queste, moltiplicate per il PM del prodotto, si determina la resa teorica in grammi.

La fase finale dell'esperienza richiede che dopo aver isolato il prodotto e determinato il peso ottenuto sperimentalmente, si determini la resa ottenuta confrontandola con quella teorica e calcolando la **resa percentuale**: $(\text{grammi ottenuti} / \text{grammi teorici}) \times 100$

Organizzazione Procedura Sperimentale (**Metodologia B**):

I. Scheda Pre-lab (parte scritta prima di accedere al laboratorio per eseguire l'esperienza)

Titolo: riportare un titolo descrittivo dell'esperienza

Equazione chimica bilanciata (se possibile): scrivere la reazione e la stechiometria

Frasi di rischio dei reagenti e solventi utilizzati

Tabella dei reagenti: riportare in tabella i dati necessari per l'esecuzione della reazione, e quindi: nomi dei reagenti iniziali, quantità usata, peso molecolare, quantità in mmol, equivalenti ed eventualmente densità (non dei solventi).

II. Procedura sperimentale e osservazioni

In questa sezione bisogna riportare la procedura sperimentale come si farebbe in un articolo scientifico o in una tesi sperimentale; non si riportano dettagli non utili (ho pesato con la bilancia, ho misurato col cilindro, etc); quando si aggiunge o si scioglie un reagente si dice tra parentesi la quantità (in g o ml), le mmol e gli equivalenti. Si riportano gli eluenti usati per tlc e purificazione e infine lo stato, la quantità e la resa del prodotto finale ottenuto.

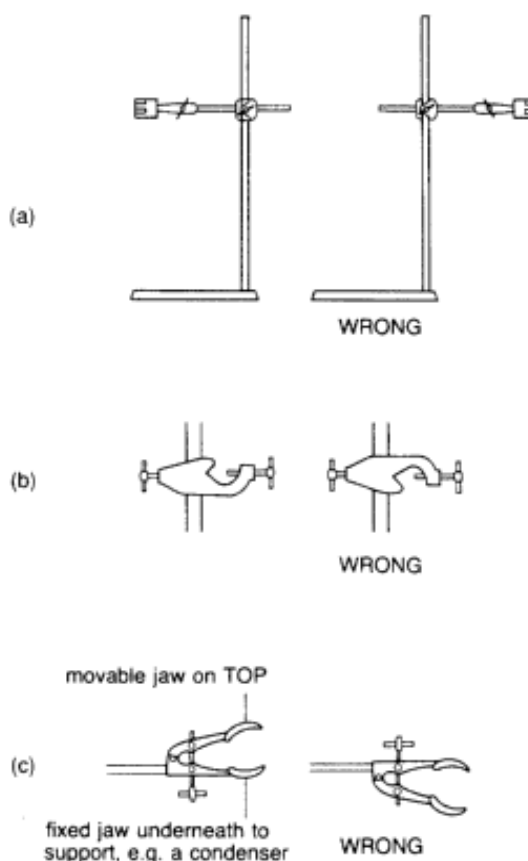
III. Caratterizzazioni

Subito sotto la Procedura sperimentale, si riportano **in forma condensata** i segnali NMR, IR e MS ottenuti.

Solo successivamente si allegano gli spettri e immagini delle tlc.

APPARECCHIATURE E TECNICHE

In questa sezione vengono illustrate alcune fra le apparecchiature di uso più comune. Ricordarsi, prima di aggiungere i reagenti, di controllare sempre l'apparecchiatura (buona rotazione degli agitatori, assemblaggio privo di tensioni, uso delle pinze nei punti corretti, uso di elevatori per consentire di intervenire rapidamente per interrompere il riscaldamento o raffreddare con un bagno a ghiaccio, ecc.). Il posizionamento corretto di pinze e morsetti è mostrato di seguito



RISCALDAMENTO A RIFLUSSO

Nella gran maggioranza dei casi le reazioni sono condotte **in sistemi aperti all'atmosfera**, spesso con la protezione di un tubo a calcio cloruro. Verificare sempre che il tubo non sia bloccato (ovvero che sia permesso il passaggio di aria). Il riscaldamento del sistema si effettua con tecnica di riflusso, detto anche ricadere.

Con questa tecnica la miscela di reazione viene riscaldata alla temperatura di ebollizione del solvente, e i vapori del solvente vengono abbattuti con un refrigerante a bolle o a serpentina in modo efficace. Il sistema può essere mantenuto all'aria o in atmosfera inerte sotto flusso di gas inerte (azoto o argon) come mostrato nello schema di apparecchiatura illustrato di seguito.

Il riscaldamento può essere effettuato con un bagno ad olio o con un mantello riscaldante, regolato per mantenere un riflusso regolare del solvente nel recipiente di reazione.

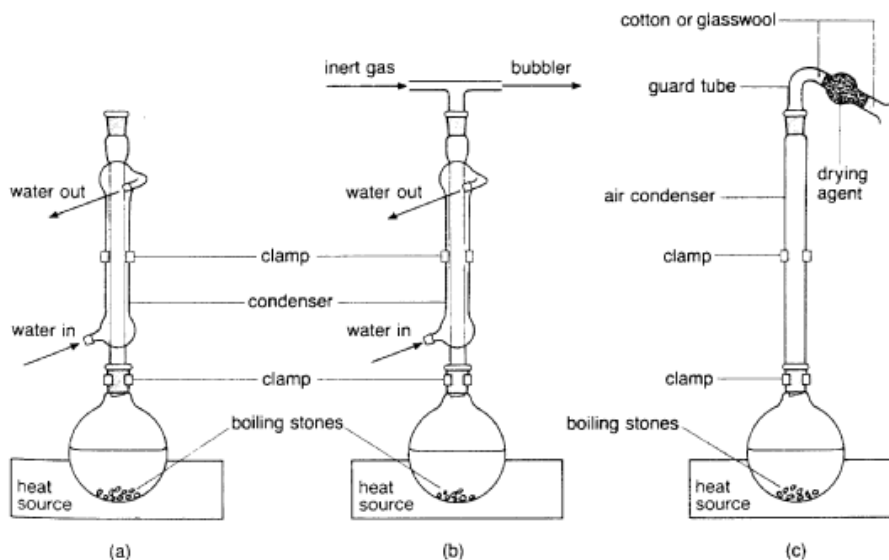
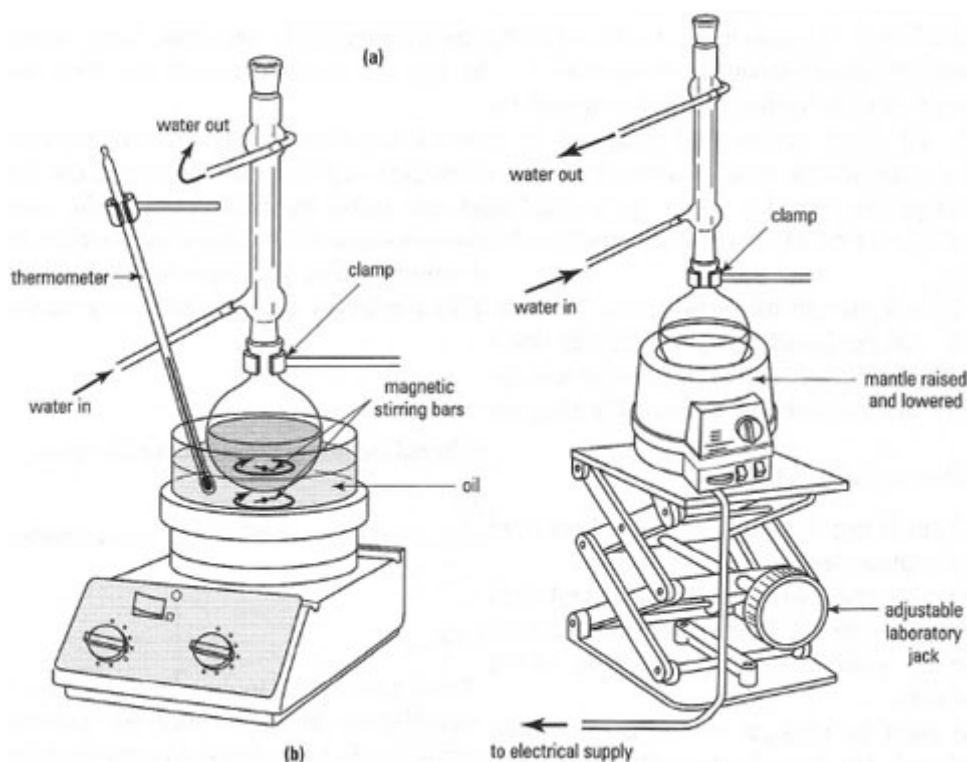


Figure 3.20. Heating a reaction mixture under reflux: (a) with a normal water condenser; (b) under an inert atmosphere; (c) with an air condenser and drying tube.



Si raccomanda:

- utilizzare un elevatore sul quale posizionare il sistema di riscaldamento in modo da rimuoverlo agevolmente
- controllare l'ingresso dell'acqua di raffreddamento nel refrigerante: sempre dal basso verso l'alto
- ingrassare con silicone il giunto tra il pallone e il refrigerante
- lasciare raffreddare il pallone prima di rimuovere il refrigerante.

CRISTALLIZZAZIONE

Il prodotto di reazione, dopo essere stato isolato, viene purificato mediante tre tecniche principali: cristallizzazione, distillazione o cromatografia. Nel corso di laboratorio, verrà utilizzata la tecnica di cristallizzazione.

la **cristallizzazione** sfrutta l'ottenimento di una soluzione sovrasatura del prodotto, in due modi:

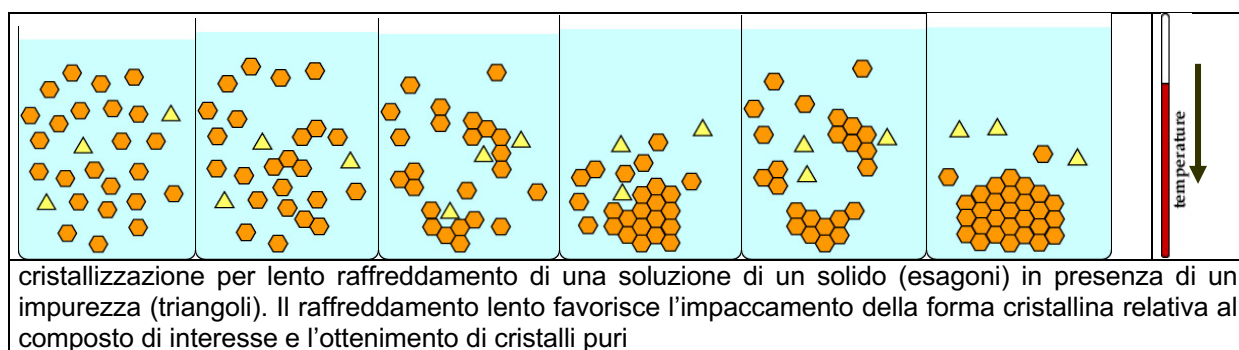
- per lento raffreddamento (a temperatura ambiente o inferiore) di una soluzione satura al punto di ebollizione e filtrata a caldo. Questa procedura viene indicata come **tecnica caldo-freddo**.

- per aggiunta di un co-solvente, in cui il prodotto non è solubile, ad una soluzione satura a temperatura ambiente; l'aggiunta prosegue fino al momento in cui scompare l'intorbidimento della soluzione o della miscela (Nota: non sempre si separano due fasi). Coppie di solventi spesso usate sono: etere/etere di petrolio(o *n*-esano); cloroformio/etere di petrolio(o *n*-esano); cloruro di metilene/etere di petrolio(*n*-esano); acetone/etere; acetone/acqua; etanolo/acqua; metanolo/acqua.

Procedura per la cristallizzazione con tecnica caldo-freddo:

In generale si opera sciogliendo il composto nella minima quantità di un opportuno solvente e si scalda all'ebollizione con l'apparecchiatura a riflusso e sotto agitazione magnetica per favorire la dissoluzione del solido a caldo. Se rimane del solido indissolto si filtra la soluzione a caldo con filtro a pieghe. Una volta ottenuta una soluzione omogenea si rimuove l'ancoretta magnetica e si lascia raffreddare lentamente. I cristalli ottenuti vengono filtrati sotto vuoto su filtro buchner o gootch.

Spesso se la cristallizzazione non inizia spontaneamente, può essere indotta con l'aggiunta di qualche cristallino del prodotto, se disponibile, oppure grattando la parete interna del recipiente in corrispondenza alla superficie della soluzione con una bacchetta di vetro oppure raffreddando la soluzione a -70°C e riportandola a temperatura ambiente sempre grattando la parete interna del recipiente. La temperatura della soluzione sovrasatura dovrebbe essere di almeno 30°C inferiore al punto di fusione del prodotto da ricristallizzare. Se questa condizione non si verifica spesso il prodotto separa come un olio anziché formare un precipitato cristallino.



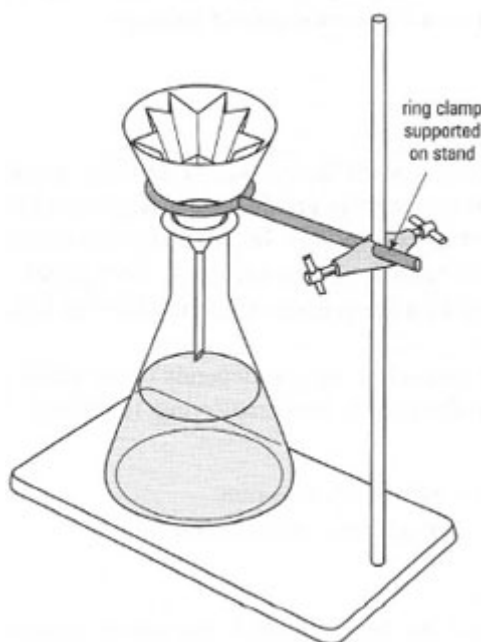
FILTRAZIONE

La filtrazione è una tecnica usata per la separazione di un solido da una soluzione. Si utilizza la filtrazione a gravità su filtro a pieghe o la filtrazione sotto vuoto con filtri buchner o gootch.

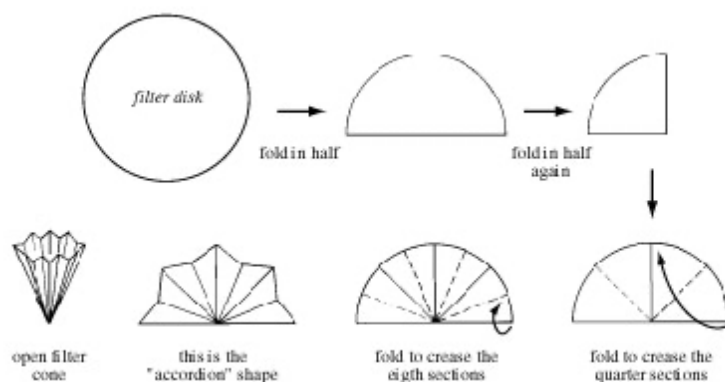
Filtrazione a gravità

generalmente usata per filtrare impurezze solide o agente anidrificante da una soluzione organica. l'impurezza rimane sul filtro e viene smaltita. Per eseguire la filtrazione è necessario disporre di una beuta normale, un imbuto di vetro e un filtro preparato con carta da filtro come descritto di seguito e mostrato nelle immagini:

1. scegliere la dimensione del filtro in modo che piegato risulti di pochi millimetri al di sotto del bordo dell'imbuto
2. piegare la carta, come mostrato nelle immagini
3. inserire il filtro nell'imbuto supportato da un anello
4. bagnare il filtro con un po' di solvente e procedere alla filtrazione percolando la soluzione lungo una bacchetta di vetro diretta al centro del filtro



Per filtrare solventi organici, è preferibile piegare la carta da filtro a pieghe come mostrato nello schema di seguito. Questo rende la filtrazione più veloce.

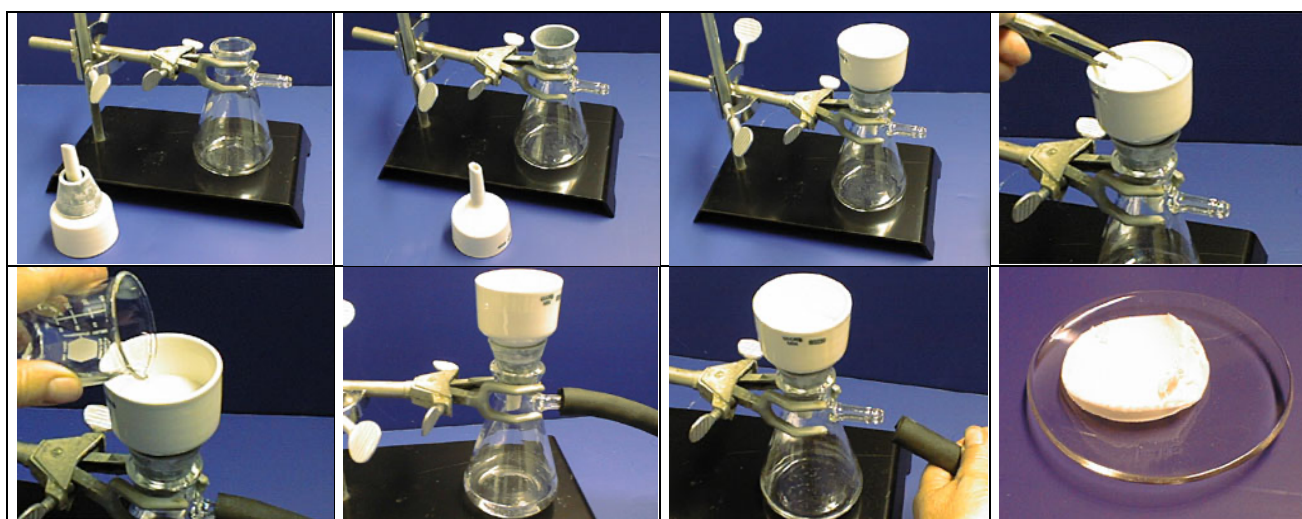


Filtrazione sotto vuoto

usata preferenzialmente per raccogliere il solido di interesse, per esempio i cristalli ottenuti dopo una ricristallizzazione caldo-freddo. Si utilizza un filtro (buchner o gootch) collegato ad una beuta da vuoto. La filtrazione risulta rapida perchè il passaggio della soluzione attraverso la carta da filtro è indotto dalla pressione ridotta creata all'interno della beuta da vuoto. Per questa tecnica è richiesto:

- un filtro buchner con un filtro di carta circolare di grandezza tale da non toccare le pareti del filtro ma da coprire i buchi della superficie
- una beuta da vuoto assicurata da pinza e morsetto
- un cono di gomma da usare come riduttore per il filtro
- una pompa ad acqua o analoga sorgente di vuoto ed un tubo da vuoto

La filtrazione si conduce come mostrato nella serie di illustrazioni. Dopo aver assemblato il sistema, si bagna il filtro di carta con poco solvente, si applica il vuoto e si continua la filtrazione. Alla fine dei lavaggi appropriati, si lascia il solido sul filtro sotto vuoto ed eventualmente si copre il filtro con un tappo di gomma per rimuovere completamente il solvente. Per recuperare il filtro di carta con il solido, si toglie la connessione della beuta con il vuoto e si appoggia il filtro su un vetrino di orologio.



ESTRAZIONE CON IMBUTO SEPARATORE

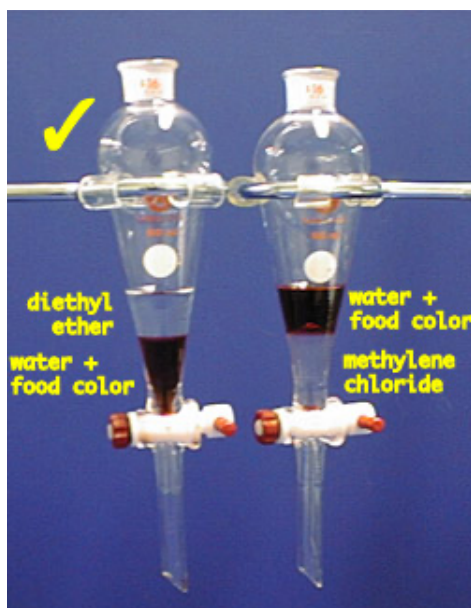
L'estrazione con imbuto separatore è una tecnica utilizzata per separare composti caratterizzati da una diversa solubilità in due solventi non miscibili. Tali solventi formano quindi due fasi, che si separano in base alla diversa densità formando una fase superiore e una fase inferiore. Generalmente uno dei due solventi è acqua mentre l'altro è un solvente organico non miscibile con l'acqua (acetato di etile, etere etilico, cloruro di metilene). La fase organica estrae il composto organico, mentre nella fase acquosa restano disciolti sali, solventi miscibili con acqua, altre impurezze idrosolubili. L'imbuto separatore è utilizzato per miscelare i due solventi e visualizzare le due fasi che si formano. Per esempio se consideriamo i due sistemi di estrazione (1) etere dietilico-acqua e (2) acqua-cloruro di metilene, la posizione della fase organica relativamente alla fase acquosa è opposta e dipende dalla diversa densità dei due solventi, ovvero:

Etere dietilico ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$) $d = 0.71 \text{ g/mL}$

Cloruro di metilene (CH_2Cl_2) $d = 1.33 \text{ g/mL}$

Acqua $d=1.00 \text{ g/mL}$

Questo fenomeno è mostrato nelle immagini seguenti in cui la presenza di un colorante rosso permette l'immediata visualizzazione della fase acquosa. In particolare, la soluzione acquosa nel sistema (1) etere dietilico-acqua, è la fase inferiore, mentre nel sistema (2) acqua-cloruro di metilene, è la fase superiore.



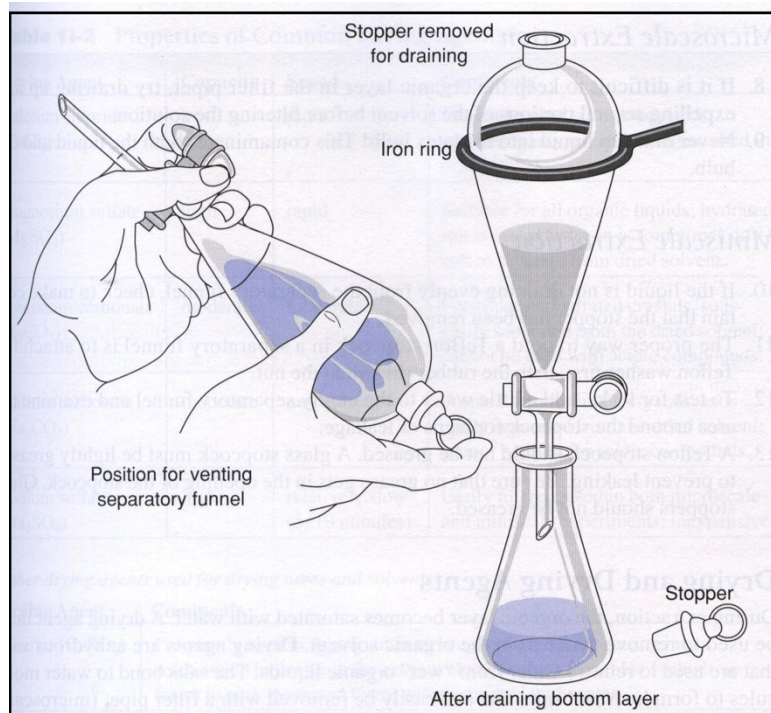
Procedura per l'estrazione con imbuto separatore

- 1) assemblare l'imbuto ed il rubinetto come mostrato nelle immagini, preparare un tappo di plastica di dimensioni adeguate, e un anello di sostegno fissato con un morsetto.
Controllate la tenuta del rubinetto prima di procedere all'estrazione
- 2) caricare l'imbuto con la soluzione da estrarre e introdurre in sequenza la fase di lavaggio
- 3) verificare la separazione delle fasi ed individuare la fase organica contenente il prodotto
- 4) miscelare le due fasi in modo energico e sfiatare l'imbuto spesso

5) raccogliere la fase inferiore dal rubinetto e travasare la fase superiore dal cono dell'imbuto separatore. Ripetere la procedura fino alla fine dell'estrazione.



assemblare i pezzi del rubinetto con la guarnizione nera prima del dado rosso



ANIDRIFICAZIONE

Il processo di sintesi e isolamento del prodotto organico spesso richiede il trattamento della miscela di reazione con una fase acquosa. Le tracce di acqua che rimangono nella soluzione organica o nel solido recuperato devono essere eliminate nella fase finale dell'isolamento del prodotto. Questo processo viene chiamato anidificazione e può essere realizzato generalmente in due modi:

- Estrazione con una soluzione satura di sodio cloruro (BRINE)
- Utilizzo di agenti anidrificanti solidi

Lavaggio con SALAMOIA (BRINE)

Si tratta di estrarre in imbuto separatore la miscela di reazione con una soluzione satura di cloruro di sodio in acqua. L'acqua presente nella fase organica viene estratta dalla soluzione salina ad elevata concentrazione, che in questo modo si diluisce. La procedura da usare è quindi quella di una classica estrazione in imbuto separatore descritta nel capitolo precedente. La densità della soluzione acquosa di NaCl satura è 1.2 g/mL.

Agenti anidrificanti solidi

Per rimuovere tracce di acqua dalla soluzione organica, generalmente vengono usati sali inorganici anidri, che idratandosi velocemente sottraggono l'acqua in eccesso, secondo la reazione mostrata di seguito nel caso del solfato di sodio:

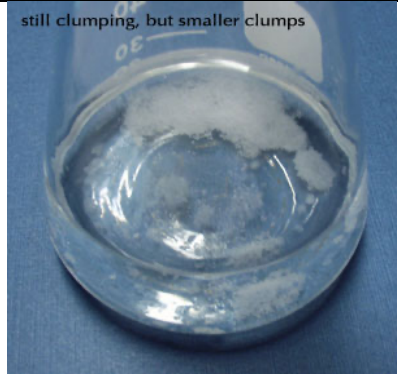


I sali inorganici più comunemente usati per questo scopo sono elencati in tabella.

Agente anidrificante	capacità	velocità	applicazioni
Cloruro di calcio, CaCl_2	Alta (esaidrato)	media	Usato preferenzialmente per idrocarburi.
Solfato di calcio, CaSO_4 (Drierite)	Bassa (emiidrato)	veloce	Di uso generale. Con indicatore blu per forma anidra e rosa per forma idrata. Usato in tubi essiccanti
Solfato di magnesio, MgSO_4	Alta (<di Na_2SO_4)	veloce	Proprietà acide, quindi non usato per composti sensibili all'acidità
Carbonato di potassio K_2CO_3	Media	media	Proprietà basiche e quindi usato per basi organiche o composti sensibili all'acido
Solfato di sodio, Na_2SO_4	Alta (decaidrato)	bassa	Neutro. Usato per quantità di H_2O elevate

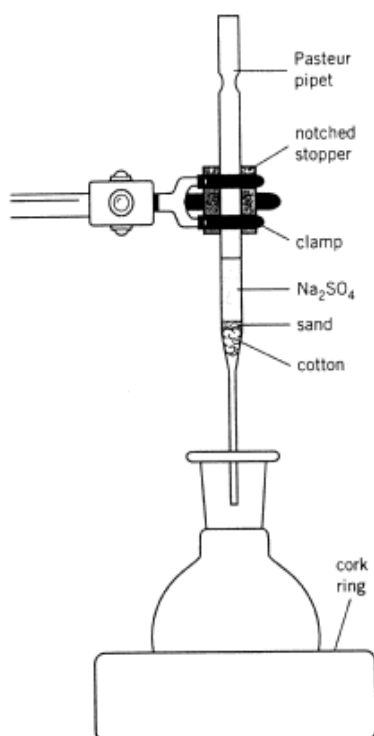
Procedura

L'agente anidrificante viene normalmente aggiunto alla soluzione organica posta in una beuta di grandezza adeguata per permettere una buona agitazione della soluzione. Il sale inorganico viene aggiunto in porzioni, fino ad ottenere una dispersione del sale nella soluzione e non solamente cristalli aggregati nel fondo della beuta. Questa condizione è illustrata nelle immagini seguenti.

 drying agent clumping	 still clumping, but smaller clumps	 this looks good, lots of free-floating crystals
L'anidrificante aggiunto all'inizio sequestra l'H₂O in eccesso e si deposita nel fondo della beuta formando blocchi aggregati.	Ulteriori aggiunte portano sempre alla formazione di grumi sul fondo e sulle pareti della beuta	La condizione ottimale si realizza quando l'anidrificante aggiunto rimane pulverulento e galleggia nella soluzione

Il tempo di anidificazione del solvente dipende dalla quantità di H₂O presente e dalla quantità di anidrificante aggiunto. In generale si lascia a riposo la beuta di anidificazione per un tempo >20 min. per rimuovere l'agente anidrificante dalla soluzione organica si filtra per gravità utilizzando un filtro a pieghe e si lava con poco solvente il sale anidrificante sul filtro.

Microanidificazione in pipetta

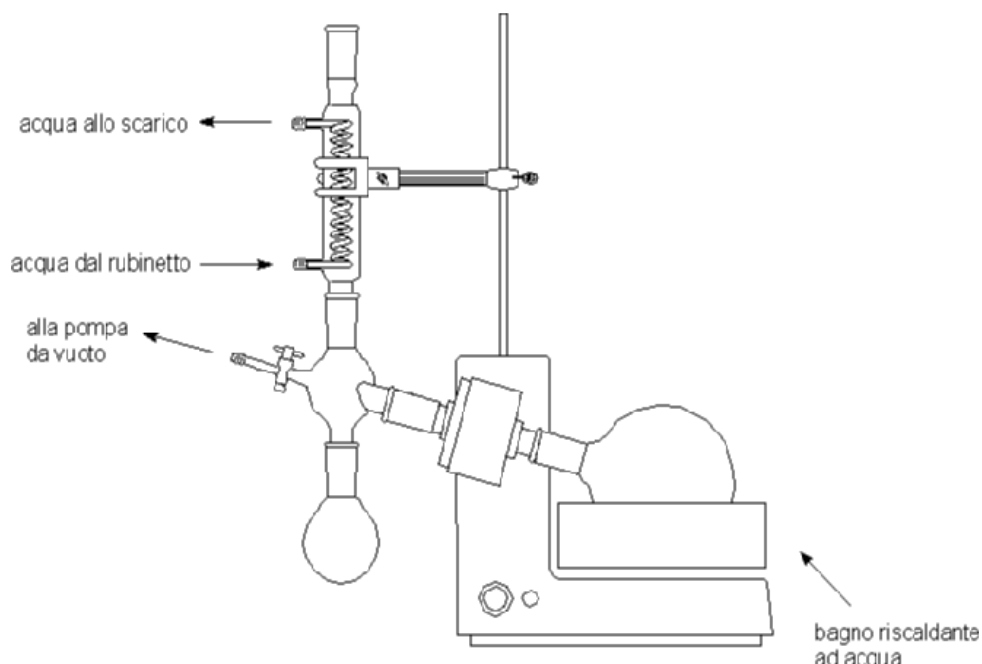


Per anidrificare volumi piccoli di soluzione organica (per esempio per la preparazione di un tubo NMR) è possibile preparare una pipetta pasteur, caricata con agente anidrificante ed opportunamente chiusa all'estremità inferiore da un "tappo" di cotone. Il sistema è mostrato in figura. La soluzione da anidrificare viene fatta percolare nella micro-colonna direttamente nel recipiente desiderato, per esempio un tubo NMR.

Alternativamente una piccola quantità di soluzione da anidrificare (circa 0.5 mL) viene posta in una provetta da saggio e trattata con agente anidrificante (una punta di spatola). Dopo 5 minuti la miscela viene filtrata su una pipetta pasteur chiusa all'estremità da cotone direttamente nel tubo NMR.

UTILIZZO DELL'EVAPORATORE ROTANTE

L'evaporatore rotante viene utilizzato per concentrare una soluzione o per rimuovere completamente un solvente volatile-basso bollente. Nello schema di strumentazione mostrato di seguito sono evidenziate le parti essenziali della strumentazione. L'apparecchiatura funziona a pressione ridotta ed è dotata di un motore che permette la rotazione del pallone (per avere una ebollizione controllata) e di un bagno ad acqua riscaldante.



Procedura

- 1) riempire il pallone al massimo fino a metà volume
- 2) assicurare il pallone al riduttore dell'evaporatore con una pinza di plastica (rossa o gialla)
- 3) aprire il rubinetto dell'acqua di raffreddamento ad un flusso moderato
- 4) accendere l'evaporatore e il bagno e cominciare la rotazione del pallone
- 5) accendere la pompa da vuoto e chiudere il rubinetto del vuoto sull'evaporatore
- 6) immergere il pallone nel bagno riscaldante

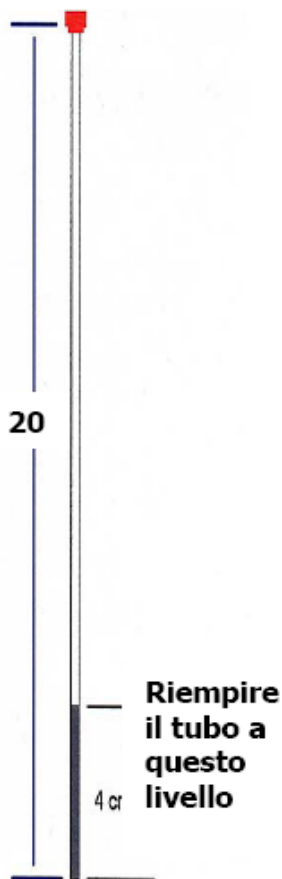
Per rimuovere il pallone dall'evaporatore rotante

- 1) sollevare il pallone dal bagno
- 2) fermare la rotazione
- 3) spegnere la pompa
- 4) aprire il vuoto sull'evaporatore (sfiatare il pallone)
- 5) rimuovere il pallone
- 6) chiudere l'acqua e spegnere l'evaporatore

PREPARAZIONE DI UN TUBO NMR

La preparazione del campione e del tubo NMR è fondamentale per ottenere spettri interpretabili e derivare le informazioni necessarie alla attribuzione dei segnali e alla identificazione della struttura molecolare.

A questo scopo devono essere osservate alcune istruzioni generali:



1) usare tubi puliti ed asciutti (tracce di acetone o H_2O vengono rilevate nello spettro NMR)

2) Se possibile, la quantità di campione non deve essere <10 mg. E' preferibile preparare campioni concentrati, 20-30 mg di campione in 0.5-0.75 mL di solvente deuterato.

3) usare solo solventi deuterati. In laboratorio verrà usato principalmente il cloroformio deuterato (CDCl_3)

4) Il livello del solvente deuterato nel tubo NMR deve arrivare a 3-5 cm di altezza come mostrato in figura

5) La soluzione deve risultare omogenea, senza particelle di solido sospese, fasi acquose separate o altro. Nei due casi citati sopra, è necessario filtrare la soluzione o anidrificare il campione (vedi procedura di microanidificazione)

6) il riferimento TMS sarà già contenuto nella bottiglia di solvente deuterato.

7) fare attenzione a non inquinare la bottiglia di solvente deuterato

8) etichettare il tubo NMR con una striscia di carta forata (non usare adesivi, non scrivere in pennarello sul tubo) dove indicare: nome e cognome, sigla (iniziali-numero esperienza-pagina del quaderno, tipo di analisi), disegno struttura prodotto atteso. Per esempio: Giulio Natta (GN_esp1_4_1H-NMR), dietilfumarato.

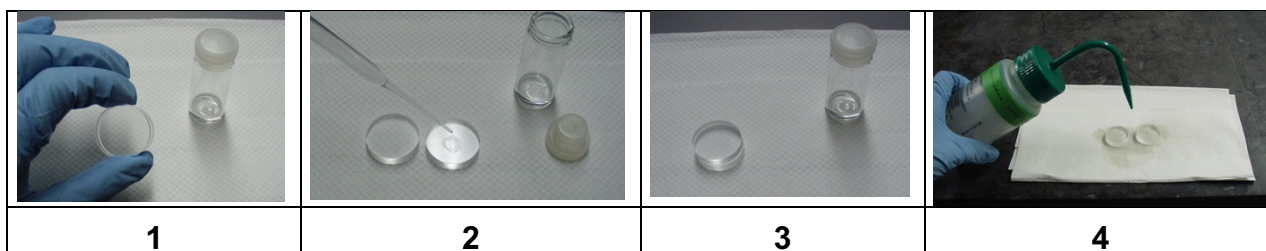
9) trasportare il tubo mettendolo in un beaker o in una beuta.

I tubi NMR sono riutilizzabili e per questo devono essere lavati accuratamente per non contaminare il campione successivo con residui del campione precedente e tracce di solvente di lavaggio. Il tubo deve essere quindi svuotato nel recipiente adibito allo smaltimento di solventi clorurati e quindi lavato almeno 3 volte con acetone e ancora lavato nella apparecchiatura di lavaggio per tubi NMR sistemata sotto cappa. Il tubo viene asciugato con un flusso di aria applicato attraverso un capillare in plastica ed eventualmente messo in stufa a $50\text{ }^\circ\text{C}$ per almeno 1 ora.

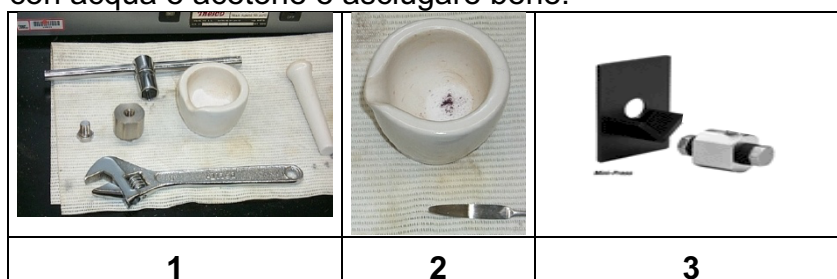
PREPARAZIONE DI UN CAMPIONE PER ANALISI IR

La preparazione del campione per l'analisi IR dipende dallo stato fisico del campione:
per campioni liquidi

- si utilizzando due dischi di NaCl
- I dischi vanno presi solo dal bordo cercando di non toccare direttamente la superficie (immagine 1) Pulire la superficie dei dischi con alcune gocce di cloruro di metilene o etanolo e un fazzolettino di carta morbida, con attenzione cercando di non graffiarla.
- non usare mai acqua per pulire i dischi di NaCl
- appoggiare i dischi su un fazzolettino di carta morbida sotto cappa e applicare sulla superficie di uno dei due dischi 1 o 2 gocce del liquido (anidro) (immagine 2).
- coprire il disco caricato con il liquido con l'altro disco in modo che il campione si distribuisca su tutta la superficie (immagine 3).
- quindi posizionare la coppia dei dischi nel contenitore apposito e fermare le viti di tenuta (almeno due e opposte) in modo da fissare il sistema ma senza troppa forza per non danneggiare i dischi.
- posizionare la cella così realizzata nello spettrofotometro e registrare lo spettro.
- alla fine pulire i dischi come descritto sopra (immagine 4).

**campione solido**

- è necessario avere a disposizione: 1 mortaio, 1 pestello, KBr in polvere anidro, 1 pastigliatore (immagine 1)
- pesare 50-100 mg di KBr e 1 o 2 mg di campione e metterli nel mortaio. Trattare la miscela solida con un pestello fino a renderla omogenea. (immagine 2)
- trasferire la miscela nel pastigliatore e stringere la vite, quindi trasferire il pastigliatore nella pressa (immagine 3)
- la pastiglia deve essere rimossa con attenzione dal pastigliatore per non romperla e non deve essere opaca per registrare uno spettro interpretabile.
- lavare tutto con acqua e acetone e asciugare bene.



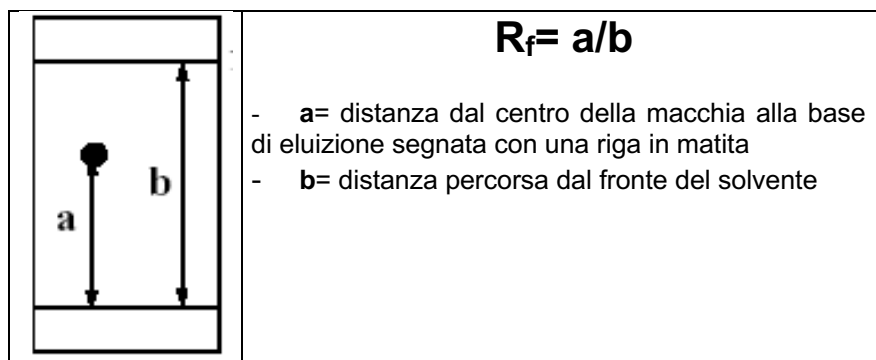
PREPARAZIONE DI UN CAMPIONE per TLC e GC-MS

Tecniche cromatografiche vengono generalmente utilizzate sia per applicazioni analitiche per: (i) seguire il decorso della reazione, (ii) determinare l'identità e la purezza del prodotto che preparative per: separare miscele di componenti. (iii) trovare l'eluente migliore per purificare una miscela tramite cromatografia. In laboratorio verranno utilizzate per scopi analitici due tecniche principali: la cromatografia su strato sottile (TLC, thin layer chromatography) e la gas cromatografia (GC) abbinata alla massa (GC-MS). La prima è adatta a composti solidi o liquidi con punto di ebollizione relativamente elevato; la gas cromatografia, al contrario, è particolarmente indicata per composti volatili. La cromatografia su strato sottile (TLC) è il metodo più comunemente usato per a) saggiare la purezza di un composto; b) identificare un prodotto noto in una miscela; c) seguire e verificare l'andamento di una reazione chimica. Verranno utilizzate lastre di gel di silice contenenti un indicatore fluorescente che permette la visualizzazione degli eluiti per esposizione della lastra sviluppata alla luce UV. Alternativamente gli eluiti possono essere rivelati trattando la lastra con un opportuno reattivo (iodio, 2,4-dinitrofenilidrazina, KMnO_4 , acido fosfomolibdico).

Procedura:

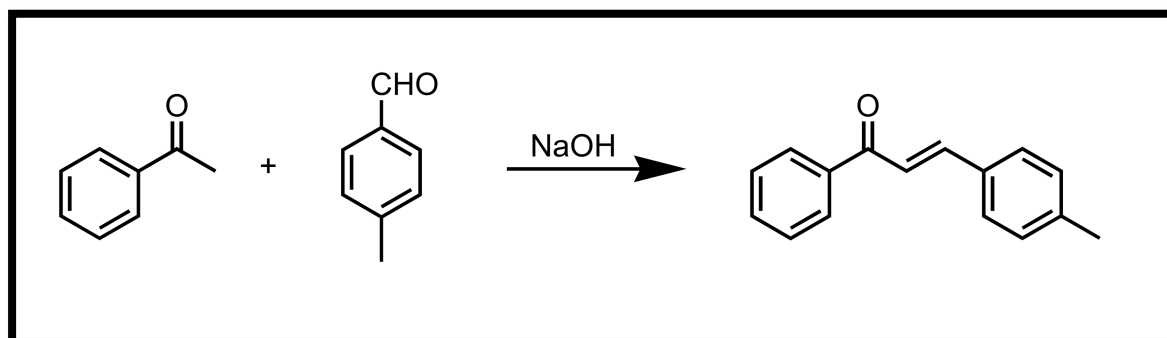
- in una provetta da saggio contenente circa 0.5 mL di eluente (o solvente volatile quale cloroformio o cloruro di metilene) introdurre 2 gocce di miscela di reazione, oppure 1 goccia, introdotta con un capillare, di composto liquido, oppure qualche cristallo di solido preparare nello stesso modo i campioni contenenti i reagenti di riferimento
- sulla lastra di silice a circa 1-2 cm dal bordo si segna in matita una riga e alcuni punti con sigle di riconoscimento. In corrispondenza di questi punti si caricano le soluzioni di riferimento e quella relativa alla miscela da analizzare.
- la lastra viene posta nella camera di eluizione contenente l'eluente (10 mL). È necessario provare alcuni eluenti diversi (solventi puri o più comunemente miscele di solventi di diversa polarità, per es. etere di petrolio/etere etilico, in diverse proporzioni) per poi scegliere l'eluente ottimale per la separazione dei componenti la miscela di reazione.
- Per capillarità il solvente sale sulla lastra eluendo il composto organico. La diversa interazione del composto organico con il solvente e con la fase stazionaria (silice) determinerà una diversa velocità di eluizione e una diversa posizione della macchia relativa al composto sulla lastra di silice, determinata misurando il valore di R_f che per una definita miscela di eluente, è specifico per ogni sostanza organica (R_f = distanza percorsa dall'eluuto/distanza percorsa dal fronte dell'eluente).
- Quando il fronte del solvente ha raggiunto $\frac{3}{4}$ della lastra, la TLC può essere tolta dalla camera, il fronte del solvente viene segnato con una riga a matita e la TLC viene asciugata.

- le macchie sono generalmente visualizzate sotto la lampada UV (ricordarsi di indossare gli occhiali di protezione) e segnate in matita. Sul quaderno di laboratorio devono essere riportate le condizioni di eluizione (composizione della miscela di eluenti in percentuale) e il valore di R_f dei vari componenti presenti nella miscela di reazione analizzata.



I campioni risultati adatti alla analisi TLC e quindi non troppo concentrati possono essere utilizzati per l'analisi GC-MS. Vedi istruzioni nell'appendice.

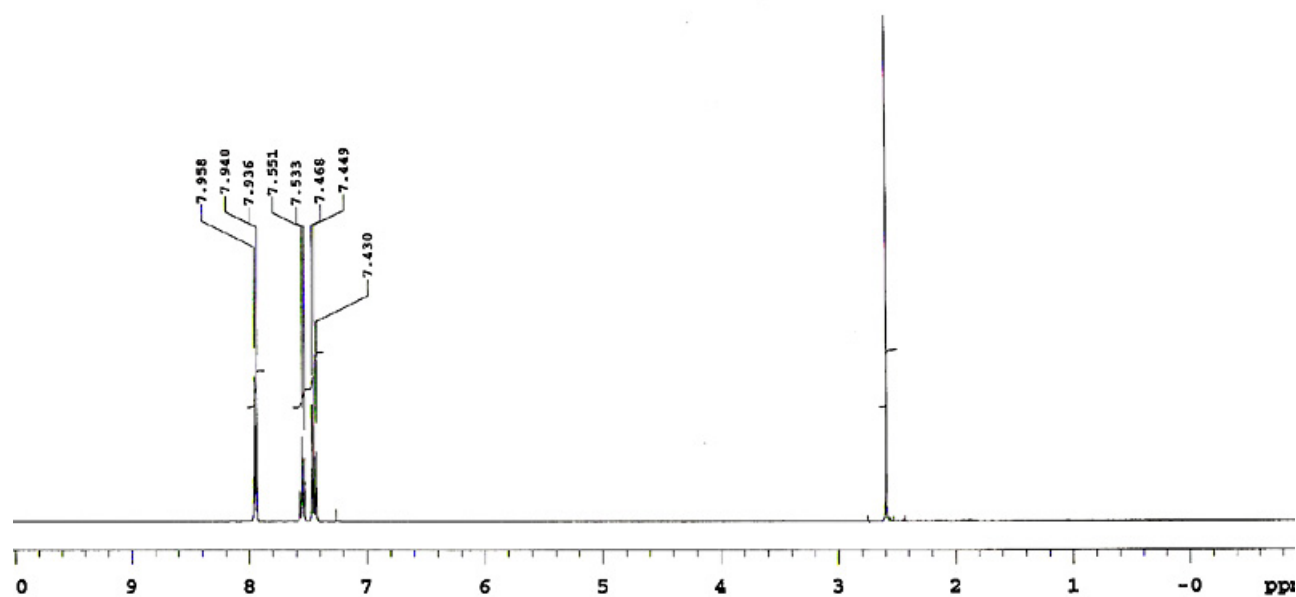
ESPERIENZE

ESPERIENZA N° 1: CONDENSAZIONE ALDOLICA INCROCIATA. SINTESI DI CALCONE IN ASSENZA DI SOLVENTE

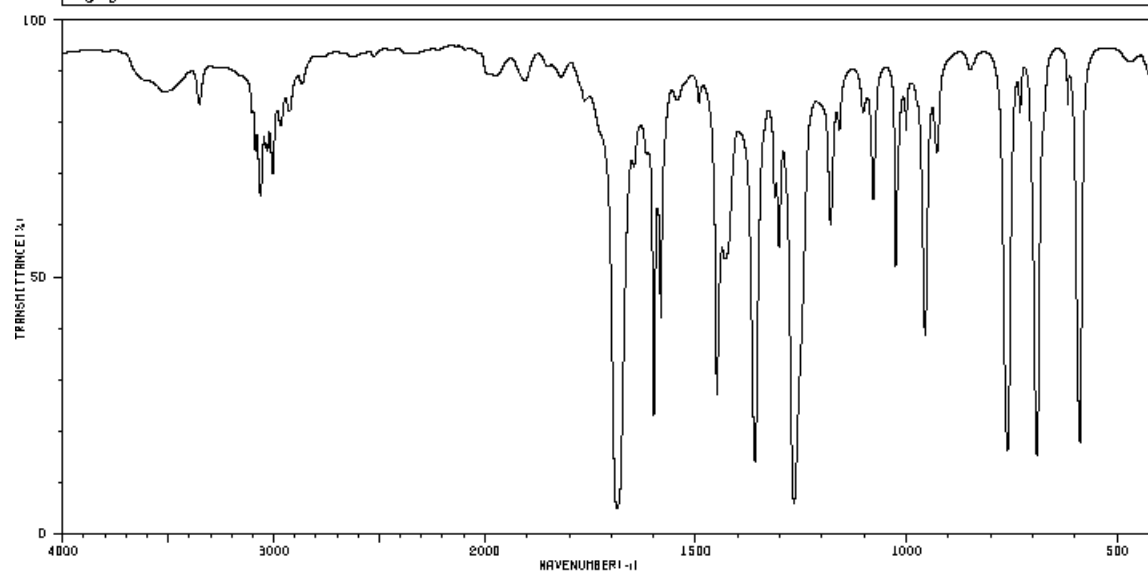
MATERIALE	REAGENTI
Mortaiolo Pestello 2 x Pipetta graduata Spatola Buchner Beuta da vuoto Pallone 100 mL B29 Refrigerante a bolle B29 Isomantello Lastrine TLC e camera di eluzione	Acetofenone 4-metilbenzaldeide NaOH Acqua Etanolo

PROCEDURA

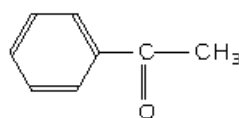
- * Sotto cappa in un mortaio, macinare circa 1 g di NaOH fino ad ottenere una polvere fine. In un mortaio pulito e secco introdurre 2 g (16.7 mmol) di acetofenone e aggiungere l'NaOH macinato. Notare il cambiamento di colore. Utilizzando il pestello, omogeneizzare la miscela per circa 1 min. Aggiungere 4-metilbenzaldeide 2g (16.7 mmol) e con aiuto di un pestello macinare la miscela per 15 min o fino ad osservare la formazione di un solido giallino che si stacca dalle pareti del mortaio. Durante la procedura usare una spatola per staccare dalle pareti il solido formato.
- * Trasferire il solido su filtro buchner, lavare con acqua (controllare il pH dell'acqua di lavaggio con cartina tornasole) e quindi con poco Etanolo a freddo.
- * Mettere da parte una piccola quantità di solido ed eseguire l'analisi TLC (n-esano/Acetato di etile 9:1), eventualmente NMR ed IR.
- * Tramite TLC selezionare l'eluente migliore per la purificazione cromatografica. Dopo averlo concordato con il docente, effettuare la purificazione tramite colonna cromatografica, analizzare le frazioni tramite TLC ed evaporare quelle contenenti il prodotto desiderato.
- * Pesare il solido e determinare la resa e caratterizzare il prodotto tramite NMR, IR e GC-MS.

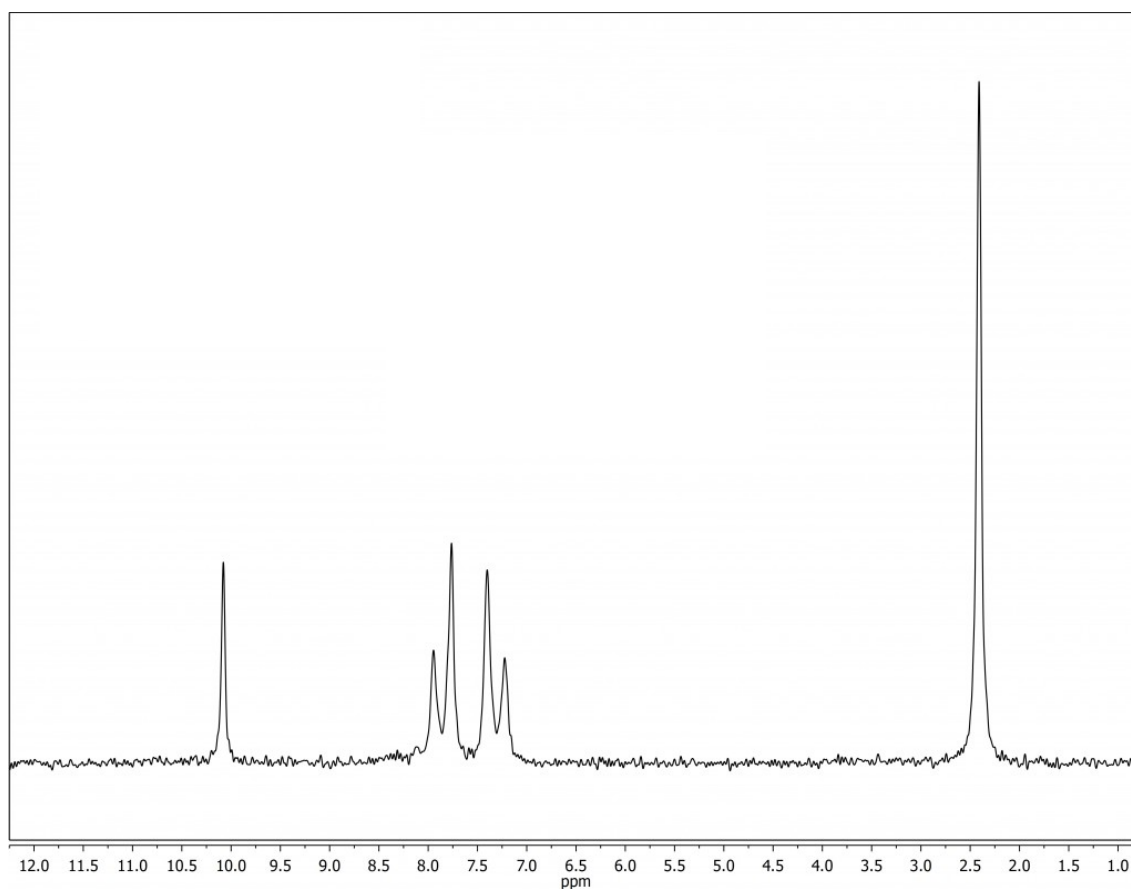
^1H NMR e IR del acetofenone

HIT-NO=1153	SCORE= ()	SBS-NO=722	IR-NIDA-05227 : LIQUID FILM
ACETOPHENONE			
$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$			

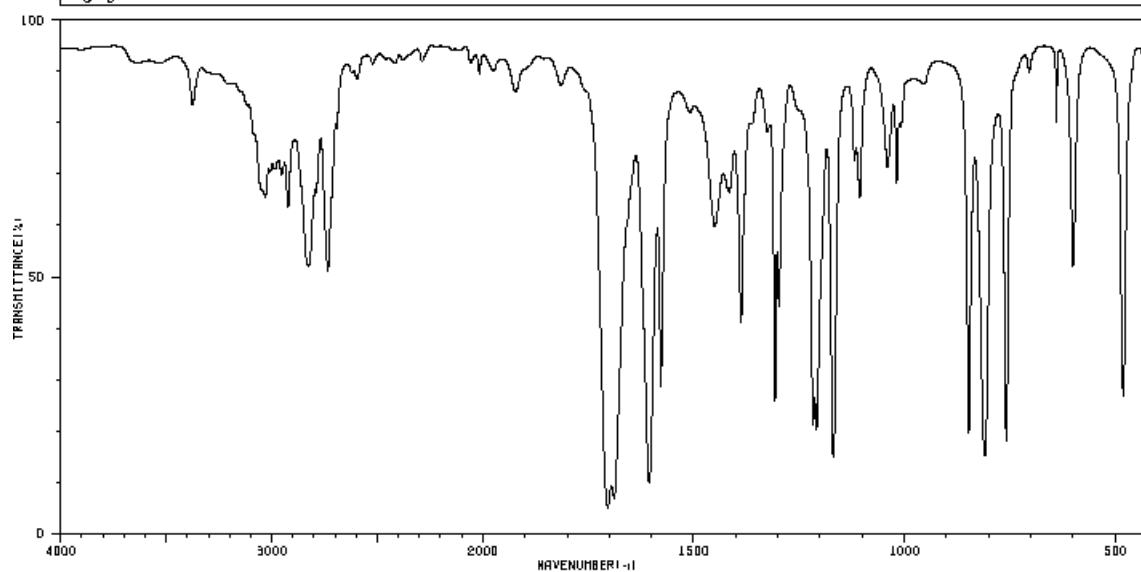


3604 84	2957 77	1646 81	1267 6	966 37
3352 81	2925 79	1492 81	1181 58	928 72
3087 72	2867 84	1450 26	1160 74	761 15
3063 64	1686 4	1430 62	1103 78	731 79
3040 72	1646 68	1360 13	1079 62	691 14
3029 72	1599 21	1313 82	1025 50	618 61
3006 68	1583 41	1303 63	1001 74	588 17

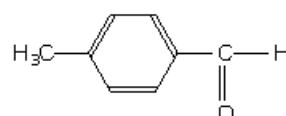


^1H NMR e IR della 4-metilbenzaldeide

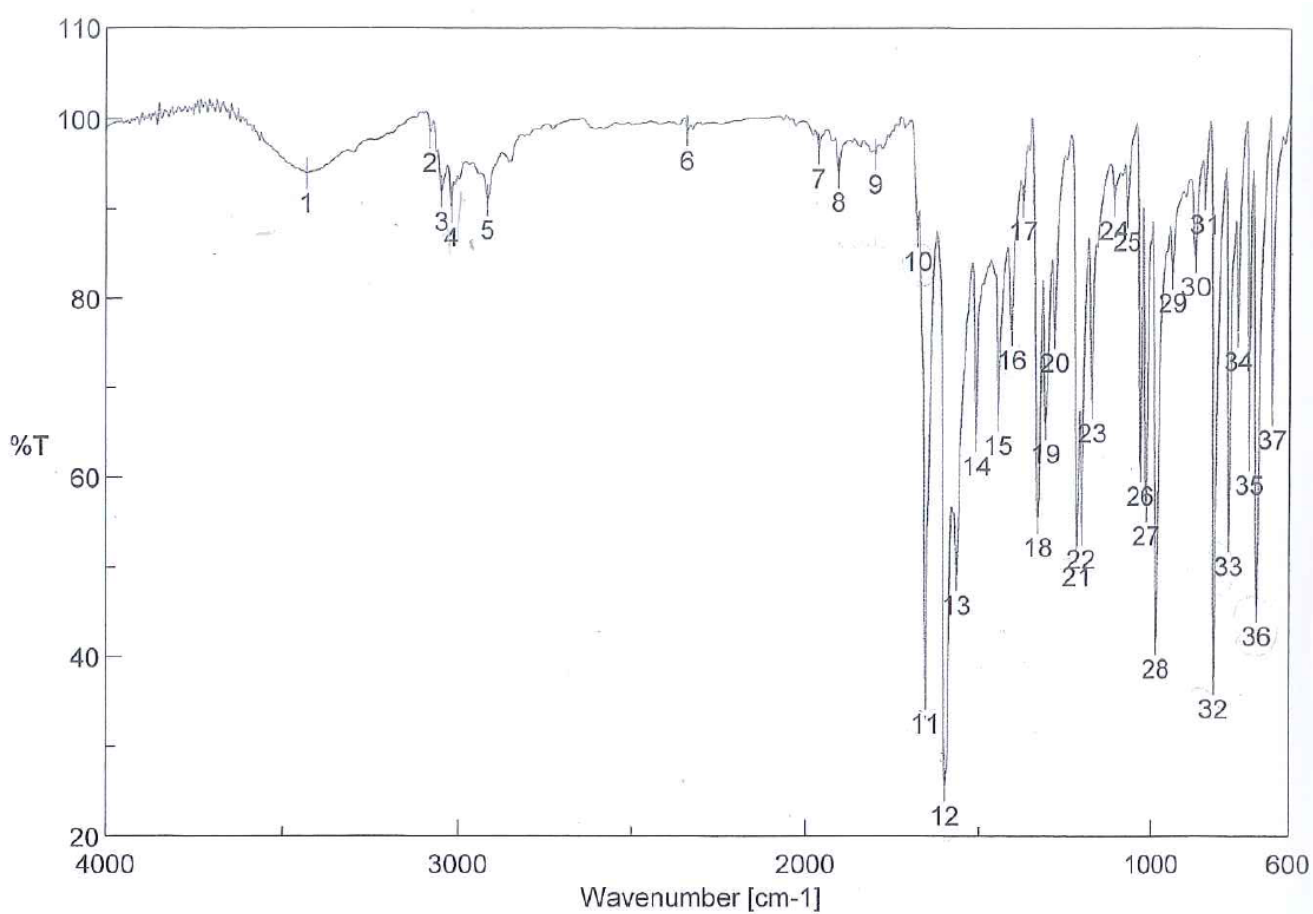
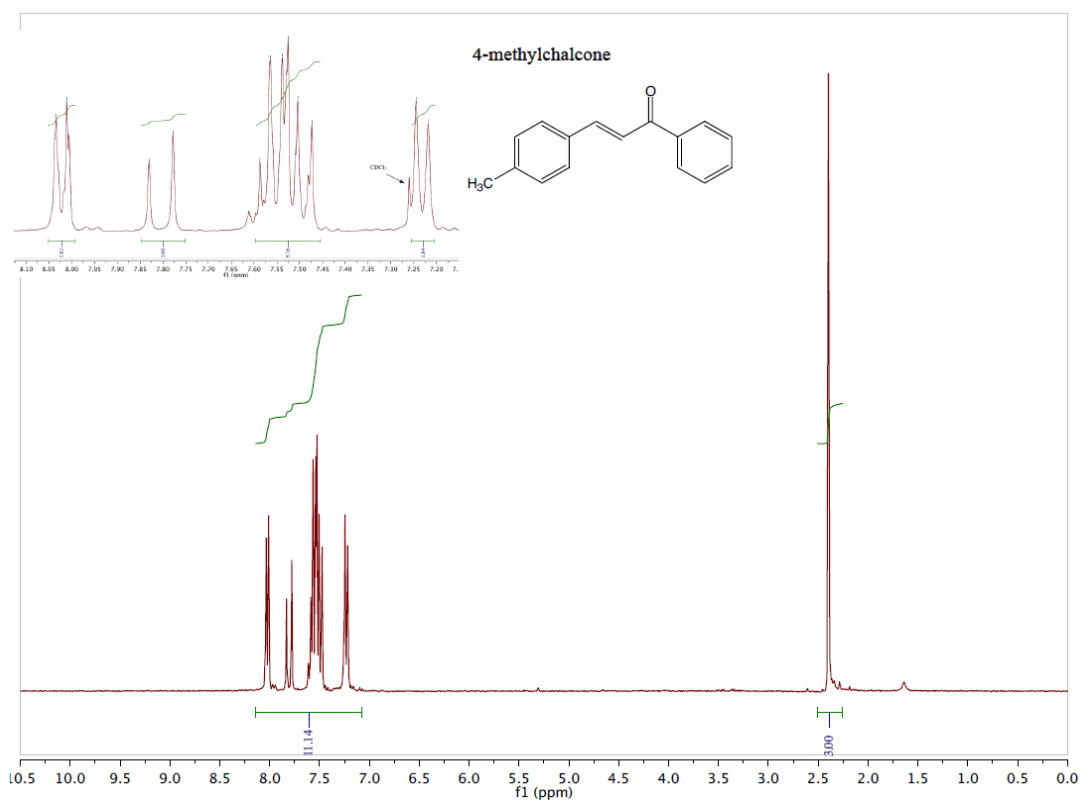
HIT-NO=2256	SCORE= ()	SDBS-NO=3376	IR-NIDA-04031 : LIQUID FILM
P-TOLUALDEHYDE			
$\text{C}_8\text{H}_8\text{O}$			



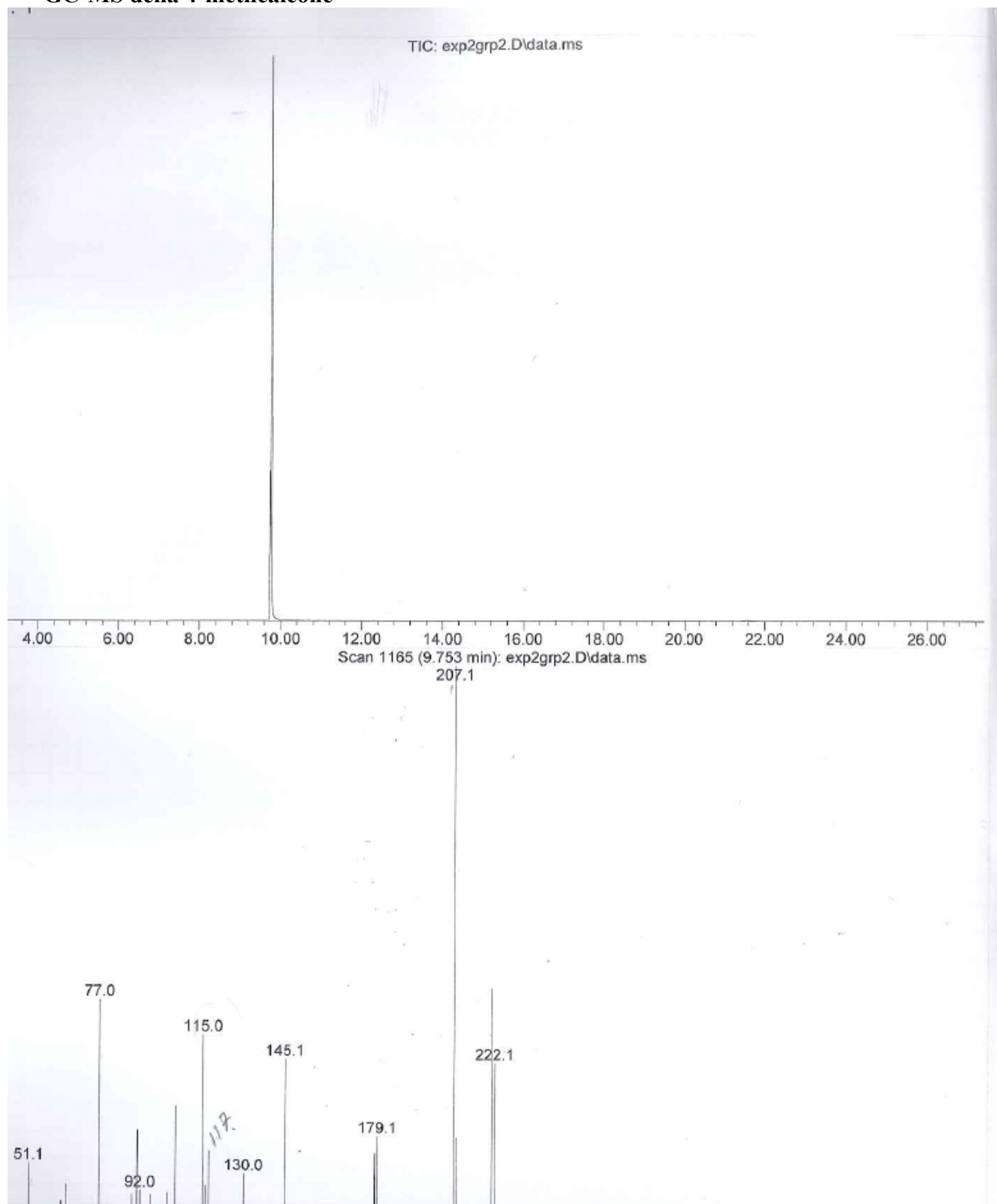
3376	79	2691	77	1608	79	1217	20	1008	77
3044	64	1922	84	1450	57	1209	19	847	18
3031	82	1814	64	1416	64	1169	14	810	14
2953	68	1704	4	1388	39	1118	70	759	17
2923	60	1689	6	1325	74	1106	62	840	77
2827	50	1608	9	1307	24	1040	68	600	50
2734	49	1577	27	1298	42	1018	66	481	26



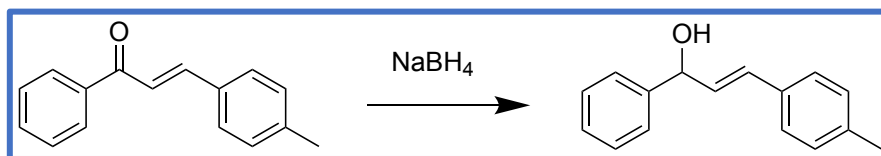
¹H NMR e IR della 4-metilcalcone



GC-MS della 4-metilcalcone



ESPERIENZA N° 2: RIDUZIONE DEL CALCONE AD ALCOOL



	M o V (g o mL)	MW (g/mol)	n (mol)	equiv	d (g/ml)
4-Metilcalcone				1	
Na BH ₄				1,2	
MeOH					

Materiali:

- * pallone da 100 mL ad un collo, cono 29
- * ancoretta magnetica + agitatore magnetico
- * bagno di acqua e ghiaccio
- * filtro buchner + beuta da vuoto
- * materiale per analisi cromatografica su strato sottile (TLC)
- * metanolo
- * H₂O
- * CH₂Cl₂
- * Tubo a cloruro di calcio

Procedura

- * Decidere e concordare col docente la quantità di 4-metilcalcone (precedentemente sintetizzato) da far reagire. Compilare quindi di conseguenza la tabella dei reagenti, considerando una quantità di solvente tale da avere una concentrazione di calcone 0.1-0.2 M.
- * In un pallone da 100 mL (cono 26), aggiungere il 4-metil calcone e scioglierlo nella quantità richiesta di metanolo. Chiudere il pallone con un tubo a cloruro di calcio, agitare la soluzione fino a dissoluzione del reagente. Raffredare il pallone in un bagno di acqua e ghiaccio.
- * A freddo, aggiungere NaBH₄ mantenendo sotto agitazione la soluzione di reazione. L'agente riducente reagirà lentamente e si noterà evoluzione di gas. (**ATTENZIONE** il sodio boro idruro deve essere aggiunto con cautela! la miscela di reazione non deve riscaldarsi e la reazione con H₂O produce H₂!)
- * Quando si è sciolta, si rimuove il bagno di acqua e ghiaccio e si lascia sotto agitazione per altri 15 min. Nel frattempo si controlla il decorso della reazione mediante TLC (eluente CH₂Cl₂).
- * Si pone nuovamente il pallone in bagno di acqua e ghiaccio, si lascia raffreddare e si aggiungono lentamente, con cautela e sotto agitazione circa 30-50 mL di H₂O.
- * Si estrae con CH₂Cl₂, si anidrifca e si controlla in TLC; se necessario si purifica su cromatografia.

- * Determinare la resa e caratterizzare il prodotto con spettri NMR, IR, GC-MS. Confrontare gli spettri ottenuti con quelli del calcene di partenza e commentarne le differenze.

Spettri IR di reagente e prodotto.

Spettri GC-MS

condizioni cromatografiche:

$T_{\text{injector}} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$

$T_{\text{detector}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$

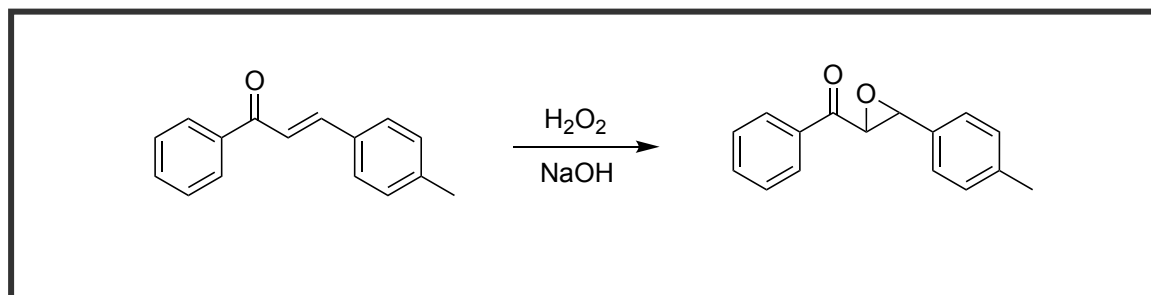
$T_{\text{iniz.}} = 180^{\circ}\text{C}$

isoterma

t. di ritenzione= da determinare.

Spettri ^1H -NMR

ESPERIENZA N° 3: OSSIDAZIONE DEL METILCALCONE



M o V (g o mL)	MW (g/mol)	n (mol)	equiv	d (g/ml)
4-Metilcalcone			1	
H ₂ O ₂ 36%			4	
NaOH			3	
MeOH				

Procedura

- * Decidere e concordare col docente la quantità di 4-metilcalcone (precedentemente sintetizzato) da far reagire. Compilare quindi di conseguenza la tabella dei reagenti, considerando una quantità di solvente tale da avere una concentrazione di calcone 0.1-0.2 M.
- * Pesare in un pallone da 100 mL solubilizzare sotto agitazione il 4-metilcalcone nella quantità richiesta di metanolo (riscaldare se necessario con l'asciugacapelli). Quindi raffreddare in bagno di acqua e ghiaccio la soluzione.
- * In un piccolo recipiente trasferire H₂O₂ al 36% prelevandoli da una buretta posta sotto cappa. Con una pipetta pasteur, aggiungere quindi goccia a goccia l'acqua ossigenata alla soluzione di reazione costantemente raffreddata in bagno di acqua e ghiaccio. (**ATTENZIONE** L'H₂O₂ è un perossido, usare con cautela)
- * Sciogliere NaOH in H₂O (circa 0.3 g/ml) e aggiungere questa soluzione goccia a goccia alla soluzione di reazione tenuta in bagno di acqua e ghiaccio (si nota variazione di colore da bianco a giallo).
- * Seguire l'andamento della reazione tramite TLC (CH₂Cl₂:n-esano=9:1) e usare una cartina amido-iodurata per controllare l'eventuale presenza di acqua ossigenata non reagita.
- * Quando la reazione è decorsa a sufficienza si precipita il prodotto aggiungendo acqua deionizzata. Si filtra il prodotto su filtro buchner, si lava con acqua deionizzata.
- * Si esegue una lastrina per verificare la purezza del prodotto, utilizzando il reagente come riferimento (calcolare gli R_f e riportarli nel quaderno).

Anidrificare il prodotto con Na₂SO₄ in DCM, filtrare ed evaporare all'evaporatore rotante. Calcolare la resa e caratterizzare il prodotto con spettri NMR, IR e GC-MS.

Analisi GC-MS

condizioni cromatografiche:

$T_{\text{injector}} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$

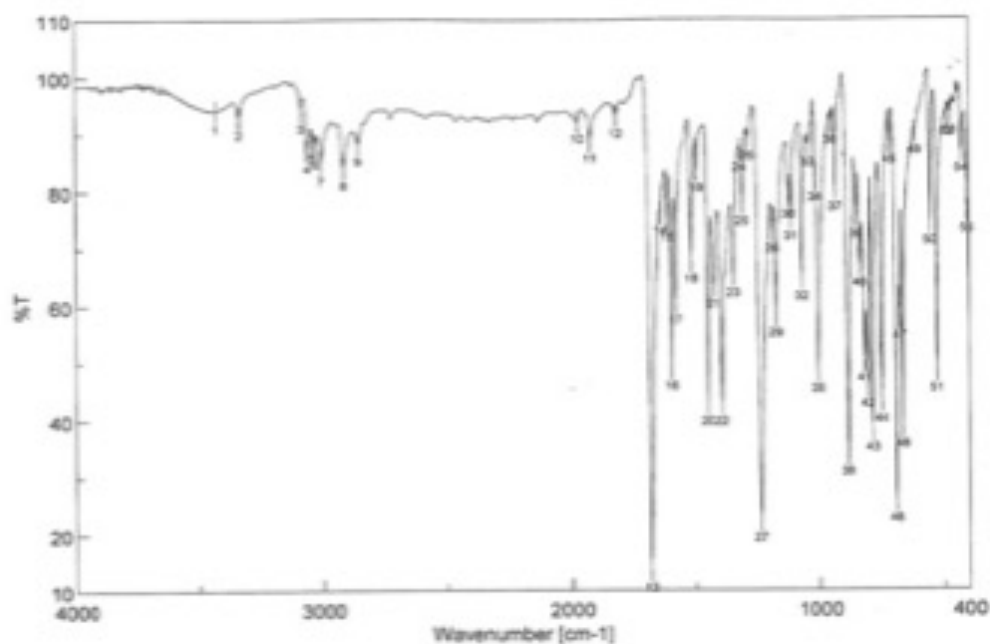
$T_{\text{detector}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$

$T_{\text{iniz.}} = 180^{\circ}\text{C}$

isoterma

t. di ritenzione= da determinare.

Spettri IR



Result of Peak Picking

No.	Position	Intensity	No.	Position	Intensity
1	3434.6	93.9789	2	3338.18	92.9016
3	3087.48	93.9355	4	3081.44	86.9133
5	3042.16	88.8337	6	3030.59	87.7526
7	3005.52	84.7131	8	2914.88	83.9534
9	2857.99	88.2621	10	1973.79	91.9951
11	1923.65	88.6294	12	1819.51	92.9656
13	1680.86	13.4822	14	1640.16	76.0345
15	1613.16	74.9554	16	1596.77	48.8547
17	1580.38	60.3302	18	1515.78	67.6341
19	1493.6	83.4372	20	1450.21	42.6454
21	1426.1	63.2291	22	1393.32	42.625
23	1347.03	65.1432	24	1321	86.991
25	1310.39	77.6896	26	1289.18	89.0438
27	1236.15	22.2659	28	1189.86	72.8659
29	1175.4	58.1114	30	1122.37	78.8471
31	1112.73	75.1193	32	1069.33	64.5657
33	1045.23	87.9444	34	1018.23	81.881
35	1005.7	48.4143	36	953.627	91.8458
37	935.306	80.1443	38	885.166	33.9086
39	850.454	75.3648	40	836.955	66.9463
41	817.67	50.2571	42	805.135	45.7289
43	786.815	38.0274	44	751.138	43.0505
45	717.39	88.2695	46	690.391	25.6213
47	676.892	57.5466	48	666.285	38.5492
49	617.109	89.9951	50	554.434	74.2963
51	528.4	48.4016	52	490.795	93.1825
53	474.403	93.4054	54	430.048	86.78
55	406.907	76.2774			

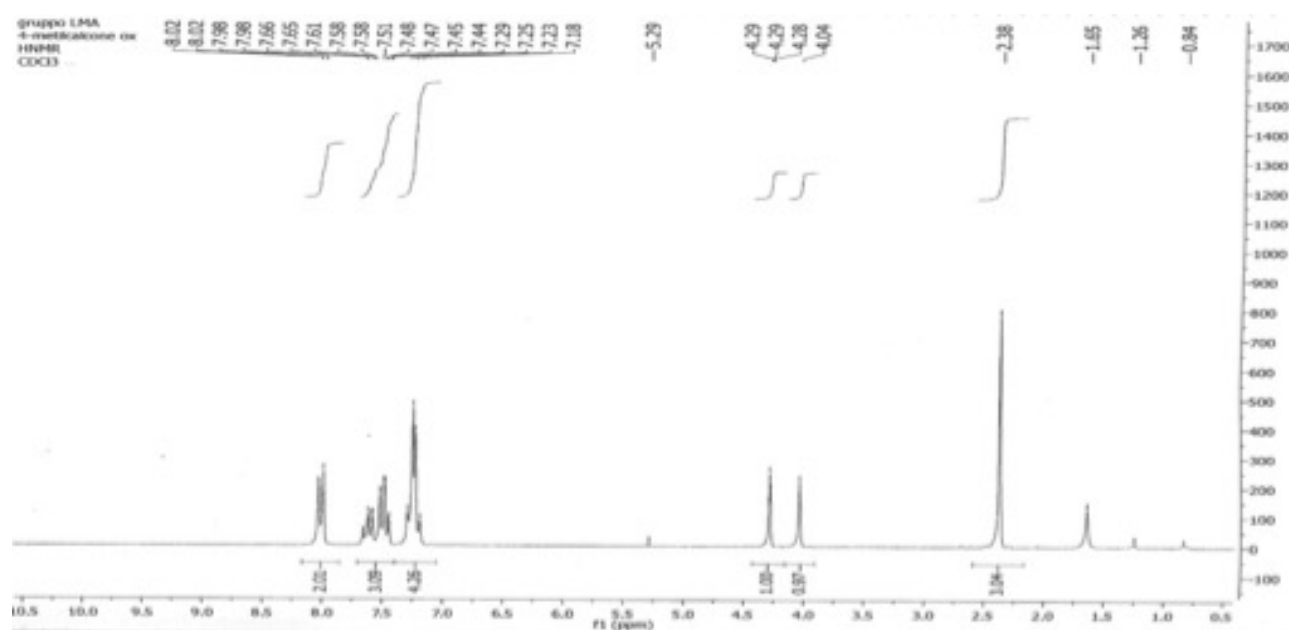
[Comment]

Sample Name 4-metilcalcone ox
 Comment
 User Gruppo LMA
 Division
 Company Università Di Padova

[Measurement Information]

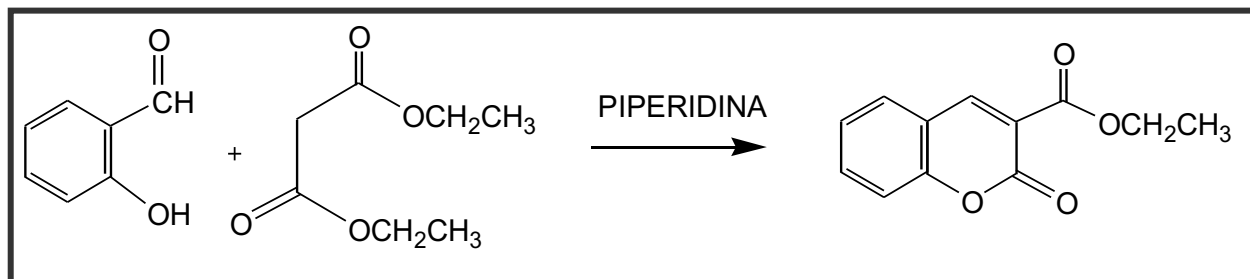
Model Name FT/IR-4100typeA
 Serial Number 8048261016
 Light Source Standard
 Detector TGS
 Accumulation 30
 Resolution 4 cm-1
 Zero Filling On
 Apodization Cosine
 Gain Auto (4)
 Aperture Auto (7.1 mm)
 Scanning Speed Auto (2 mm/sec)
 Filter Auto (30000 Hz)

spettri ¹HNMR



Solvente CDCl₃

ESPERIENZA N° 4: CONDENSAZIONE DI KNOEVENAGEL, SINTESI DI 3-CARBOETOSSI-CUMARINA



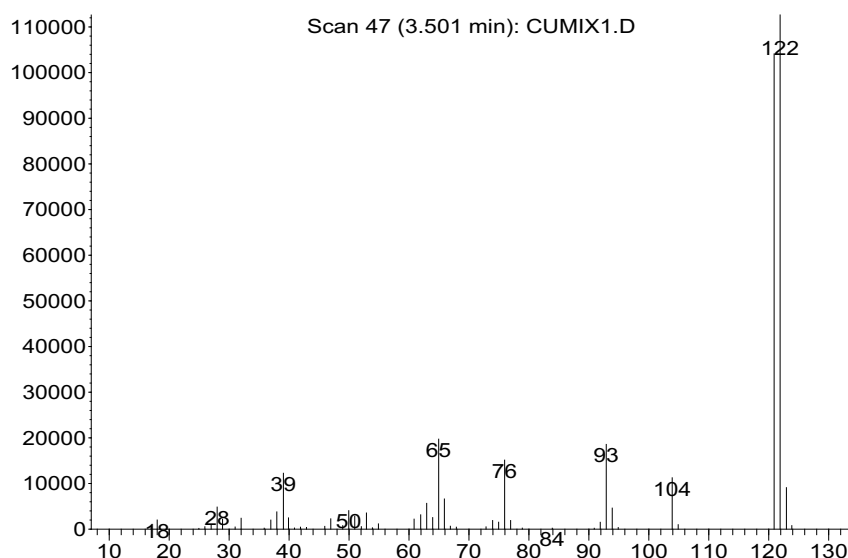
MATERIALE	REAGENTI
2 x Pipetta graduata Spatola Buchner Beuta da vuoto Pallone 100 mL ad un collo B29 Refrigerante a bolle B29 Isomantello Lastrine TLC e camera di eluzione	Aldeide salicilica (1mL) dietil malonato (1.6 mL) piperidina (4 gocce) CH ₂ Cl ₂ etanolo 95% (5 mL) e al 50% (circa 10 mL)

Procedura

- * Sotto cappa in un pallone da 100 mL, introdurre nell'ordine, 1 mL di aldeide salicilica, 1.6 mL di dietil malonato, 5 mL di etanolo al 95% (preparare 10 mL di una soluzione costituita da 9.5 mL di etanolo assoluto e 0.5 mL di H₂O e prelevarne 5), 4 gocce di piperidina. (**ATTENZIONE** la piperidina è tossica, usare cautela, occhiali e guanti di protezione)
- * Munire il pallone di reazione di un refrigerante a bolle e riscaldare a riflusso per 2,5 ore.
- * Lasciare raffreddare a temperatura ambiente ed eseguire una lastrina TLC (eluente CH₂Cl₂) per controllare il decorso della reazione. Caricare la lastrina TLC con una soluzione di aldeide salicilica e con una goccia della soluzione di reazione in CH₂Cl₂. Eseguire una analisi GC-MS della stessa soluzione usata per caricare la lastrina TLC e controllare le percentuali di conversione di reagenti e di formazione del prodotto
- * Lasciare il pallone di reazione a T ambiente fino al giorno successivo
- * Raffreddare il pallone di reazione in bagno di acqua e ghiaccio e decantare la soluzione dai cristalli di prodotto e trasferirla in una beuta, quindi lavare i cristalli con una soluzione di etanolo al 50% freddo (3x 3 mL)
- * Filtrare il prodotto in un filtro buchner e lavarli ancora una volta con una soluzione di etanolo al 50% freddo.
- * Calcolare la resa sui cristalli isolati e caratterizzare il prodotto con analisi GC-MS, IR ed NMR.

Spettri GC-MS

Abundance

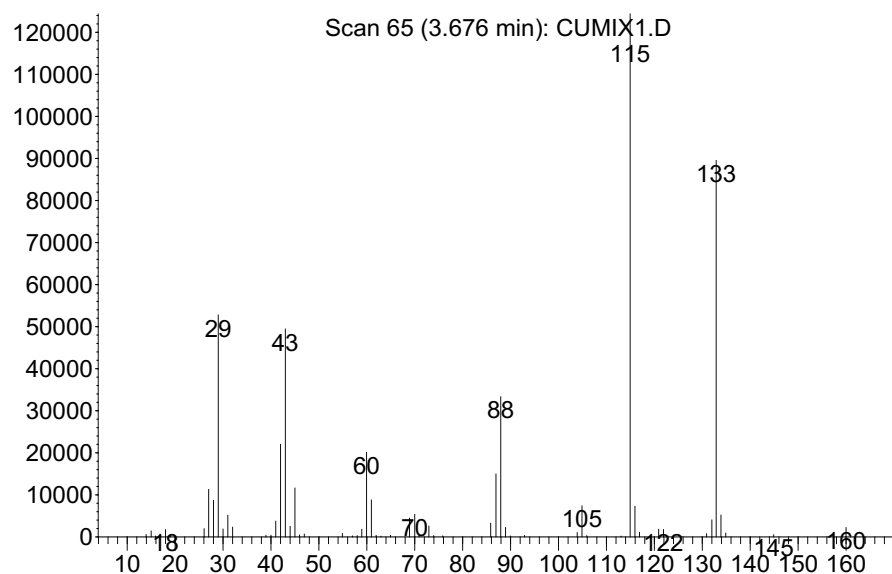


**2-idrossi benzaldeide
(aldeide salicilica)**

condizioni
cromatografiche:

$T_{\text{injector}} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$
 $T_{\text{detector}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$
 $T_{\text{iniz.}} = 100^{\circ}\text{C} \times 3\text{min.}$
 $R = 10^{\circ}/\text{min.}$
 $T_{\text{fin.}} = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$
 t. di ritenzione= 3.50 min.

Abundance



**acido propandioico-
diethyl estere
(diethylmalonato)**

condizioni
cromatografiche:

$T_{\text{injector}} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$
 $T_{\text{detector}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$
 $T_{\text{iniz.}} = 100^{\circ}\text{C} \times 3\text{min.}$
 $R = 10^{\circ}/\text{min.}$
 $T_{\text{fin.}} = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$
 t. di ritenzione= 3.68 min.

Nelle condizioni di analisi GC-MS descritte sopra, il prodotto 3-carbossietil cumarina ha un tempo di ritenzione di 14.99 minuti.

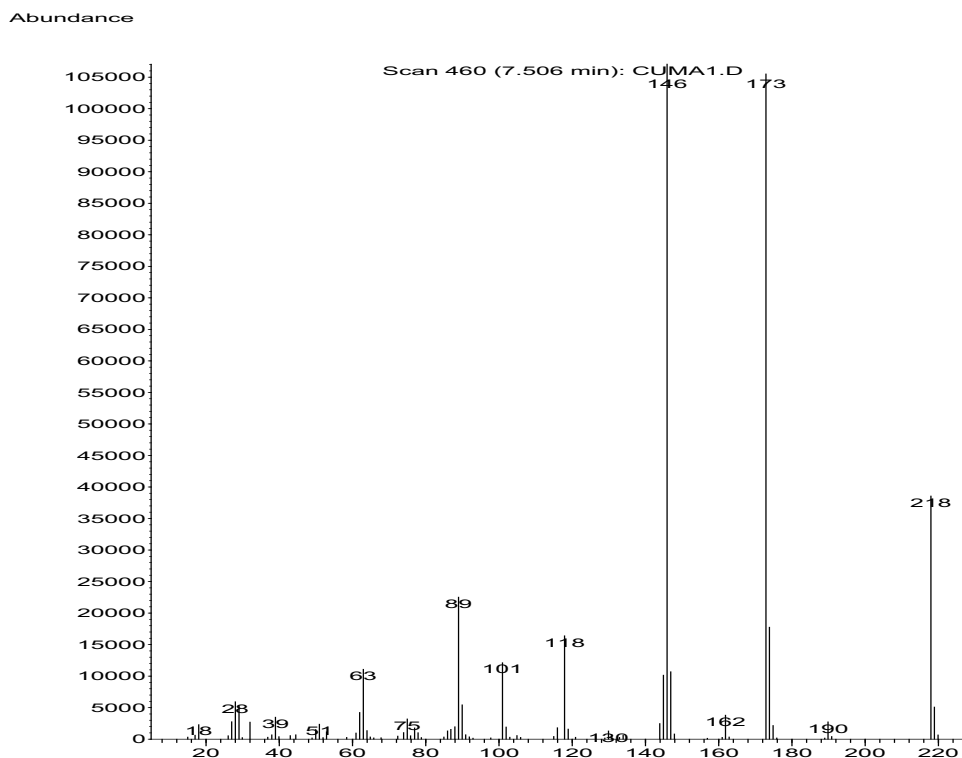
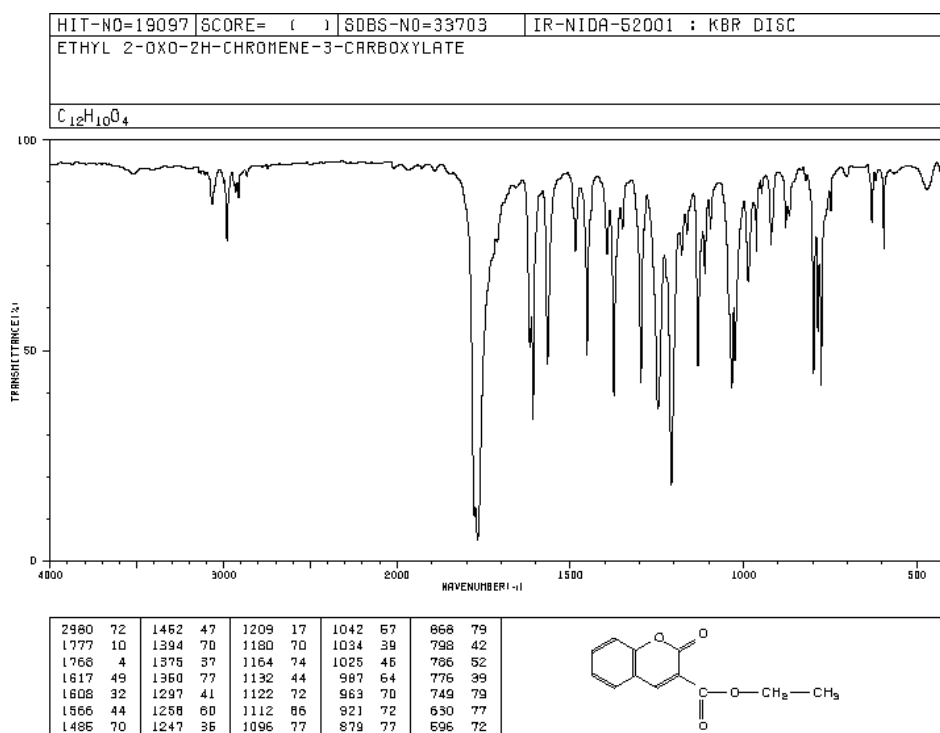
Queste condizioni sono utilizzate per l'analisi della soluzione di reazione.

Spettro GC-MS di 3-carbossietil cumarina

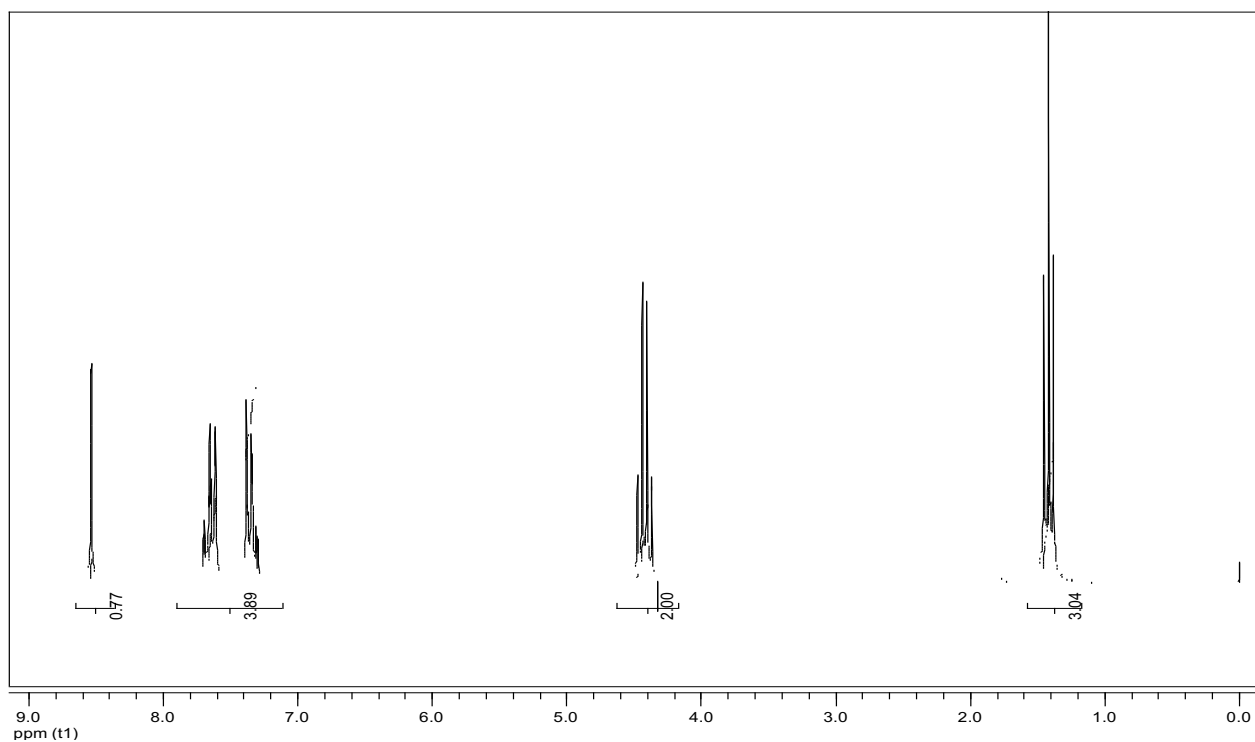
condizioni cromatografiche:

 $T_{\text{injector}} = 220\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{detector}} = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$, $T_{\text{iniz.}} = 180\text{ }^{\circ}\text{C} \times 3\text{ min.}$, $R = 5^{\circ}/\text{min}$, $T_{\text{fin.}} = 200\text{ }^{\circ}\text{C}$

t. di ritenzione = 7.51 min.

**spettro IR**

spettro ^1H -NMR di 3-carbossietil cumarina in CDCl_3



ESPERIENZA 5: IDENTIFICAZIONE DI UN COMPOSTO INCOGNITO

Lo scopo dell'esperienza finale è la soluzione di un problema spettroscopico relativo alla identificazione della struttura di un composto incognito avendo a disposizione:

- la formula molecolare o l'analisi elementare -lo spettro IR - gli spettri ^1H e ^{13}C NMR - lo spettro di massa

Si suggerisce un approccio sistematico al problema, che consideri i seguenti punti:

1) calcolo della formula molecolare dalle % dell'analisi elementare. Calcolo del peso molecolare e confronto con lo spettro di massa per l'identificazione dello ione molecolare, se presente

2) calcolo del grado di insaturazione: per una formula generica $\text{C}_x\text{H}_y\text{N}_z\text{O}_w\text{X}_v$ si applica la formula seguente

$$I = [(2C + 2) - (H - N + X)] / 2$$

dove se $I=1$, un doppio legame o un ciclo; $I=2$ un triplo legame, 2 doppi legami, 2 cicli, 1 doppio legame + 1 ciclo.; $I=4$, un anello benzenico

se $I > 0$ allora cercare evidenze della presenza di uno degli elementi di insaturazione quali: carbonile, carbossile, fenile, doppi o tripli legami, negli spettri forniti

3) Nello spettro IR assegnare possibili gruppi funzionali contenenti ossigeno o azoto. Cercare evidenze di insaturazione (aromatici, $\text{C}=\text{C}$, $\text{C}\equiv\text{C}$, $\text{C}=\text{O}$ etc.). Vedi flow-chart riportato di seguito

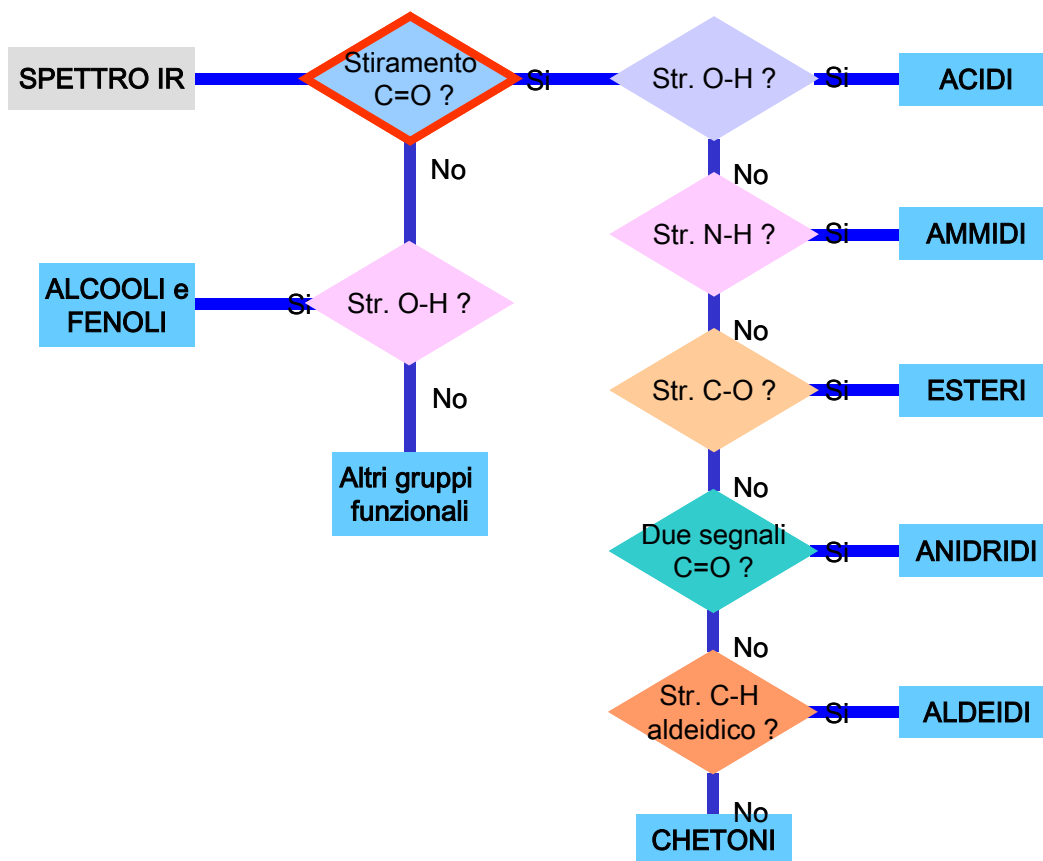
4) Nello spettro ^1H -NMR assegnare. (i) numero e tipo di protoni alifatici, (ii) numero e tipo di protoni olefinici e aromatici, (iii) strutture iperfini caratteristiche (etile, isopropile etc), (iv) numero e tipo di altri protoni caratteristici (CHO , COOH $\delta = 9-12$), (v) accoppiamenti e costanti

5) nello spettro ^{13}C -NMR assegnare. (i) numero di carboni non equivalenti, (ii) numero di diversi tipi di CH_3 -, CH_2 -, CH o C (dallo spettro off-resonance o DEPT), (iii) identificare gruppi carbonilici, (iv) identificare carboni insaturi

6) Identificare gruppi funzionali attraverso evidenze multiple e coerenti negli spettri forniti ad esempio: il gruppo aldeidico CHO deve mostrare assorbimenti caratteristici nello spettro IR ($\text{C}=\text{O}$, $\text{C}-\text{H}$); nello spettro ^1H -NMR ($\text{C}-\text{H}$) e nello spettro ^{13}C -NMR ($\text{C}=\text{O}$),

7) tenendo conto delle evidenze raccolte scrivere strutture parziali e accoppiarle in modo da ottenere possibili ipotesi di struttura

8) identificare tra le diverse strutture proposte, quella più probabile consultando le tabelle per i chemical shifts e i principali cammini di frammentazione nello spettro di massa.



ESPERIENZA N° 6: A SCELTA DA DISCUTERE CON IL DOCENTE

Esperienza da effettuare usando un composto precedentemente sintetizzato o un reagente utilizzato nelle esperienze precedenti.

Idealmente per ogni turno di laboratorio si possono fare un massimo di 5/6 reazioni diverse, in modo che due gruppi facciano lo stesso tipo di reazione (o una variante).

Si suggerisce di scegliere tra le seguenti reazioni:

- Apertura dell'epossido
- Reazione di Michael
- Esterificazione di Steglich
- Sintesi di un legame ammidico
- Sintesi immine a amminazione riduttiva

La reazione va discussa e pianificata col docente e viene effettuata solo una volta approvata.

APPENDICE

Istruzioni per l'uso dello spettrometro NMR Bruker 200 MHz 6° piano

Per inserire il campione:

togliere il tappo dal probe

Sulla consolle:

premere il pulsante **LIFT**

inserire il tubo nello spinner misurando l'altezza (20 mm)

appoggiare tubo + spinner sul cuscinetto di aria

premere **LIFT** per far scendere il campione nel probe

rimettere il tappo

Premere **SPIN** per far ruotare il tubo nmr sul proprio asse

Per iniziare l'acquisizione

Dal computer:

Aprire il programma di acquisizione TOPSPIN



Copiare il dataset di un vecchio esperimento e salvarlo con un nuovo nome:

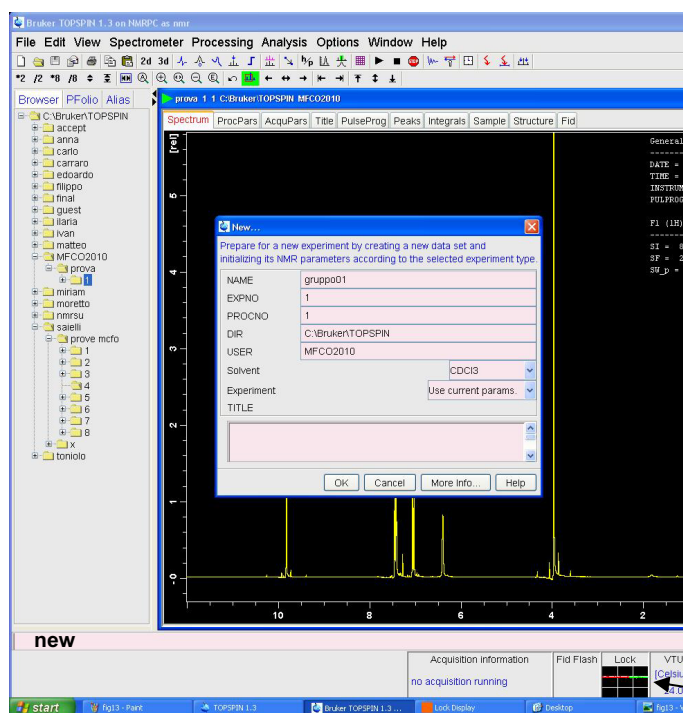
dopo aver aperto uno spettro esistente (per esempio l'ultimo ^1H acquisito) digitare **new** nel prompt di TOPSPIN. Si apre una finestra nuova.

USER identifica la directory principale, e.g. MFCO2010 per gli studenti del corso Metodi Fisici in Chimica Organica, COIII2010 per quelli del corso di Chimica Organica III etc.

NAME deve essere il nome del gruppo, e.g. gruppo01, gruppo02, etc.

EXPNO l'esperimento in corso: ogni esperimento sarà identificato da questo numero progressivo. Sul quaderno si dovrà prendere nota di quale campione corrisponda all'esperimento N!

Gli altri parametri devono essere lasciati inalterati.

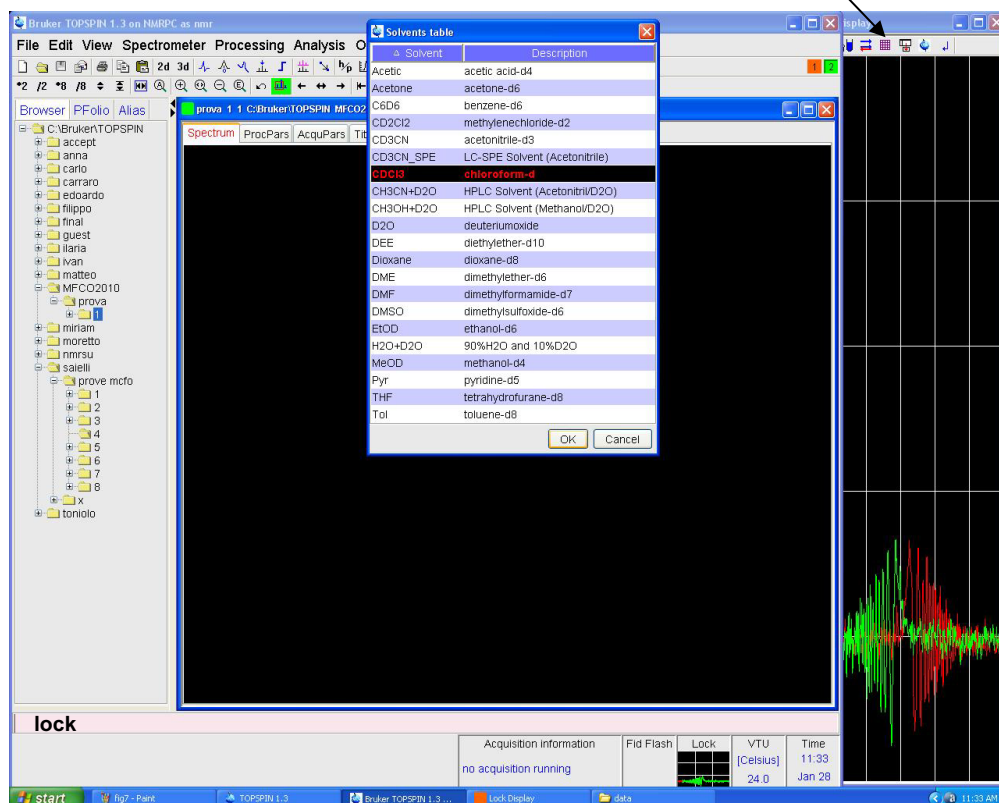


Icona del segnale di **LOCK**

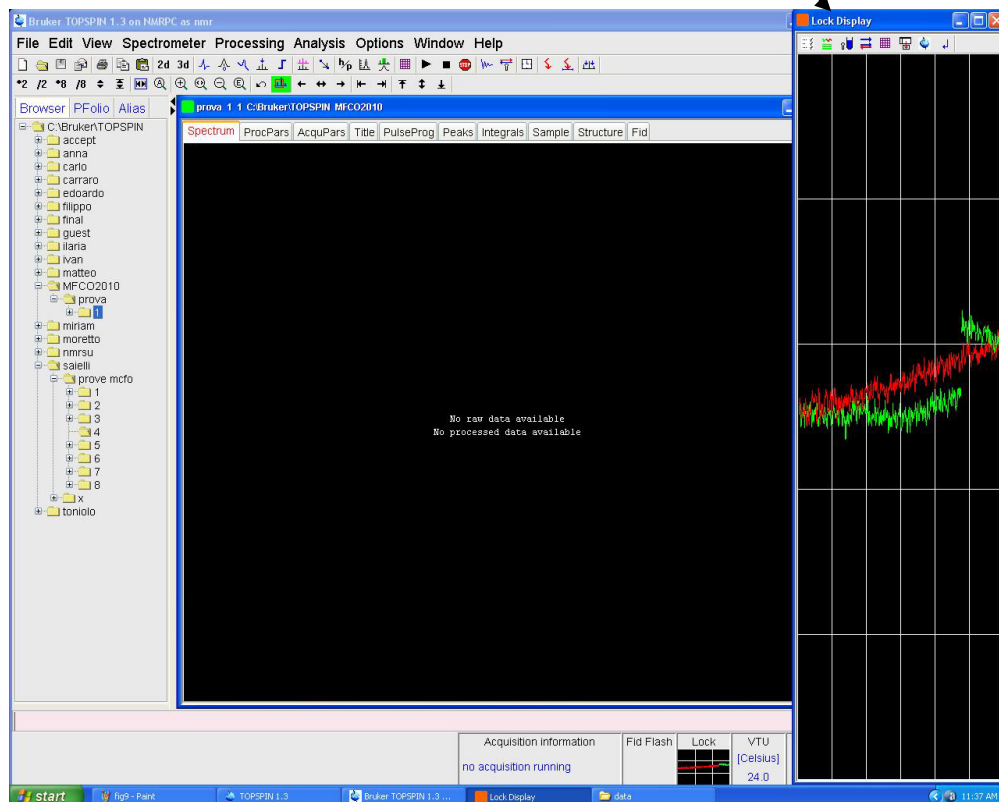
Esempio: se il gruppo 6 del corso Metodi Fisici in Chimica Organica fa lo spettro del composto pincopallolo, e questo è il loro 3° spettro, sarà USER=MFCO2010, NAME=gruppo06, EXPNO=3, PROCNO=1 (sempre!), DIR=C:\Bruker\TOPSPIN (sempre!), Solvent=CDCl₃ (o altro se si usa un altro solvente).

Click sull'icona del segnale di lock per aprire la finestra del lock.

Digitare **LOCK** e scegliere il solvente deuterato



Il segnale di lock del deuterio del solvente viene agganciato



OMOGENEITA'

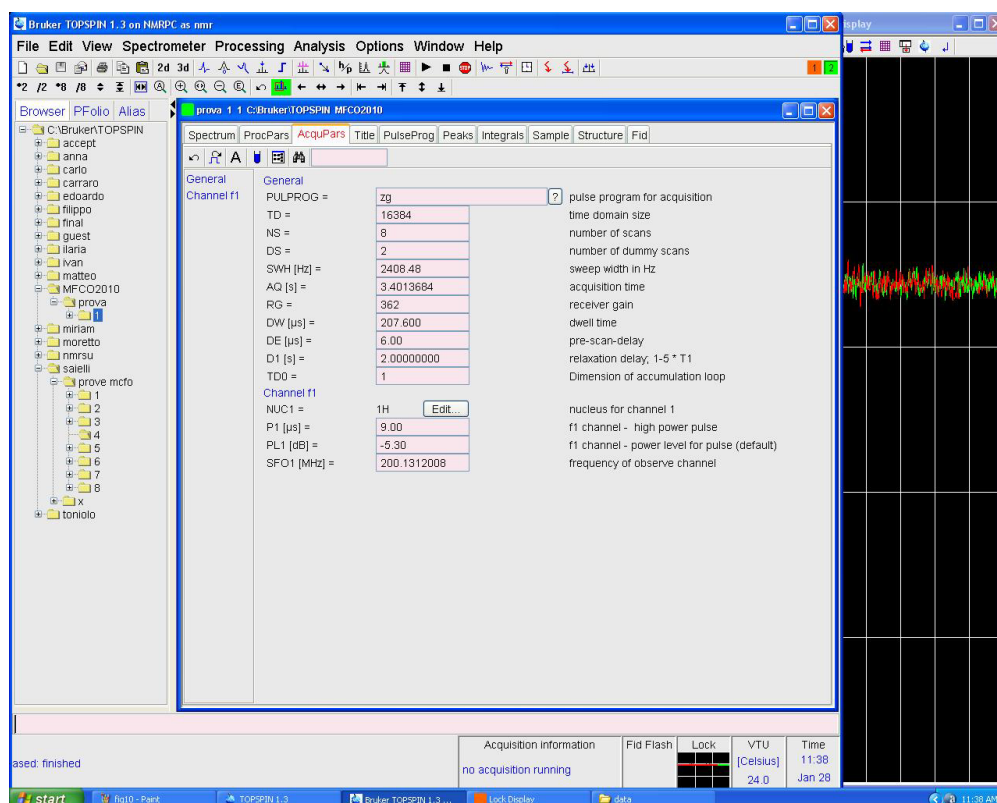
Migliorare l'omogeneità con **z** e **z²** portando il segnale del **LOCK** quanto più alto possibile con la manopola. Se il segnale esce dal display abbassarlo dalla consolle con **LOCK GAIN** (lock gain diminuisce il rumore di fondo).

Se l'omogeneità è molto bassa (e.g. c'era un altro probe prima) è possibile richiamare un file di omogeneità giusto per il nostro probe digitando **RSH**

Quando l'omogeneità è al massimo premere **STDBY** sulla consolle

ACQUISIZIONE

Digitare **ASED** o click sul menù AcquiPars

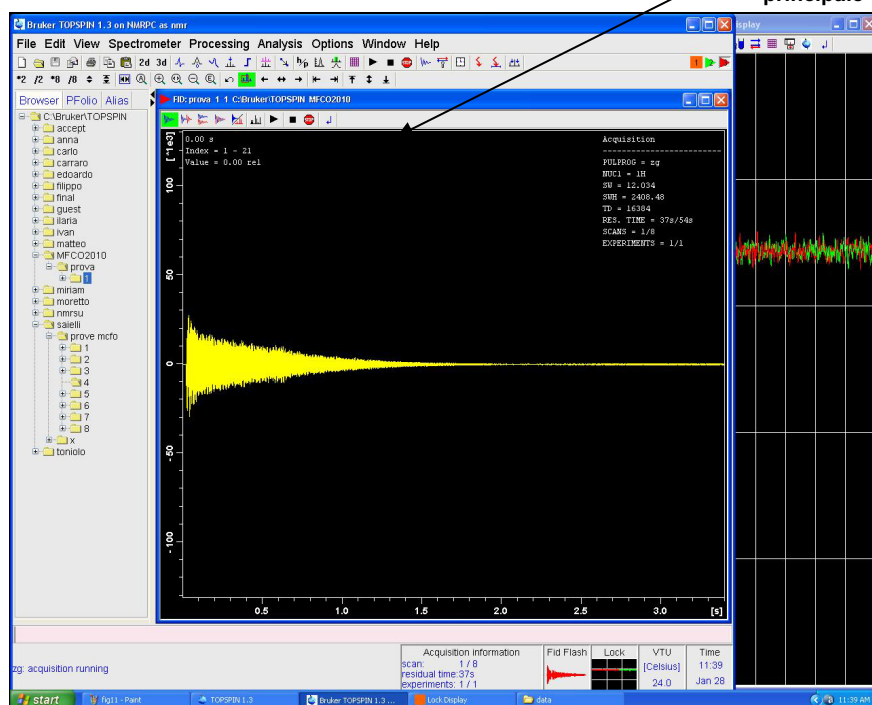


Definire i parametri di acquisizione, e.g. numero di scansioni ns, etc.

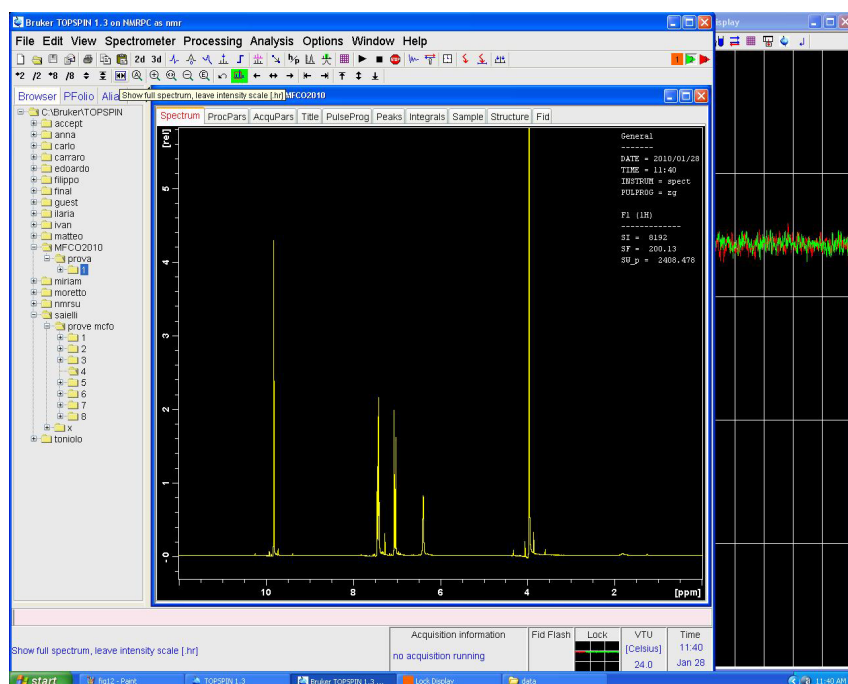
Per acquisire lo spettro digitare **ZG**

Si può seguire in diretta l'accumulo delle FID digitando **A**

RETURN per tornare
alla finestra
principale



La FID deve essere compresa tra -50000 e + 50000. E' possibile variare **RG** in caso di necessità. **Al termine delle scansioni digitare EFP per ottenere lo spettro.**



PER TOGLIERE IL CAMPIONE

Spegnere **LOCK**
 Spegnere **SPIN**
 Togliere il tappo
 Premere **LIFT**
 Togliere il campione
 Premere **LIFT**
 Rimettere il tappo

Guida rapida all'elaborazione di spettri 1D con MestRe-C 3.5.1

(a cura del Dr. Federico Rastrelli)

MestRe-C è un programma *freeware* che consente di elaborare spettri NMR importandoli da vari formati proprietari (Bruker, Varian, etc.).

Come gran parte del software (specialmente quello non commerciale) MestRe-C può a volte generare degli errori e/o chiudersi inaspettatamente. E' quindi buona regola salvare periodicamente il lavoro in corso ed effettuare un backup di tutti gli spettri originali.

L'utilizzo MestRe-C è molto simile a quello di una tipica applicazione Windows: i comandi più frequenti sono raggruppati in una *toolbar* simile a quella di Word o Excel:



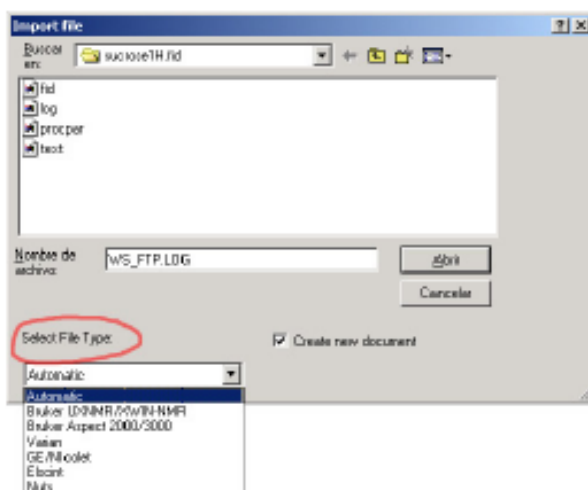
Tutti i comandi sono inoltre riportati in menù e sottomenù.

1. Importare i FID

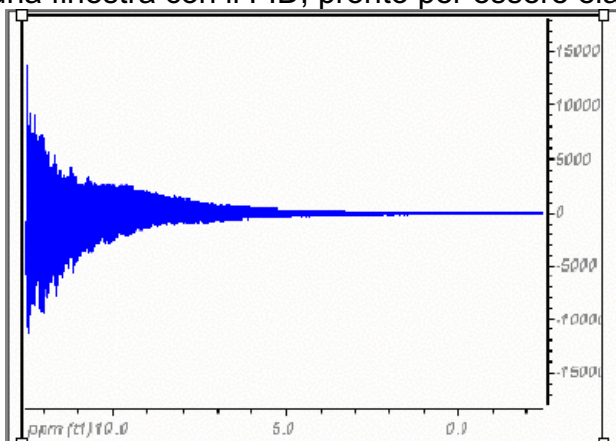
Individuare sulla toolbar il pulsante



e selezionarlo. Si apre una finestra come quella riportata di seguito:



Lasciare **File Type** su **automatic** e selezionare il file che si desidera elaborare. A questo punto MestRe-C apre una finestra con il FID, pronto per essere elaborato.



2. Elaborare il FID

Individuare sulla toolbar il pulsante



e selezionare l'opzione **Full FT** dal menù che compare cliccando sul triangolo. Si ottiene lo spettro NMR.

Per fasare lo spettro, selezionare dalla toolbar il pulsante



cliccando direttamente sull'icona (non è necessario far apparire il menù cliccando sul triangolo). Se la fasatura non è soddisfacente, selezionare il bottone e procedere con la fasatura manuale utilizzando il tasto sinistro del mouse per l'ordine zero e quello destro per il primo ordine.

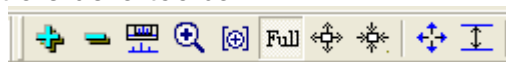


3. Integrare i segnali

Prima di procedere all'integrazione dei segnali NMR, è buona regola operare una *correzione della linea di base*. A questo scopo, individuare nella toolbar il pulsante e selezionare l'opzione **Full Auto** dal menù che compare cliccando sul triangolo.



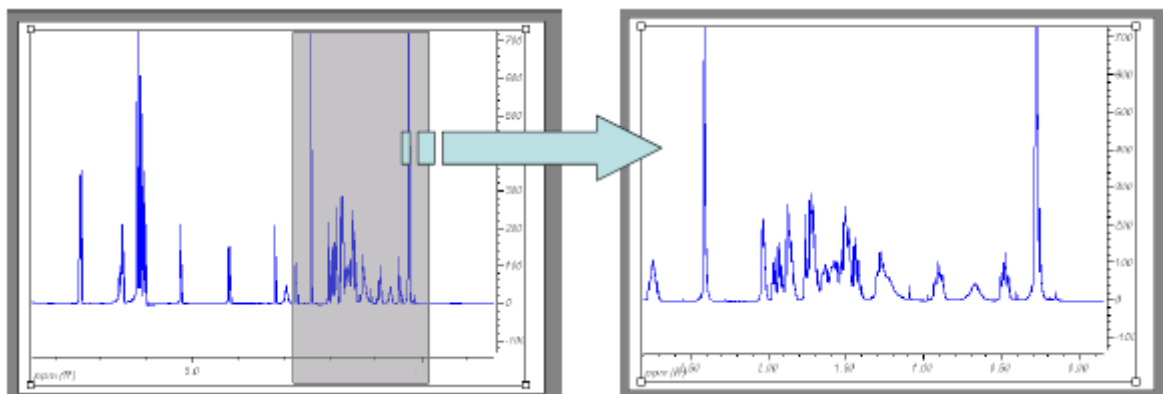
Per integrare in modo preciso, è spesso necessario espandere lo spettro nelle zone di interesse. Tutti i comandi per "scalare" lo spettro in orizzontale o in verticale sono raggruppati nella parte centrale della toolbar:



Particolarmente utile è il comando di **zoom-in** che consente di ingrandire rapidamente una porzione di spettro semplicemente cliccando col bottone sinistro del mouse sul punto iniziale, trascinando il cursore attraverso la zona desiderata e infine rilasciando il bottone del mouse:



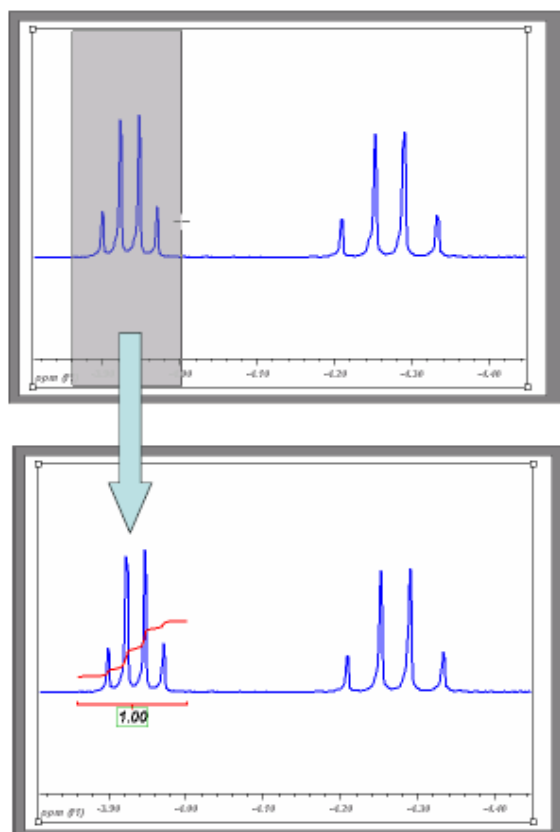
che consente di ingrandire rapidamente una porzione di spettro semplicemente cliccando col bottone sinistro del mouse sul punto iniziale, trascinando il cursore attraverso la zona desiderata e infine rilasciando il bottone del mouse:



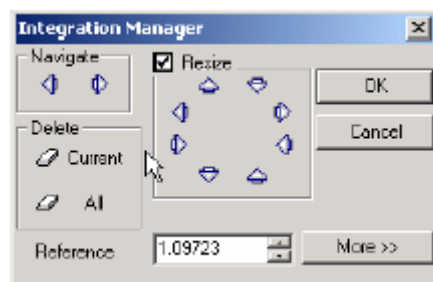
Dopo aver espanso la zona di interesse, si procede all'integrazione selezionando il bottone dalla toolbar (non è necessario far comparire il menù). Il puntatore del mouse viene affiancato dal simbolo $\int$ ad indicare che è attiva la



modalità di integrazione. A questo punto si procede come nel caso dello **zoom-in**, trascinando il cursore sopra ai segnali da integrare (vedi figura). Gli integrali vengono salvati automaticamente: è dunque possibile uscire in ogni momento dalla modalità di integrazione per espandere altre zone dello spettro ed integrare su queste ultime.

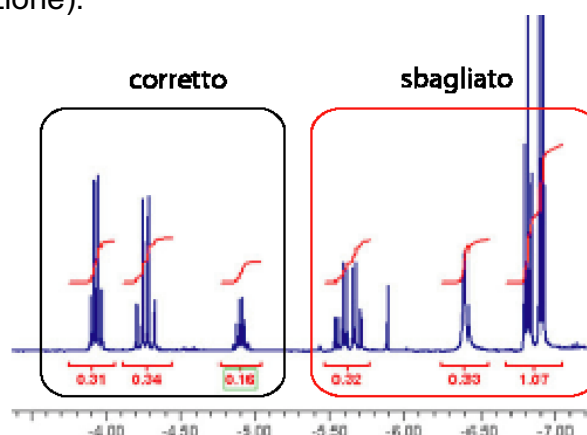


Per calibrare l'integrale di un segnale, fare doppio-click sopra il valore numerico dell'integrale stesso: si apre la finestra



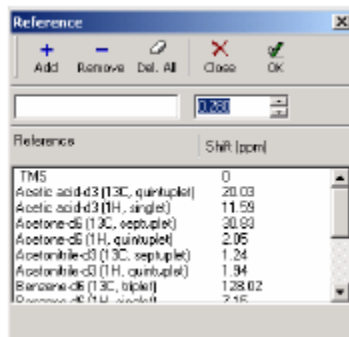
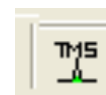
nella quale è possibile calibrare il valore dell'integrale selezionato. Tramite la stessa finestra si possono anche cancellare gli integrali non desiderati.

Nota: per ottenere valori affidabili, è necessario che la funzione ottenuta dall'integrazione dei segnali inizi piatta e finisca piatta (vedi figura). Questo implica che non è possibile integrare separatamente segnali che non siano perfettamente risolti, (a meno di non utilizzare una deconvoluzione).



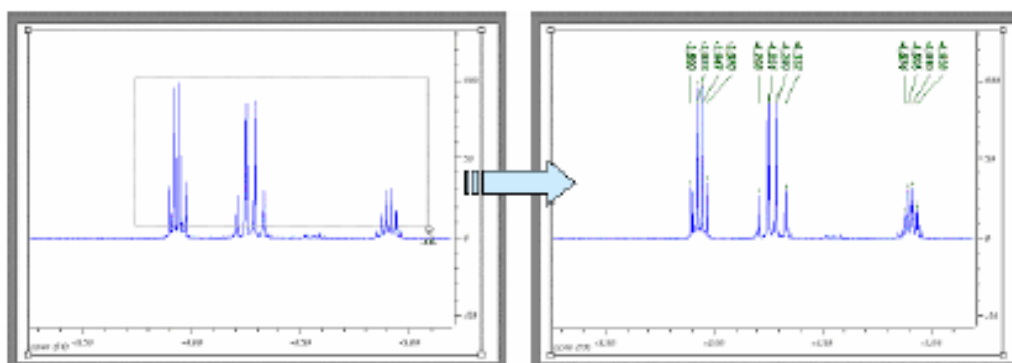
4. Selezione del riferimento

Espandere il segnale del TMS, quindi individuare sulla toolbar il bottone e selezionarlo. Portare il cursore sul segnale del TMS e cliccare col tasto sinistro: compare la finestra nella quale è possibile scegliere tra vari segnali di riferimento, tra cui il TMS (0 ppm)



5. Selezione dei picchi (peak-picking)

Espandere la zona di interesse. Individuare sulla toolbar il bottone e selezionarlo. Per ottenere i valori di chemical shift è sufficiente "inquadrare" i picchi desiderati cliccando con il tasto sinistro del mouse e trascinando il cursore



Il lato inferiore del rettangolo di selezione definisce il valore di soglia sotto il quale nessun picco viene considerato per il *peak-picking*.

6. Varie

- E' possibile aggiungere del testo nello spettro NMR tramite il bottone



- Prima di stampare si consiglia di controllare il layout selezionando **Print Preview** dal menu **File**.
- Per salvare il file in formato MestRe-C, selezionare **Save As...** dal menu **File**
- Per meglio evidenziare alcune strutture iperfini, è spesso utile creare un'espansione di una regione spettrale. A questo scopo, selezionare nella toolbar inferiore il bottone . Una volta selezionata l'espansione, è possibile utilizzare al suo interno tutti i comandi della toolbar come se fosse uno spettro indipendente.



ISTRUZIONI PER L'USO DEL GC/MS

N.B. Questo strumento è dotato di autocampionatore a 16 posti. Cercate di caricare i campioni tutti assieme in un'unica sequenza.

Accensione:

- Controllare che il GC (modulo più alto con l'autocampionatore sulla destra), il rivelatore di massa (modulo a sinistra) e relativa pompa ad olio siano accesi;
- Controllare che il PC sia acceso, se non fosse acceso:

Username: Admin

Password: 3000hanover;

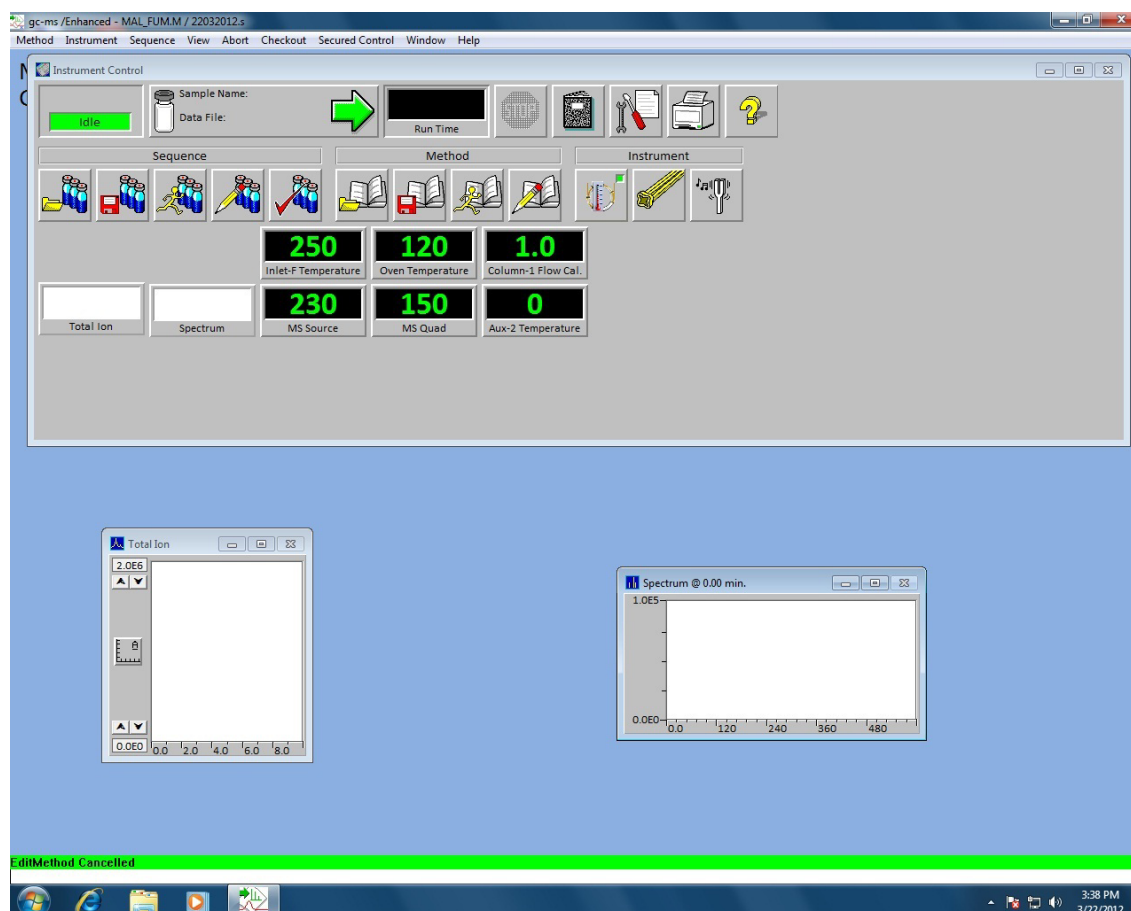
- Per far comunicare gli strumenti con il PC, sul desktop fare doppio click sull'icona



gialla; si apre il programma **MSDChemStation**.

Analisi:

- Si apre la schermata principale: **Instrument Control** è la finestra di dialogo con gli strumenti in cui si possono impostare metodo di analisi (icone sotto **Method**) e sequenza di campioni da analizzare (icone sotto **Sequence**). "Tot Ion" riporta in grafico la quantità di ioni che raggiunge il rivelatore in funzione del tempo di analisi, mentre "Spectrum @ XX min" riporta lo spettro di massa aggiornato ogni 2-3 secondi durante l'analisi.



Prima di far partire una sequenza vanno impostate le condizioni di analisi:



- per caricare un metodo esistente, selezionare l'icona sotto **Method**, oppure la finestra **Method** in alto a sinistra, quindi **Edit Method File** (i metodi si trovano nella cartella **C:\msdchem\1\methods**)

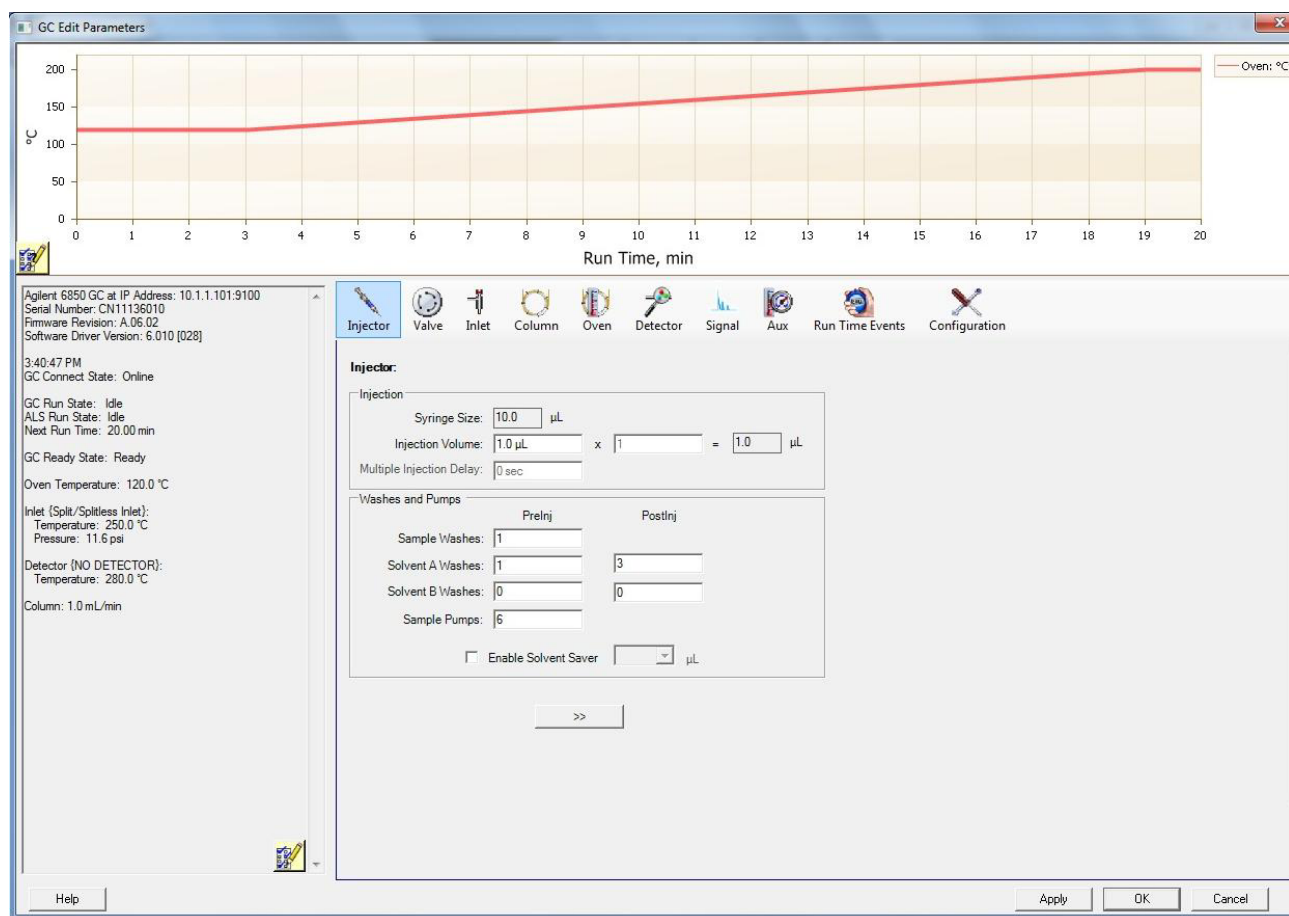
- per creare un nuovo metodo a partire da un metodo esistente, selezionando l'icona



sotto **Method**, oppure dalla finestra **Method** in alto a sinistra, quindi **Edit Method File** (i metodi si trovano nella cartella **C:\msdchem\1\methods**).

Si aprirà una nuova finestra:

- **Method sections to Edit**, lasciare la spunta su tutte le opzioni e procedere selezionando **Ok**;
- **Method Informations**, lasciare tutto come impostato e procedere selezionando **Ok**;
- **Inlet and Injection Parameters**, controllare che il **Sample Inlet** sia impostato su **GC** ed **Injection Source** su **ALS**, il resto va lasciato invariato, procedere selezionando **Ok**;
- si aprirà una schermata a schede, **GC Edit Parameters**:



Inlet: controllare che **Heater** sia impostato su $T = 250\text{ }^{\circ}\text{C}$;

Oven: **Column Max** è la temperatura massima cui può essere sottoposta la colonna: questo parametro non va assolutamente variato!!! Vanno impostate invece la temperatura iniziale (**Initial Temp**), il tempo in cui tale temperatura viene mantenuta (**Initial Time**) ed i parametri relativi al gradiente di temperatura. Impostare la velocità con cui viene

aumentata la temperatura (**Rate**), la temperatura finale (**Final**) e il tempo per cui la temperatura finale viene mantenuta costante (**Time**). Nel caso in cui invece si debba eseguire un'isoterma impostare Rate a zero e far coincidere l'initial time con il tempo totale della corsa cromatografica.

Detector: controllare che **Heater** sia impostato su $T = 280\text{ }^{\circ}\text{C}$.

- **GC Detection Data**, lasciare invariato e continuare selezionando **Ok**;
- **MS Tune File**, controllare che sia impostato il file **atune.u** e proseguire selezionando **Ok**;
- **MS/SIM/Scan Parameters**; controllare che sia impostato un solvent delay di 3 minuti, tempo durante il quale il solvente con cui è stato diluito il campione uscirà dalla colonna cromatografica; in questo modo lo strumento non eseguirà l'acquisizione (per non rovinare il filamento);
- **Select Report**: nessuno e selezionare **Ok**;

Una volta impostato il metodo selezionare Method e Save Method As, oppure l'icona



, controllare che il metodo venga salvato nella cartella **C:\msdchem\1\methods**.

Impostare la Sequenza:

- Partire da una sequenza nota, selezionando o **Sequence** e **Load Sequence** dalla



schermata principale (menù a tendina in alto a sinistra) oppure l'icona . Le sequenze si trovano nella cartella **C:\msdchem\1\sequence**;

- Per modificare la sequenza selezionare **Sequence**, quindi **Edit Sequence** oppure



l'icona , si aprirà questa schermata:

Sample Log Table						
Data Path: C:\MSDCHEM\1\DATA\ORG 3 2012			Method Path: C:\MSDCHEM\1\METHODS			
	Type	Vial	Sample	Method / Keyword	Data File	Col Key
1	Sample	1	G5B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G5B Esp1 prodotto	
2	Sample	2	G10B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G10B Esp1 prodotto	
3	Sample	3	G8B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G8B Esp1 prodotto	
4	Sample	4	G6B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G6B Esp1 prodotto	
5	Sample	5	G4B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G4B Esp1 prodotto	
6	Sample	6	G2B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G2B Esp1 prodotto	
7	Sample	7	G9B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G9B Esp1 prodotto	
8	Sample	8	G3B Esp1 prodotto	MAL_FUM	G3B Esp1 prodotto	
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						

Impostare: **Type** → **Sample**, su **Vial** il numero corrispondente alla posizione del proprio campione sull'autocampionatore, su **Method** il nome del metodo di analisi caricato e su **Sample** e **Data File** le informazioni relative al campione (gruppo, turno, Esperienza numero e cosa si sta analizzando). Controllare che **Data Path** (in alto a sinistra) sia impostato su **C:\msdchem\1\data\ch org 3 2012** e che **Method Path** sia impostato su **C:\msdchem\1\methods**;

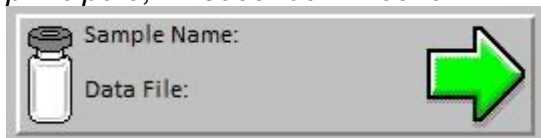
- Terminato di riempire la **Sample Log Table** procedere selezionando **Ok**, quindi



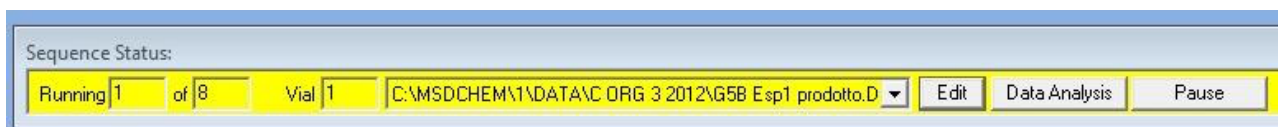
Sequence e **Run Sequence**, oppure l'icona . Si aprirà una finestra su cui dovrete selezionare **Run Sequence** in basso a sinistra.

IL SISTEMA PARTIRA' AUTOMATICAMENTE. Alla domanda **Override solvent delay?** visualizzata sul monitor rispondere **No**.

N. B. Si può controllare quale campione sta analizzando lo strumento dalla schermata principale, seconda icona in alto a sinistra di **Instrument Control**

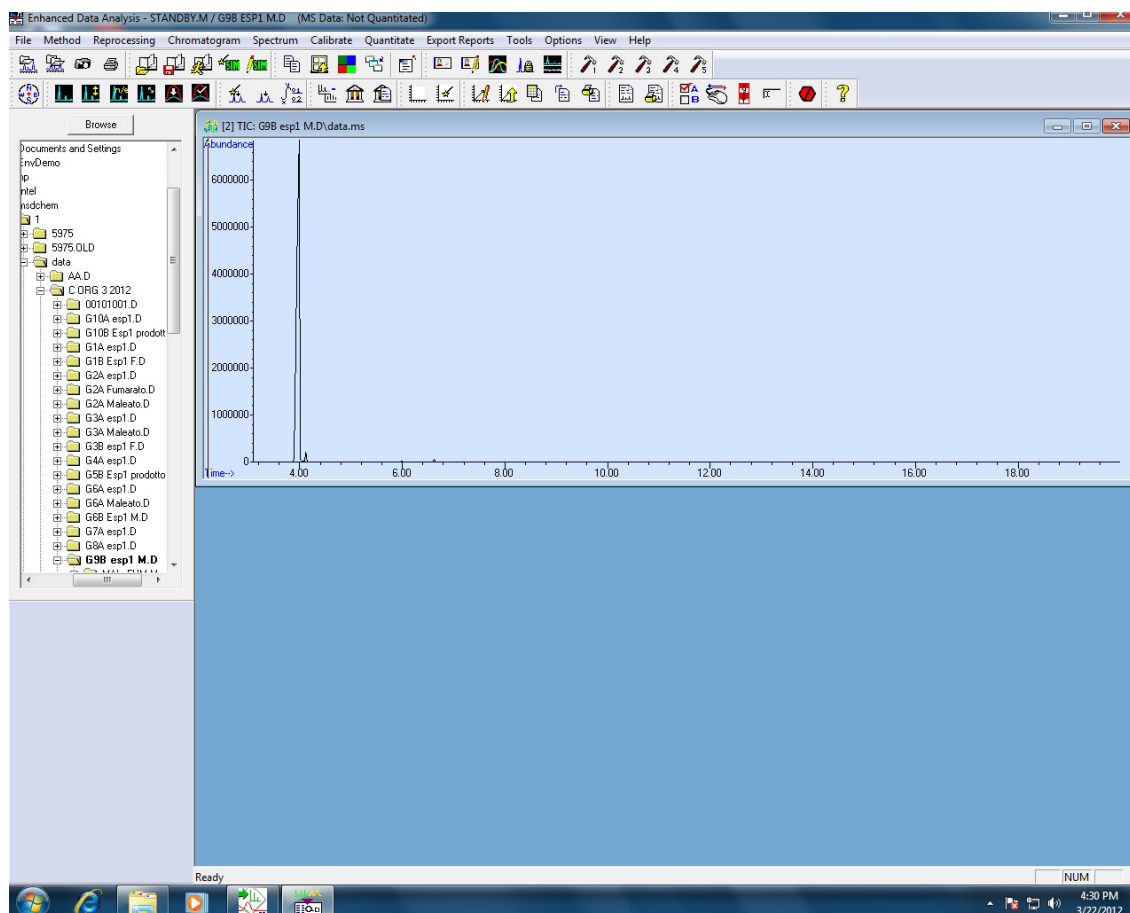


Se si deve aggiungere uno o più campioni a sequenza già avviata (scritta **Run** in un riquadro azzurro su **Instrument Control**), si può fare selezionando **Edit** da **Sequence Status** (riquadro giallo)

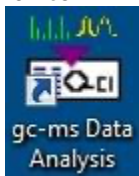


Si aprirà di nuovo la **Sequence Log Table**. Una volta aggiunto/i i campioni selezionare **Ok**, il sistema si aggiornerà all'inizio della successiva analisi.

Analisi e PostRun:



Durante l'acquisizione e al termine dell'acquisizione si può visualizzare il cromatogramma



*aprendo il programma e selezionando **File** e poi **Take snapshot** in alto a sinistra. Verrà visualizzato il cromatogramma registrato fino a quel momento. Cliccando due volte con il tasto destro del mouse in un punto del cromatogramma viene visualizzato lo spettro di massa relativo a quel punto.*

Per allargare il cromatogramma selezionare la zona di interesse trascinando il mouse con il tasto sinistro premuto.

Per riportare il cromatogramma all'intervallo di tempo totale fare doppio click con il tasto sinistro in un punto qualsiasi nella finestra del cromatogramma. Gli stessi comandi valgono per la finestra relativa allo spettro di massa.

*Alla fine dell'acquisizione aprire il file cliccando **File** nella finestra gc-ms Data Analysis, quindi **Load Data File** e selezionare il file di interesse. Visualizzare lo spettro di massa relativo ai picchi cromatografici e stampare i risultati cliccando **File** e poi **Print**. Ci sono tre possibilità di stampa dei risultati:*

Selected Window: stampa il cromatogramma o lo spettro di massa nelle dimensioni di un foglio A4. Dopo aver cliccato OK si può selezionare quale delle due finestre stampare (1 per lo spettro di massa, 2 per il cromatogramma);

TIC & Spectrum: stampa in un unico foglio sia il cromatogramma che lo spettro di massa come vengono visualizzati sul monitor;

Method: poco utile, riporta tutte le specifiche del metodo di analisi.

*Per esportare il cromatogramma o lo spettro di massa in un file word cliccare **Tools** e poi **Copy Window**, indicare il numero relativo alla finestra che si vuole salvare (1 per lo spettro di massa, 2 per il cromatogramma) quindi incollare in un file word.*

ISTRUZIONI PER L'USO DELLO SPETTROFOTOMETRO FT-IR JASCO 4100

(a cura del Dr. Filippo Stella)

- 1) Accendere lo strumento portando l'interruttore in posizione "1" (On) – attendere 15 minuti prima di effettuare la prima scansione.
 - 2) Accendere il computer.
 - 3) Lanciare il programma di acquisizione ed elaborazione degli spettri – ultima icona in basso a sinistra sul desktop.
 - 4) Nella finestra che appare selezionare "**Measurement**" e avviarlo con doppio click.
 - 5) Selezionare "**Measure**" e nel menu a tendina clickare su "**Parameter**".
 - 6) Nel menu "**Standard**" impostare il numero di scansioni da effettuare, l'unità di misura dell'asse delle ordinate per il campione, l'ampiezza della finestra spettrale che verrà visualizzata. Impostare "**Single**" per l'asse delle ordinate del background. Passando al menu "**Information**" è possibile inserire alcuni dati del campione che verranno stampati insieme allo spettro. selezionare "**OK**".
 - 7) Avviare l'acquisizione del background con il tasto "**B**" in alto a sinistra. Se appare distorto, ripetere l'acquisizione.
 - 8) Alla fine delle scansioni impostate, apparirà automaticamente la finestra del programma di analisi degli spettri, mostrando lo spettro dell'aria nella cella. Ritornare al programma di acquisizione, aprire la cella e inserire velocemente il campione sul supporto, richiudendo poi il coperchio. Selezionare "**S**" (Sample) in alto a sinistra: si avvia l'acquisizione del segnale con gli stessi parametri impostati per il background.
 - 9) A scansione ultimata, passare nuovamente al programma di analisi mediante l'icona sulla barra di avvio del desktop: viene visualizzato l'ultimo spettro acquisito in ordine cronologico (quelli precedenti sono tenuti in memoria nel menu a tendina a sinistra dello spettro).
 - 10) Nel programma di analisi, la prima riga di comandi riguarda la gestione dei files. La seconda serve a modificare la visualizzazione dello spettro (allargamento della finestra, zoom, eccetera).
- La terza riga riguarda direttamente l'elaborazione dello spettro. I comandi più importanti sono:
- la correzione della linea di base, che si effettua con la prima icona a sinistra;
 - l'assegnazione dei picchi di interesse, mediante il pulsante in cui le bande sono segnate con delle barrette gialle
- 11) Per correggere ovvero allineare la linea di base, si utilizza il puntatore "a siringa" per portare la linea orizzontale che appare inizialmente alla base dei picchi principali; il risultato è mostrato in anteprima nella seconda finestra sottostante.
 - 12) L'assegnazione dei picchi può essere fatta portando la barra verticale sopra i picchi di interesse e clickando poi il tasto "**Add**" sulla destra.
 - 13) Per stampare lo spettro, ricordarsi di selezionare lo switch nella posizione A o B a seconda del pc in uso.

Preparazione di un campione solido su supporto di KBr per analisi IR

- 1) Nel mortaio di agata porre KBr per IR ed il campione in rapporto 100 a 2 circa (ex. 100 mg di KBr e 2 mg di campione)
- 2) Pestare finemente e rendere omogeneo il sistema utilizzando il pestello
- 3) Avvitare una vite fino a metà corsa nel corpo metallico del pastigliatore
- 4) Con l'ausilio di una spatolina depositare all'interno della cavità del pastigliatore una quantità di miscela sufficiente a coprire la faccia della vite.
- 5) Bloccare il pastigliatore nella morsa e serrare le viti con la chiave dinamometrica

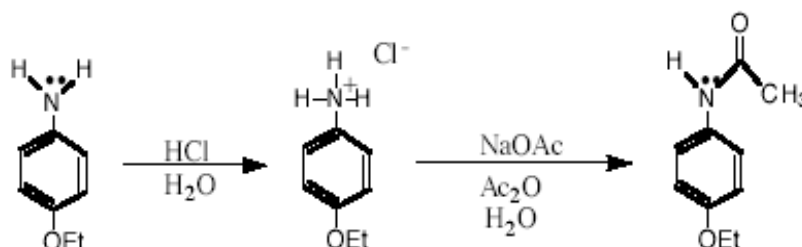
(A) Esempio del quaderno di laboratorio – didattico (Esperienze 1, 2, 3)

lunedì, 30.02.2025

Brambilla Fumagalli

gruppo 9

pagina n.5

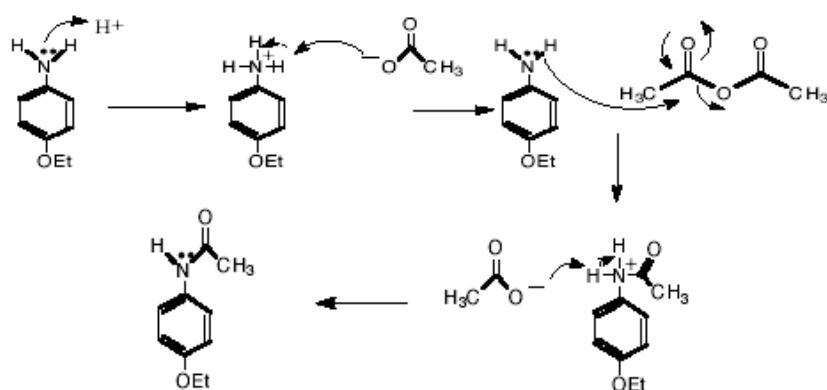
ESPERIENZA n X: sintesi della fenacetinaSCHEDA PRELAB (da compilare PRIMA del laboratorio)**scopo:** preparare la fenacetina a partire dalla p-etossianilina**schema di reazione:****Tabella dei reagenti e prodotti**

Nome	Quantità (g o ml)	Peso molecolare (g/mol)	Quantità (mmoli)	Equivalenti (equiv)	Densità (g/mL)	Punto di ebollizione/fusione	Indicatori H e P
Reagente 1							
Reagente 2							
...							
Prodotto							

Resa teorica (calcoli):0.025 mol di p-etossi anilina $\longrightarrow$ 0.025 moli di fenacetina

grammi di fenacetina attesi= 0.025 x 179.22 = 4.48 g (resa teorica)

Meccanismo proposto



PROCEDURA e OSSERVAZIONI (da compilare IN laboratorio)

“Reagente 1 (1 g, 0,22 mmol, 1 equiv) è stato sciolto in metanolo (10 mL). La soluzione è stata poi raffreddata a 0°C tramite bagno di ghiaccio e il reagente 2 (0,2 mL, 0.44 mmol, 2 equiv) è stato aggiunto gocciolandolo sotto agitazione.

Dopo 10 minuti il bagno di ghiaccio è stato rimosso e l'andamento della reazione è stato seguito tramite TLC (8:2 PE : EtOAc). Dopo 1 ora si forma un precipitato bianco e dopo 2 ore la reazione ha raggiunto completezza. Il solido è stato filtrato su buchner, lavato, asciugato all'aria e successivamente purificato tramite colonna cromatografica (9:1 PE : EtOAc, colonna 20 x 3 cm). Si evaporano le frazioni 7-18 e si ottiene il prodotto desiderato X come un solido cristallino bianco (0.4 g, 58% di resa). La resa notevolmente inferiore alla resa teorica può essere imputata alla procedura di filtrazione, che ha portato alla perdita di prodotto rimasto sul filtro e non recuperato.

Caratterizzazione

-**analisi TLC** : eluente e calcolo degli R_f, disegno della lastrina

-**analisi ¹H-NMR**: tubo preparato con 10 mg di prodotto sciolti in 0,65 mL di CDCl₃.

spettro: MM_esp1_5_1HNMR

segnale	δ (ppm)	molteplicità	J (Hz)	integrale	gruppo
1. (ordine ppm)	8,45 (2 decimali)	s:singoletto d:doppio t:tripletto	1.8 (1 decimale)	0.9 (1)	CH

		q:quartetto m:multipletto			
...					

lo spettro $^1\text{H-NMR}$ (MM_esp1_5_1HNMR): $\delta(\text{CDCl}_3, \text{TMS})$ = chemical shift (molteplicità, J, n di protoni, assegnazione) mostra.....-commenti-

-analisi IR: pastiglia di KBr , spettro MM_esp1_5_IR

IR (KBr, FT-IR) solo le bande diagnostiche

picco	$\nu \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	intensità	tipo	legame
1. (ordine numero d'onda)	1653 (0 decimali)	s: strong m: medium w: weak	stretch, bend in plane bend out of plane	C=O
....				

lo spettro IR (MM_esp1_5_IR) mostra assorbimenti nelle zone.....attribuibili a

-analisi GC-MS: pochi mg di prodotto sono stati sciolti in 0.5 mL di CH_2Cl_2 e sono stati iniettati nel GC con il seguente programma di temperatura: T_{inj} , T_{det} , T_{iniz} , rate, T_{fin} . si ottiene il cromatogramma MM_esp1_5_GCMS (iniziali-numero esperienza-pagina del quaderno, tipo di analisi).

GC-MS (colonna, programma di temperature) ione molecolare, pico base, frammenti riconoscibili

picco	Tempo di ritenzione (min)	Massa osservata
1. (ordine tempo di ritenzione)	6,47	Tutti i frammenti
...		

l'analisi GC-MS (MM_esp1_5_GCMS) conferma la purezza del prodotto perchè si osserva un unico picco con tempo di ritenzione= 6.40 min. Nella frammentazione di massa si individuano: lo ione molecolare am/z e cammini di frammentazione tipici

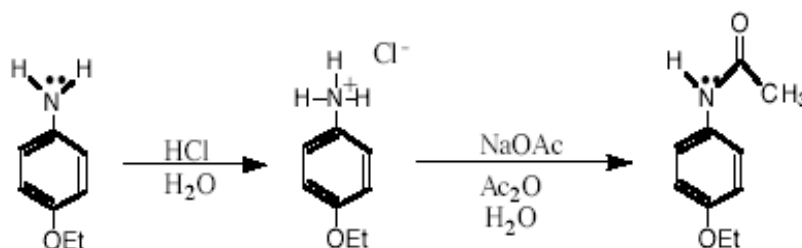
(B) Esempio Procedura sperimentale (Esperienze 4, 6)

lunedì, 30.02.2025

Brambilla Fumagalli

gruppo 9

pagina n.5

ESPERIENZA n X: sintesi della fenacetinaSCHEDA PRELAB (da compilare PRIMA del laboratorio)**scopo:** preparare la fenacetina a partire dalla p-etossianilina**schema di reazione:****Tabella dei reagenti e prodotti**

Nome	Quantità (g o ml)	Peso molecolare (g/mol)	Quantità (mmoli)	Equivalenti (equiv)	Densità (g/mL)	Indicatori H e P
Reagente 1						
Reagente 2						
...						
Prodotto						

PROCEDURA e OSSERVAZIONI (da compilare IN laboratorio)

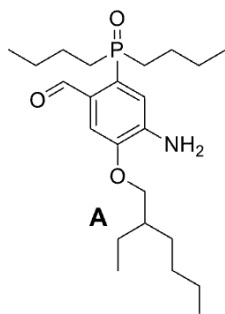
La procedura si scrive in modo simile a quella del quaderno (leggermente più condensata), ma non si riportano copie di tlc, o quante tlc sono state fatte.

Le caratterizzazioni si scrivono in **forma condensata** subito sotto la procedura sperimentale (nell'ordine NMR, IR, MS)

A questo punto si riportano copie degli spettri e infine copie delle tlc

Qui un esempio:

2.1.4 Synthesis of A



Compound **3** (100 mg, 0.305 mmol, 1 equiv) was mixed with the phosphine oxide **9** (99 mg, 0.610 mmol, 2 equiv), CuI (58 mg, 0.305 mmol, 1 equiv) and Na₂CO₃ (65 mg, 0.610 mmol, 2 equiv) in 3 ml of degassed toluene (N₂ bubbling, 15 min) and stirred overnight in the dark at 110 °C under inert atmosphere. The reaction mixture was extracted with brine/EtOAc (4x) dried over Na₂SO₄ and the solvent evaporated. The crude product was purified through column chromatography (EtOAc), yielding pure **A** (60 mg, 48% yield).

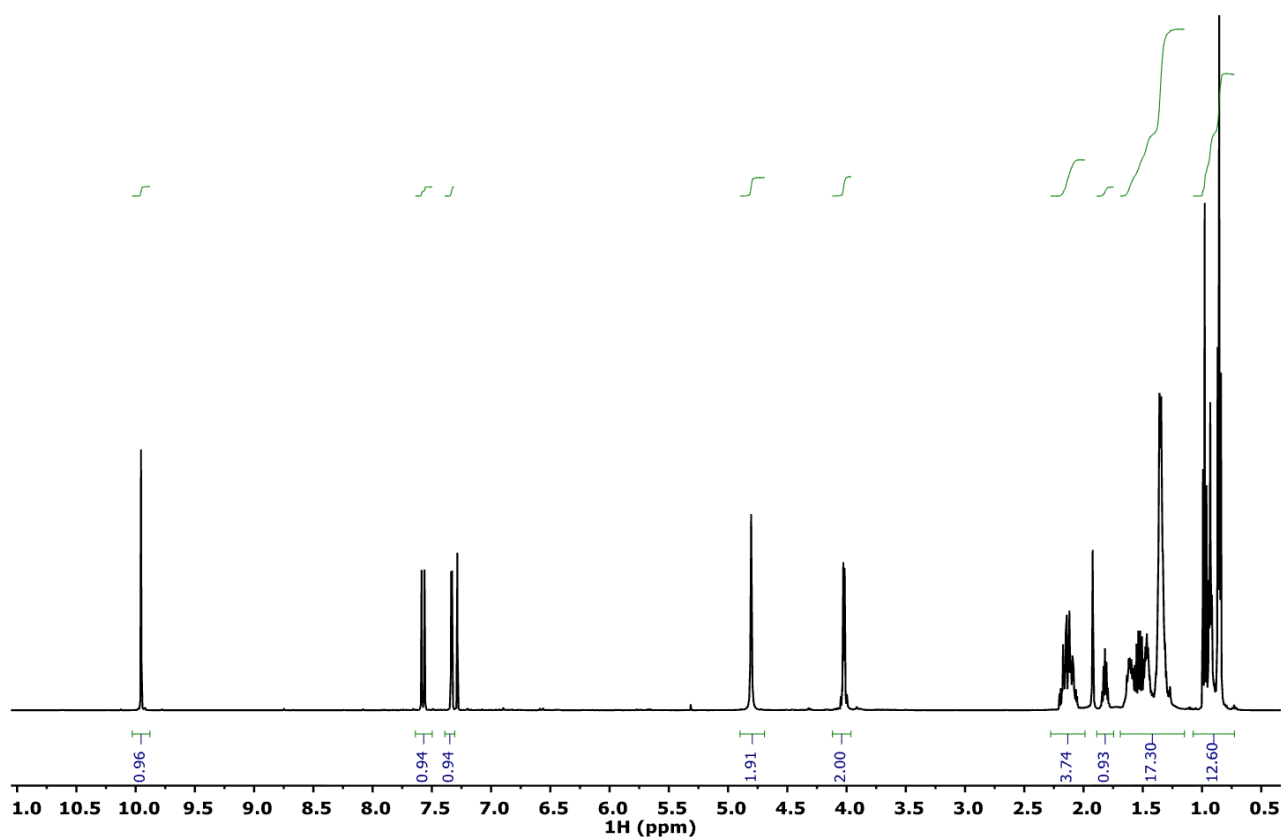
¹H-NMR (500 MHz, chloroform-*d*) δ 9.95 (s, 1H), 7.57 (d, *J* = 12.49 Hz, 1H), 7.33 (d, *J* = 3.75 Hz, 1H), 4.81 (s, 2H), 4.02 (dd, *J* = 5.64, 1.77 Hz, 2H), 2.39 – 2.01 (m, 4H), 1.81 (m, *J* = 6.01 Hz, 1H), 1.72 – 1.17 (m, 17H), 1.09 – 0.58 (m, 1H).

¹³C-NMR (126 MHz, chloroform-*d*) δ 190.29 (d, *J* = 2.4 Hz), 146.85 (d, *J* = 2.62 Hz), 142.24 (d, *J* = 12.1 Hz), 127.81 (d, *J* = 53.70 Hz), 127.46 (d, *J* = 21.1 Hz), 120.29 (d, *J* = 7.5 Hz), 116.69 (d, *J* = 10.2 Hz), 71.01, 39.41, 30.64, 29.71, 29.16, 29.10, 24.16, 24.04, 23.89, 23.86, 23.01, 14.07, 13.64, 11.19.

³¹P-NMR (202 MHz, methanol-*d*₄) δ 50.19.

HRMS(ES⁺): Calculated for C₂₃H₄₁NO₃P 410.2824 a.m.u.; found 410.2698

IR (ν_{max}, KBr): 3375, 2980, 1689, 1505, 1341, 1383, 1250, 1164



Si riportano qui sotto gli altri spettri effettuati e una copia delle TLC rilevanti. Eventuali commenti alla reazione vengono aggiunti qui sotto (ad esempio motivazioni per la scarsa resa oppure considerazioni riguardanti gli spettri, etc).

(C) Composto incognito (Esperienza 5)

lunedì', 30.02.2025

Brambilla Fumagalli

gruppo 9

pagina n.5

ESPERIENZA n 5: Composto incognito

Il composto incognito (Esperienza 5) andrà riportato mostrando chiaramente i ragionamenti fatti per arrivare all'identificazione. Inoltre sarà necessario evidenziare eventuali strutture candidate che sono state scartate, fornendo adeguate motivazioni. Qui sotto un suggerimento su come svolgerlo:

_ Riportare formula bruta del composto incognito scelto e la struttura ipotizzata

_ Elencare in tabella le caratterizzazioni NMR e IR

!! NMR fornisce informazioni sullo scheletro della molecola: bisogna sempre riportare ppm (solo i multipletti si definiscono da un intervallo di ppm), integrale, molteplicità e J. Quando possibile bisogna assegnare i segnali.

_ Iniziare calcolando i gradi di insaturazione della molecola

_ Riportare i gruppi funzionali suggeriti da IR – insaturazioni ed NMR e poi spiegare la struttura ipotizzata: è molto importante fare emergere il ragionamento fatto per arrivare alla molecola scelta. Inoltre ricordate di controllare la presenza di isomeri o possibili alternative e spiegate perché non vengono scelti oppure perché potrebbero essere delle ipotesi alternative sensate.