

Università di Padova
Corso di Laurea in FARMACIA

Analisi dei Medicinali

Guida al laboratorio
Parte chimica



Edizione AA 2023/2024

Indice

Indice	3
PARTE GENERALE INTRODUTTIVA.....	5
SEPARAZIONE DELLE FASI COMPONENTI UNA MISCELA ETEROGENEA	8
ANALISI PRELIMINARI.....	9
SAGGI PRELIMINARI: INTRODUZIONE.....	Errore. Il segnalibro non è definito.
RICERCA DEL CARBONIO.....	Errore. Il segnalibro non è definito.
RICERCA DEI CARBONATI	Errore. Il segnalibro non è definito.
SAGGIO DEL COCCIO.....	Errore. Il segnalibro non è definito.
RICERCA DELL'AZOTO E DELLO ZOLFO (LASSAIGNE). Errore. Il segnalibro non è definito.	
RICERCA DEL FOSFORO (*).....	9
SAGGIO DI SOLUBILITÀ.....	12
RICERCA DEI GRUPPI FUNZIONALI	13
SOSTANZE ORGANO-METALLICHE E SALI DI ACIDI GRASSI ORGANICI	16
SOTTOGRUPPO I - Divisione - (C-H-O)	18
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 1 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	19
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 2 –SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	21
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 3 –SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	23
SOTTOGRUPPO II (C – H – O – P).....	24
SOTTOGRUPPO III (C – H – O – N).....	25
SOTTOGRUPPO V (C – H – O – N – S).....	27
SOSTANZE ORGANICHE.....	34
INTRODUZIONE.....	34
SOTTOGRUPPO I (C– H–O)	35
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 1 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	38
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 2 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	40
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 3 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	45
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 4 – SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)	46
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 5 – SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA (C-H-O).	Errore. Il segnalibro non è definito.
Sottogruppo II (C-H-O-N)	49
Sottogruppo II – TAVOLA 1 –(C – H – O – N).....	50

Indice

Sottogruppo II – TAVOLA 2 –(C – H – O – N).....	53
Sottogruppo II– TAVOLA 3 – (C – H – O – N).....	55
Sottogruppo II – TAVOLA 4 –(C – H – O – N).....	57
Sottogruppo II – TAVOLA 5 – (C – H – O – N).....	61
Sottogruppo II – TAVOLA 6 –(C – H – O – N).....	63
Sottogruppo III (C – H – O – N – S).....	64
Sottogruppo III –TAVOLA 1– (C–H–O–N–S)	65
Sottogruppo III – TAVOLA 2 –(C – H – O – N – S)	Errore. Il segnalibro non è definito.
Sottogruppo III – TAVOLA 3 –(C – H – O – N – S)	73
SOTTOGRUPPO III – TAVOLA 4 –(C – H – O – N – S)	76
CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE (TLC).....	77
PUNTO DI FUSIONE	82
UTILIZZO DEL POLARIMETRO	87
UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV–VIS	90
Elenco delle sostanze con spettri UV caratteristici	95
UTILIZZO DELLA CENTRIFUGA	98
UTILIZZO DEL pH–METRO.....	98
UTILIZZO SPETTROFOTOMETRO FT-IR.....	100
MATERIALE PER INTERPRETAZIONE SPETTRI NMR	104
APPENDICE.....	107
ELENCO DEI REATTIVI.....	107
NORME PER LO SMALTIMENTO DEI RIFIUTI.....	110
NORME DI SICUREZZA	111
APPENDICE II.....	Errore. Il segnalibro non è definito.
INDICE SOSTANZE.....	Errore. Il segnalibro non è definito.

PARTE GENERALE INTRODUTTIVA

Le sostanze che vengono fornite per l'analisi sono dei farmaci e, se non specificato altrimenti, sono singoli composti e non miscele; il loro riconoscimento consiste nell'accertare l'identità del farmaco stesso mediante varie prove che possono essere di natura sia chimica che fisica. Molto spesso una sola prova positiva non basta (molte reazioni sono comuni o i loro risultati si assomigliano, specie per i composti organici) e quindi la sicurezza del riconoscimento si basa su di una serie di risultati che, verificandosi positivamente "in cascata" per lo stesso campione, aumentano la probabilità della sua identificazione, portando ad una ragionevole sicurezza.

Il metodo seguito in questa guida si basa sulla suddivisione delle sostanze da analizzare in gruppi distinti e nell'effettuazione di prove generali che consentano di scartare immediatamente i gruppi che danno una risposta preliminare negativa, restringendo il campo di analisi al solo gruppo con risultato positivo; questo criterio viene applicato in successione, sino ad avere un numero molto limitato di sostanze da esaminare, rendendo così la ricerca più semplice e facile. Per procedere correttamente è necessario che i saggi preliminari, quelli che consentono di orientarci tra un gran numero di sostanze, siano fatti bene e che la loro risposta sia esente da dubbi. In caso contrario, si può studiare un gruppo che, pur non comprendendo la sostanza, ha composti simili, in grado di dare reazioni solo apparentemente positive. Può anche accadere che non si trovi alcunché. In questi casi è opportuno ricominciare da capo cercando di individuare l'errore commesso.

AVVERTENZE GENERALI:

Nella guida sono indicate le quantità di sostanza (mg) da analizzare; si tratta di una semplice indicazione e **non si deve pesare!**

Ci si può orientare tenendo presente che la presa effettuata con una normale spatolina di laboratorio corrisponde a circa 20–50 mg, a seconda delle dimensioni della spatolina, della densità reale della sostanza e della mano ferma dell'operatore.

Le concentrazioni degli acidi e delle basi sono sempre indicate in molarità: in questo modo è più facile provvedere alle diluizioni. Sono disponibili in laboratorio (sotto le cappe) ammoniacca $\approx 6M$ e gli acidi: acetico ($\approx 16 M$), cloridrico (≈ 12 e $\approx 2M$), nitrico

(≈ 15 , ≈ 4 e $\approx 2M$) e solforico ($\approx 18M$). Quest'ultimo di norma **non viene diluito dagli studenti**: è quindi disponibile acido solforico 1M (nel banco individuale).



Si ricordi la vecchia regola: **“Mai dare da bere agli acidi!”**, il che significa che per fare una diluizione, non si deve mai versare acqua su un acido concentrato, ma sempre lentamente l'acido nell'acqua e sotto cauta, ma ferma e costante agitazione; in questa maniera, se la reazione di dissoluzione dell'acido fosse fortemente esotermica, bollirebbe e schizzerebbe l'acqua (o al più l'acido ancora diluito), che è ovviamente molto meno aggressiva di eventuali schizzi di acido concentrato bollente! Non si dimentichi che anche le basi forti e le loro soluzioni concentrate hanno un analogo comportamento esotermico.



Ovviamente, se il liquido arriva in contatto con la persona, la regola non vale: l'immediato uso di un **forte getto di acqua** del rubinetto (o, se del caso, del lavaocchi o della doccia d'emergenza) risolve ogni problema di sviluppo di calore e di allontanamento del corrosivo.

Questo è l'unico caso in cui (data l'emergenza) è consentito far scendere volontariamente negli scarichi qualsiasi inquinante.

In linea di massima, la vetreria deve essere asciutta solo quando:

si usano acidi concentrati

b) si usano reattivi particolari (ad es. anidride acetica, piridina anidra)

c) si effettuano reazioni ad alta temperatura

Dovendo prepararvi soluzioni acquose **non è necessario** asciugare la vetreria, sarebbe solo uno spreco di tempo, ovviamente se si ha l'accortezza che l'ultimo risciacquo sia fatto con acqua deionizzata. A meno che non si debba preparare pochissima soluzione concentrata, nel qual caso la soluzione, dato il piccolo volume, si diluirebbe per effetto dell'acqua che è rimasta a bagnare la provetta.

NOTA BENE: nella descrizione delle singole reazioni o prove, quando il significato è comunque chiaro, sono omesse, molte volte, le parole: “soluzione di”.

Quindi la frase: “aggiungere 3 gocce di XY” va intesa come “aggiungere 3 gocce di soluzione di XY”, e tale soluzione è presente in reagentario.

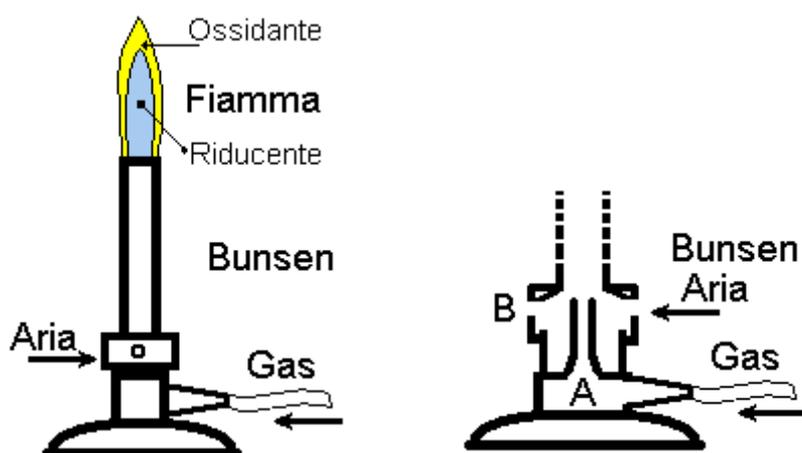
Invece le frasi: “aggiungere una punta di spatola di WZ” o “aggiungere 3 gocce di JK”, se WZ è un solido e JK è un liquido, hanno il significato letterale.

FIAMMA A GAS

Nel laboratorio di chimica il più comune mezzo di riscaldamento a gas è costituito dalla lampada di Bunsen (detta anche becco Bunsen). Il gas uscendo dall’ugello (A) richiama aria dai fori laterali (B) e regolando l’apertura di tali fori si può variare la composizione della miscela aria–gas, realizzando così una diversa combustione del gas in uscita e quindi una diversa temperatura della fiamma.

7

Se si lascia acceso per (pochissimo tempo) il Bunsen e non è in uso, va lasciata la fiamma luminosa.



Attenzione: un oggetto scaldato sulla fiamma del Bunsen rimane **caldo** per un certo tempo, spesso più a lungo di quanto si può supporre.

Inoltre, talvolta la fiamma del Bunsen distrattamente posizionato lambisce oggetti, come filtri o altri pezzi di carta che prendono fuoco o reticelle, manici del bagnomaria ecc. che si scaldano senza che si sia desiderato farlo e senza che lo si sappia.



Le più comuni lesioni fisiche accidentali che si riscontrano nel nostro laboratorio sono le **scottature**. Rivolgersi al più presto ai Docenti per un’applicazione di pomata antiscottature e/o quant’altro sarà da loro stimato necessario. Così pure in caso di altri incidenti con danno fisico. Certe volte è obbligatorio accompagnare l’infortunato al Pronto Soccorso ed avere la relativa refertazione. In altri casi, pur lievi, come, per esempio, un banale taglietto, è obbligatorio rivolgersi al più presto ai Docenti.

SEPARAZIONE DELLE FASI COMPONENTI UNA MISCELA ETEROGENEA

Un solido polverulento ed un liquido a contatto tra di loro vengono separati o per decantazione o per filtrazione o per centrifugazione.

La **decantazione** consiste nel lasciare depositare il solido sul fondo del recipiente (beuta o bicchiere) e asportare il liquido cautamente, per esempio con una pipetta.

La **filtrazione** consiste nel versare la miscela eterogenea (liquido + solido) in un imbuto nel quale viene disposto un disco di carta da filtro opportunamente piegata. Il liquido viene raccolto in una provetta o in una beutina.

La **centrifugazione** viene eseguita al posto della filtrazione e consiste nella separazione di un precipitato da un liquido con l'aiuto della forza centrifuga. Si utilizza a questo scopo una apparecchiatura chiamata centrifuga. Alla fine della centrifugazione (2 min circa) il liquido supernatante può essere prontamente rimosso mediante l'uso di una pipetta Pasteur (pipetta di vetro).

L'**evaporazione** serve per eliminare in tutto (tirare a secco) o in parte (ridurre il volume) il solvente da una soluzione. Si effettua generalmente in capsule di porcellana o in provette da saggio corte e larghe, a fiamma diretta o su bagno maria. Tale operazione, quando i vapori che si liberano possono essere dannosi, si effettua sotto cappa, con l'aspirazione in funzione.

La **calcinazione** si effettua sul residuo dell'evaporazione o su sostanza solida direttamente per eliminare componenti volatili o per carbonizzare le sostanze organiche e si esegue su capsula di porcellana e a fiamma diretta con il bunsen. Tale operazione si effettua sotto cappa, con l'aspirazione in funzione, quando i vapori che si liberano possono essere dannosi.

loro (immiscibili). Il cloroformio ha densità maggiore e stratifica sotto.

ANALISI PRELIMINARI

RICERCA DEL FOSFORO

Si MESCOLINO ACCURATAMENTE 50 mg di sostanza con 120–150 mg di sodio carbonato e 50 mg di potassio nitrato; si ponga la miscela in una capsula di porcellana; si fonda su bunsen cercando di eliminare il più possibile la parte carboniosa (la presenza di alcuni residui scuri non pregiudica il risultato). Si riprenda il residuo con 2–3 ml di acqua e si acidifichi leggermente con acido acetico glaciale; se necessario si centrifughi, si divida la soluzione in tre parti:

- a) 10 gocce di soluzione neutralizzate con 1–2 gocce di ammoniaca 2M danno con 2 gocce di soluzione di argento nitrato un precipitato GIALLO di argento fosfato.
- b) in una provetta a 10 gocce di soluzione si aggiungono 5 gocce di acido nitrico 1M; in un'altra provetta si pongano 20 gocce di soluzione di ammonio molibdato. Le due provette vengono poste a bagnomaria (70°C) per alcuni minuti. Si versa la soluzione acida del campione nella soluzione di molibdato: si ottiene un precipitato GIALLO.
- c) a 10 gocce di soluzione si aggiungano 3–4 gocce di soluzione di miscela magnesiaca (controllare che la soluzione sia alcalina, eventualmente si aggiunga una goccia di ammoniaca 2M): un precipitato bianco cristallino indica la presenza di fosforo.

N.B. In queste prove possono formarsi precipitati di vario colore, per lo più bianco sporco o marroncino: si tratta di indicazioni negative dovute al fatto che, in assenza di fosforo, la parte organica, non ben sottoposta a mineralizzazione, contiene sostanze che reagiscono dando questi precipitati non ben classificabili.

In sostanza la prova DEVE ESSERE CHIARA per essere considerata positiva.

RICERCA DEL CLORO

Anche se le sostanze organiche/organometalliche non sono raggruppate in funzione della presenza di alogeni (cloro), la loro individuazione può essere utile; da ricordare

che questo è però un dato accessorio, molto meno importante della ricerca dell'azoto e dello zolfo.

In una sostanza organica il cloro può trovarsi sia sotto forma di ione cloruro (ad esempio in un cloridrato) sia in combinazione organica. Mediante opportune reazioni è possibile accertarne la presenza in una sostanza organica e stabilirne la natura.

1) Ricerca preliminare con filo di rame:

(Cloro sia ionico che in combinazione organica)

Si arroventa il filo di rame alla fiamma nella zona ossidante in modo che si ricopra di ossido (è necessario che il rame sia ossidato) e lo si lascia raffreddare; si raccoglie un poco di sostanza e la si porta alla fiamma: in presenza di cloro si ha una evidente colorazione verde.

Questa reazione è molto sensibile e se una sostanza priva di cloro contiene anche tracce di cloruri come impurezza, può risultare positiva. Bisogna che la prova sia molto evidente e comunque occorre confermare il risultato con le prove seguenti.

2) Ricerca con biossido di manganese:

(cloro sia ionico che in combinazione organica)

In una provetta asciutta si mettono 50 mg di sostanza e 200 mg di manganese biossido, si mescola bene e si arroventa la provetta alla fiamma del bunsen sotto cappa per 2–3 minuti, quindi si rompe la provetta calda in 5 ml di acqua. Si acidifica la miscela con acido acetico glaciale e si filtra. Aggiungendo al filtrato 1–2 gocce di soluzione di argento nitrosi ha formazione di un precipitato bianco, insolubile anche dopo aggiunta di 1–2 gocce di acido nitrico concentrato, ma solubile in ammoniacale 3M.

SAGGIO DI SOLUBILITÀ

La solubilità di una sostanza è una delle principali caratteristiche che ci consente di suddividere i composti in vari gruppi a seconda della loro solubilità in acqua, acidi diluiti, ecc.

Il saggio di solubilità è quindi molto importante, esso si effettua come segue:

A 10 mg di sostanza si aggiungono 20 gocce di acqua e si agita senza riscaldare: si osserva se la sostanza si scioglie. In caso contrario si riscalda leggermente. Le sostanze classificate come “insolubili” non si sciolgono per niente, anche in grandi quantità di solvente; può accadere invece che una sostanza “solubile” non vada del tutto in soluzione, perché la quantità della sostanza che è stata usata è eccessiva, con saturazione del solvente. In questo caso è bene, più che diluire, ripetere ex novo la prova usando una quantità di sostanza molto inferiore.

RICERCA DEI GRUPPI FUNZIONALI

RICERCA DEL GRUPPO CARBONILICO.

1) reazione con 2,4–dinitrofenilidrazina: a 30–40 mg di sostanza disciolta in 0,5 ml di acqua o, se la sostanza è insolubile in acqua, in un eguale volume di alcool etilico, si aggiungono 2 ml di una soluzione satura di 2,4–dinitrofenilidrazina in acido cloridrico 2M. Se, dopo agitazione non si forma precipitato si porta all'ebollizione in bagno maria per alcuni minuti. Un precipitato, in genere dal giallo al rosso, indica la presenza del gruppo carbonilico.

2) reazione con resorcina: si mescolino 10 mg di sostanza con 20 mg di resorcina e 40 gocce di acido solforico concentrato in una provetta asciutta e la si tenga in bagno di glicerina a 130–140°C per un tempo fino ad un massimo di 10 minuti: o entro i 10 minuti si ha la reazione voluta o è inutile insistere. Si osservi la colorazione, che può svilupparsi anche **sin dall'inizio** del riscaldamento, appena ottenuta la colorazione si tolga la provetta dal bagno di glicerina; poi si versi il contenuto della provetta in circa 50 ml di acqua, se ne prelevino circa 0,5 ml, si diluisca con circa 10 ml di acqua, si alcalinizzi con sodio idrossido 10M e si osservi la fluorescenza alla lampada UV.

RICONOSCIMENTO DEL CARATTERE RIDUCENTE.

1) reazione con ammonio molibdato: a 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua, si aggiungano 2 gocce di acido cloridrico 2M e 10 mg di ammonio molibdato; per riscaldamento si ottiene una colorazione azzurra molto intensa.

2) reazione di Fehling: il reattivo di Fehling si prepara mescolando immediatamente prima dell'uso 5 gocce di soluzione di Fehling A e 5 gocce di soluzione di Fehling B. A questa soluzione si aggiungono 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua: riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso–bruno.

3) reazione di Tollens: il reattivo di Tollens si prepara al momento dell'uso ponendo in una provetta ben pulita 10 gocce di soluzione di argento nitrato e aggiungendo sodio

idrossido 1M goccia a goccia; si forma un precipitato che viene sciolto aggiungendo goccia a goccia e agitando ammoniaca 6M.

A circa 10 mg di sostanza in esame sciolta in 10 gocce di acqua si aggiungono 4–6 gocce di reattivo di Tollens. Ponendo a bagno maria bollente per circa 10 minuti si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.

RICERCA DEL GRUPPO FENOLICO.

1) reazione cromatica con ferro cloruro: a 10 mg di sostanza sciolta in acqua o in alcool etilico si aggiungono 1–2 gocce di ferro cloruro. Moltissimi fenoli danno colorazioni violette, rosse, rosso aranciato, a freddo o a caldo.

2) reazione con urotropina: si mescolano 10 mg di sostanza con pari quantità di urotropina e 10 gocce di acido solforico concentrato. Si pone in bagno di glicerina per un tempo fino a 10 minuti a 130°C: si nota la comparsa di una colorazione rossa.

RICERCA DEL GRUPPO AMMINICO.

1) Ricerca del gruppo amminico primario aromatico.

1.1) Reazione con acido nitroso (formazione di coloranti azoici): a 5 mg di sostanza disciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M si aggiungono 5 gocce di sodio nitrito. Si raffredda in bagno di ghiaccio per alcuni minuti, si aggiungono quindi due spatoline di urea, si agita bene in modo da eliminare l'eccesso di nitrito, si aggiunge una goccia di sodio idrossido 10M e 5 gocce di soluzione di β -naftolo: si ottiene un precipitato rosso-arancio.

1.2) Formazione di basi di Schiff con para-dimetilaminobenzaldeide (p-DMAB): 5 mg di sostanza posti su carta da filtro e bagnati con una goccia di p-DMAB danno una colorazione arancione intensa; la formazione di leggere colorazioni gialle NON è una risposta positiva.

2) Ricerca del gruppo amminico primario alifatico.

2.1) Saggio con acetone e sodio nitroprussiato:

a 10 mg di sostanza in esame sciolta in 3 ml di acqua vengono aggiunti 1 ml di acetone, 3 ml di acqua e 2 gocce di soluzione di sodio nitroprussiato all'1%: entro 2 minuti si ha la comparsa di una colorazione violetta.

3) Ricerca delle basi xantiniche:

20 mg di sostanza, 10 gocce di acido cloridrico concentrato e 4–5 gocce di idrogeno perossido (33 volumi) vengono posti in una capsula di porcellana su bagno maria bollente; si evapora fino a secchezza e si raffredda. Al residuo si aggiungono alcune gocce di ammoniaca 3M: la formazione di una colorazione rosso porpora indica presenza di basi xantiniche.

SOSTANZE ORGANO–METALLICHE E SALI DI ACIDI GRASSI ORGANICI

Queste sostanze sono formate da una parte minerale, rappresentata dal metallo che esse contengono, e da una parte organica. Alla calcinazione al cocchio bruciano, carbonizzano e, quando la parte organica è stata completamente eliminata per combustione, lasciano un residuo fisso, dovuto alla parte inorganica. più precisamente costituito dall'ossido o, talvolta, dal carbonato del metallo presente.

Le sostanze organo–metalliche sono suddivise (*) nei seguenti sottogruppi, in funzione degli elementi, che esse contengono:

SOTTOGRUPPO	ELEMENTI CONTENUTI
Sottogruppo I	C – H – O
Sottogruppo II	C – H – O – P
Sottogruppo III	C – H – O – N
Sottogruppo IV	C – H – O – S
Sottogruppo V	C – H – O – S– N

(*) Nella “nostra” metodica, ma non in FUI.

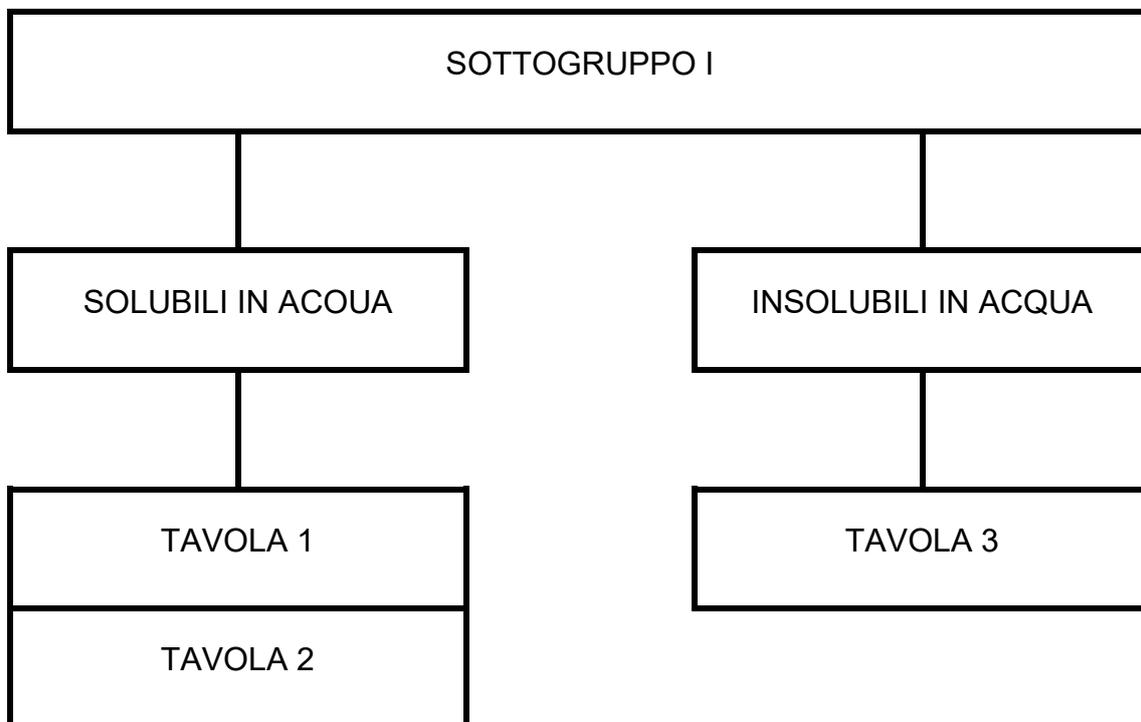
Pertanto, stabilito che la sostanza è organo–metallica, è indispensabile stabilire quali elementi essa contiene per una sua corretta classificazione. È necessario eseguire le prove di ricerca dell'azoto, zolfo e fosforo descritte nelle pagine successive.

N.B. Per verificare quale metallo è presente nella sostanza in esame NON conviene esaminare direttamente la sostanza alla fiamma, perché la parte organica, bruciando, nasconderebbe la colorazione del metallo. Il saggio alla fiamma si deve eseguire

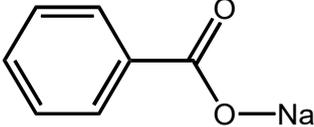
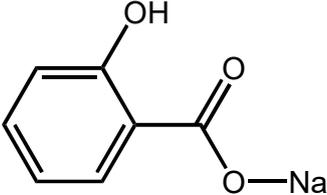
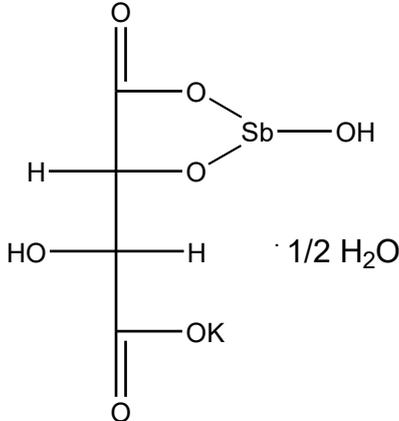
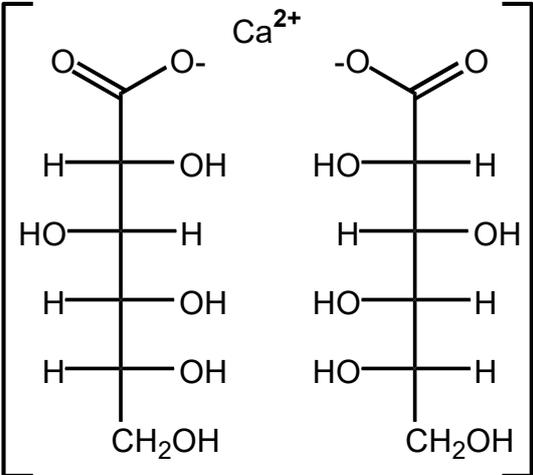
quindi sul residuo della calcinazione al coccio, cioè il prodotto della mineralizzazione al coccio della sostanza: questo darà una indicazione sicura.

SOTTOGRUPPO I - Divisione - (C-H-O)

Le sostanze organo-metalliche di questo sotto-gruppo si suddividono in base alla loro solubilità in acqua secondo lo schema seguente (per il saggio di solubilità vedi la parte introduttiva):



SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 1 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C-H-O)

Sottogruppo I Tavola 1	
Sodio benzoato	
Sodio salicilato	
Antimonio e potassio tartrato	
Calcio gluconato	

Saggio di gruppo

A 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acqua si aggiunge una goccia di soluzione di ferro cloruro:

1) FENOMENO OSSERVATO - PRECIPITATO ROSA–CARNE:

SODIO BENZOATO:

- 1) La sostanza calcinata al coccio dà un residuo che colora la fiamma in giallo persistente.
- 2) La sostanza, sciolta a caldo nella minima quantità di acqua, dopo raffreddamento e per l'aggiunta di 1–2 gocce di acido solforico 1M, dà un precipitato bianco di acido benzoico.
- 3) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

2) FENOMENO OSSERVATO - COLORAZIONE VIOLA:

SODIO SALICILATO:

- 1) La sostanza calcinata al coccio dà un residuo che colora la fiamma in giallo persistente.
- 2) La sostanza, sciolta a caldo nella minima quantità di acqua, dopo raffreddamento e per l'aggiunta di 1–2 gocce di acido solforico 1M, dà un precipitato bianco di acido salicilico.
- 3) 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di sodio bicarbonato al 2% presentano un'intensa fluorescenza azzurra alla luce UV.
- 4) Si mescolino 10 mg di sostanza con pari quantità di urotropina e 10 gocce di acido solforico concentrato e si tenga in bagno di glicerina per 10 minuti a 130°C: si nota la comparsa di una colorazione rossa.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

3) FENOMENO OSSERVATO - PRECIPITATO GIALLO:

ANTIMONIO E POTASSIO TARTRATO:

- 1) La sostanza per calcinazione al coccio lascia un residuo bianco che colora la fiamma in violetto (usare il vetrino blu al cobalto).
- 2) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 10 gocce di acqua: per aggiunta di una goccia di acido cloridrico 2M si ottiene un precipitato solubile in eccesso di reattivo. La soluzione

cloridrica a caldo, per aggiunta di 2–3 gocce di soluzione di tioacetamide dà un precipitato rosso–arancio.

3) Si mescolino 5 mg di sostanza con 5 mg di resorcina e 20 gocce di acido solforico concentrato e si tenga in bagno di glicerina a 130°C: nel giro di alcuni minuti si sviluppa una colorazione rosso–cupo.

4) FENOMENO OSSERVATO - COLORAZIONE GIALLA:

CALCIO GLUCONATO:

1) Solubilità: è lentamente solubile in 30 parti di acqua a 20°C ed in circa 5 parti a 100°C.

2) La sostanza per calcinazione al cocchio lascia un residuo che a sprazzi colora la fiamma in rosso mattone.

3) Si sciolgano a caldo 10 mg di sostanza in 1 ml di acqua, si raffreddi e s'aggiungano 4–5 gocce di soluzione di ammonio ossalato: si ottiene un precipitato bianco.

4) A 20 mg di sostanza si aggiungano 5 gocce di acido fosforico concentrato; si chiuda l'imboccatura della provetta con un pezzo di carta da filtro bagnata con una goccia di soluzione di anilina acetato. Riscaldando la provetta alla fiamma si ha formazione di una macchia rosso–viola sulla carta da filtro.

N.B.: La soluzione di ferro cloruro usata nel saggio di gruppo è già di per sé gialla e questa colorazione si può intensificare in presenza di altre sostanze. Pertanto la colorazione gialla non è indice sicuro della presenza del Calcio gluconato: se le prove specifiche non risultano positive (specie la 5), si può proseguire alla tavola successiva. È anche opportuno eseguire una prova in bianco, confrontando la colorazione gialla ottenuta nel saggio di gruppo con quella di una soluzione formata da una goccia di soluzione di ferro cloruro addizionata solo di 20 gocce di acqua.

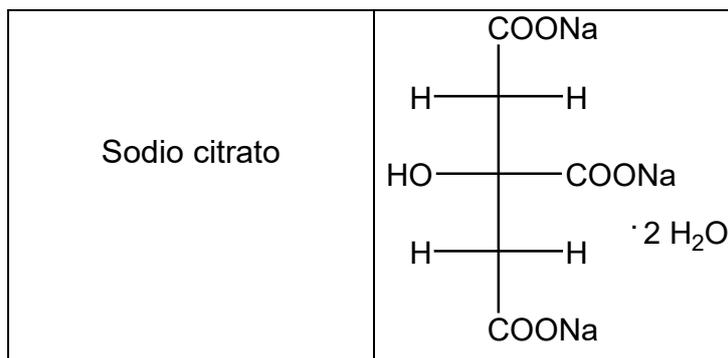
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 2 –SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C–H–O)

Saggio di gruppo:

20 mg di sostanza mescolati con una quantità doppia di resorcina e 20 gocce di acido solforico concentrato sono posti in bagno di glicerina a 130°C. Si osserva la colorazione assunta dalla massa. Dopo raffreddamento si versi in circa 50 ml di acqua. Si prelevi circa 1 ml di soluzione, lo si alcalinizzi decisamente con sodio idrossido 2M e si osservi alla lampada ultravioletta la fluorescenza. Alternativamente si può deporre alcune gocce della soluzione alcalina su carta da filtro ed osservare la macchia sotto luce UV.

1) **FENOMENO OSSERVATO:**

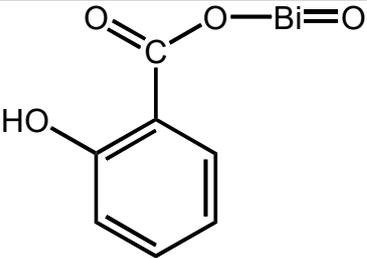
COLORAZIONE ROSSA FLUORESCENZA AZZURRA



SODIO CITRATO:

- 1) Il residuo della calcinazione al coccio colora la fiamma in giallo.
- 2) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 2 gocce di reattivo di Millon: si ha formazione di un precipitato bianco.
- 3) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 3 gocce di reattivo di Denigés, si scaldi all'ebollizione, si aggiungano 2–3 gocce di soluzione di potassio permanganato 0.02M: si ha decolorazione della soluzione e formazione di un precipitato bianco.

SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 3 –SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA (C–H–O)

Bismuto salicilato basico	
---------------------------	--

23

BISMUTO SALICILATO BASICO:

- 1) La sostanza per calcinazione al coccio lascia un residuo giallo–bruno che scurisce per riscaldamento, frammisto a goccioline di metallo.
- 2) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 20 gocce di acido cloridrico 2M a caldo:
 - a) a 5 gocce di soluzione si aggiungano 2–3 gocce di soluzione di sodio stannito (si prepara al momento dell'uso aggiungendo sodio idrossido 2M a 5 gocce di soluzione di stagno cloruro fino a che il precipitato bianco formatosi non sia completamente disciolto): per leggero riscaldamento si ottiene un precipitato nero
 - b) a 5 gocce di soluzione si aggiungano 3–4 gocce di soluzione di tioacetamide: per riscaldamento a bagnomaria si ottiene un precipitato nero, solubile in acido nitrico 2M a caldo
 - c) a 5 gocce di soluzione si aggiunga una goccia di soluzione di potassio ioduro: si ottiene un precipitato nero solubile in eccesso di reattivo e la soluzione si colora in giallo–arancio.
- 3) 10 mg di sostanza sospesi in 20 gocce di acqua danno un intensa colorazione viola con 1–2 gocce di soluzione di ferro cloruro.
- 4) Si mescolino 10 mg di sostanza con pari quantità di urotropina e 20 gocce di acido solforico concentrato e si tenga in bagno di glicerina per 10 minuti a 150°C: si ottiene una intensa colorazione rosso–viola.
- 5) 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di piridina al 10% danno una colorazione verde erba con 2 gocce di reattivo di Zwicker. Eventualmente si riscaldi a bagnomaria.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

SOTTOGRUPPO II (C – H – O – P)

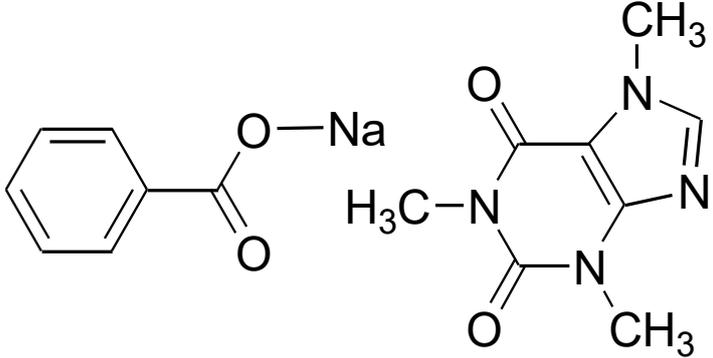
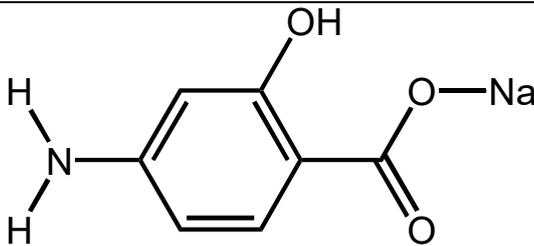
SOTTOGRUPPO II	
Calcio glicerofosfato	

24

CALCIO GLICEROFOSFATO:

- 1) Solubilità: solubile in 100 parti di acqua a 20°C.
- 2) Si sciolgono a freddo 30 mg di sostanza in 20 gocce di acqua; per riscaldamento si ottiene un precipitato gelatinoso.
- 3) 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua per aggiunta di ammonio ossalato danno un precipitato bianco di ossalato di calcio.

SOTTOGRUPPO III (C – H – O – N)

SOTTOGRUPPO III	
Caffeina e benzoato di sodio	
Sodio aminosalicilato	

Saggio di gruppo: A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungono 1–2 gocce di soluzione di ferro cloruro:

1) FENOMENO OSSERVATO - PRECIPITATO ROSA CARNE:

CAFFEINA E BENZOATO DI SODIO:

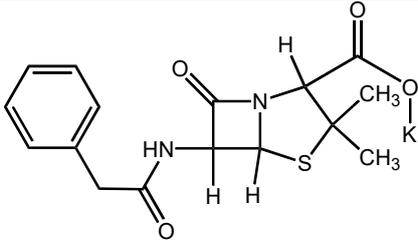
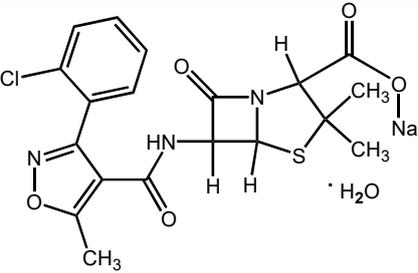
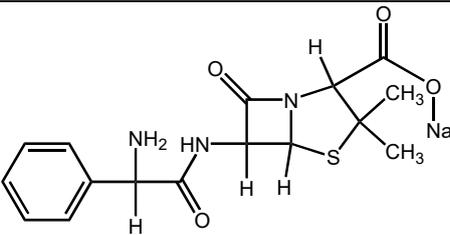
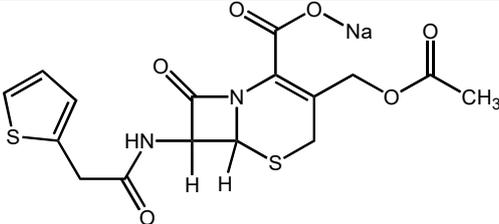
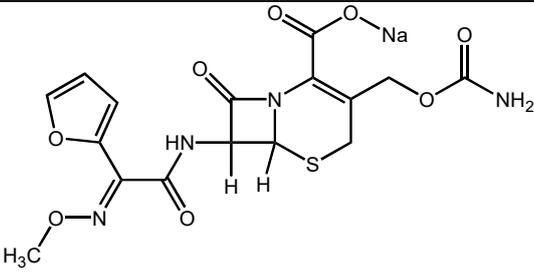
- 1) La sostanza lascia per calcinazione al cocchio un residuo bianco che colora la fiamma in giallo persistente.
- 2) In una capsula di porcellana si sciolgono 10–20 mg di sostanza in 10–20 gocce di acido cloridrico concentrato, si aggiungono 5–7 gocce di soluzione di idrogeno perossido a 33 volumi e si evapori a bagnomaria bollente; il residuo, raffreddato, viene addizionato di alcune gocce di ammoniaca 2M: si sviluppa una colorazione rosso-porpora.
- 3) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

2) FENOMENO OSSERVATO - COLORAZIONE ROSSO PORPORA:

SODIO AMINOSALICILATO:

- 1) Il residuo della calcinazione al coccio colora la fiamma in giallo persistente.
- 2) A 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M, raffreddati in ghiaccio, si aggiungano 3–4 gocce di soluzione di sodio nitrito, si mescoli bene e dopo 5 minuti si aggiunga, sotto agitazione, una punta di spatola di urea, allo scopo di eliminare l'eccesso di nitrito. Per aggiunta di 3–4 gocce di soluzione di α -naftilamina, si ottiene una colorazione o un precipitato rosso.
- 3) 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di piridina al 10% danno una colorazione verde con 2–3 gocce di reattivo di Zwikker.
- 4) Si mescolino 10 mg di sostanza con una pari quantità di urotropina e 10 gocce di acido solforico concentrato e si tenga in bagno di glicerina per 10 minuti a 130°C: si nota la comparsa di una colorazione rossa.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo .

SOTTOGRUPPO V (C – H – O – N – S)

Benzilpenicillina potassica	
Cloxacillina sodica	
Ampicillina sodica	
Cefalotina sodica	
Cefuroxima sodica	

BENZILPENICILLINA POTASSICA:

- 1) La sostanza è molto solubile in acqua.
- 2) La sostanza lascia per calcinazione al cocchio un residuo bianco che colora la fiamma in violetto (usare il vetrino blu al cobalto).
- 3) 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua danno per aggiunta di 1–2 gocce di acido acetico glaciale un ppt bianco non cristallino che tende ad aderire alle pareti.
- 4) La sostanza manifesta potere riducente dopo idrolisi alcalina o acida:

a) 5 mg di sostanza, sciolti in 15 gocce di acqua vengono addizionati di 3 gocce di sodio idrossido 0,5M; si lasci riposare per circa 1 minuto a temperatura ambiente e si aggiunga una goccia di acido acetico glaciale. Si aggiungano 3 gocce di reattivo iodio–saldato d'amido: il reattivo verrà immediatamente decolorato. Eseguire una prova in bianco senza penicillina.

b) 5 mg di sostanza, sciolti in 10 gocce di acqua vengono addizionati di 1–2 gocce di soluzione di acido fosfomolibdico: si ha immediatamente la formazione di un precipitato giallo. Riscaldando per alcuni secondi si ottiene una intensa colorazione azzurra.

c) a 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso–bruno.

d) a 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si scioglia il precipitato così ottenuto con poche gocce di ammoniaca concentrata). Si separa già a freddo argento metallico come specchio o come precipitato nero.

5) 50 mg si sciolgano in 60 gocce di acqua:

a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco sporco con una goccia di soluzione di ferro cloruro

b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con una goccia di reattivo di Denigés

c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con una goccia di reattivo di Millon

6) 2 mg di sostanza vengono mescolati con 2 mg di acido cromotropico e 2 ml di acido solforico concentrato (provetta asciutta!). Si agita e si riscalda la miscela a 150°C per 4 minuti in bagno di glicerina preriscaldato. Si ottiene una leggera colorazione bruna prima del riscaldamento che diventa gradualmente rosso–bruna e quindi bruno–nera dopo il riscaldamento.

7) La sostanza assorbe in UV, ma lo spettro NON è significativo.

8) La sostanza ha comportamento cromatografico.

CLOXACILLINA SODICA:

- 1) La sostanza è molto solubile in acqua.
- 2) La sostanza calcinata al cocchio lascia un piccolo residuo bianco che colora la fiamma in giallo persistente.
- 3) La sostanza manifesta potere riducente dopo idrolisi alcalina o acida:
 - a) 5 mg di sostanza, sciolti in 15 gocce di acqua vengono addizionati di 3 gocce di sodio idrossido 0,5M; si lasci riposare per circa 1 minuto a temperatura ambiente e si aggiunga una goccia di acido acetico glaciale. Si aggiungano 3 gocce di reattivo iodio–saldia d'amido: il reattivo verrà immediatamente decolorato. Eseguire una prova in bianco senza cloxacillina.
 - b) 5 mg di sostanza, sciolti in 10 gocce di acqua vengono addizionati di 1–2 gocce di soluzione di acido fosfomolibdico: si ha immediatamente la formazione di un precipitato giallo. Riscaldando per alcuni secondi si ottiene una intensa colorazione blu.
 - c) a 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso–bruno.
 - d) a 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciolga il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Già a freddo, senza porre a bagnomaria bollente, si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.
- 4) 50 mg si sciolgano in 60 gocce di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco sporco con una goccia di soluzione di ferro cloruro
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con una goccia di reattivo di Denigés
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con una goccia di reattivo di Millon
- 5) 2 mg di sostanza vengono mescolati con 2 mg di acido cromotropico e 2 ml di acido solforico concentrato (provetta asciutta!). Si agita e si riscalda la miscela a 150°C per 4 minuti in bagno di glicerina preriscaldato. Si ottiene una leggera colorazione bruna

prima del riscaldamento che diventa gradualmente rosso–bruna e quindi bruno–nera dopo il riscaldamento.

6) La sostanza assorbe in UV, ma lo spettro NON è significativo.

7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

AMPICILLINA SODICA:

1) La sostanza è molto solubile in acqua.

2) La sostanza calcinata al cocchio lascia un piccolo residuo bianco che colora la fiamma in giallo persistente.

3) 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua NON danno luogo ad alcun precipitato se addizionati di 1–2 gocce di acido acetico glaciale.

4) La sostanza manifesta potere riducente dopo idrolisi alcalina o acida:

a) 5 mg di sostanza, sciolti in 15 gocce di acqua vengono addizionati di 3 gocce di sodio idrossido 0,5M; si lasci riposare per circa 1 minuto a temperatura ambiente e si aggiunga una goccia di acido acetico glaciale. Si aggiungano 3 gocce di reattivo iodio–saldia d'amido: il reattivo verrà immediatamente decolorato. Eseguire una prova in bianco senza ampicillina.

b) 5 mg di sostanza, sciolti in 10 gocce di acqua vengono addizionati di 1–2 gocce di soluzione di acido fosfomolibdico: si ha immediatamente la formazione di un precipitato giallo. Riscaldando per alcuni secondi si ottiene una intensa colorazione blu.

c) a 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso–bruno.

d) a 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciolga il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Già a freddo, senza porre a bagnomaria bollente, si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.

e) a 5 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga una goccia di reattivo di Nessler: immediatamente non si forma alcun precipitato, ma dopo pochi secondi la soluzione si intorbida e si separa un precipitato nero.

5) 50 mg si sciolgano in 60 gocce di acqua:

- a) 10 gocce di soluzione non danno alcun precipitato con una goccia di soluzione di ferro cloruro
- b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con una goccia di reattivo di Denigés
- c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con una goccia di reattivo di Millon
- 6) 2 mg di sostanza vengono mescolati con 2 mg di acido cromotropico e 2 ml di acido solforico concentrato (provetta asciutta!). Si agita e si riscalda la miscela a 150°C per in bagno di glicerina preriscaldato. Si ottiene dopo circa un minuto di riscaldamento una colorazione azzurro–viola intensa.
- 7) La sostanza assorbe in UV, ma lo spettro NON è significativo.
- 8) La sostanza ha comportamento cromatografico.

CEFALOTINA SODICA:

- 1) La sostanza è molto solubile in acqua.
- 2) La sostanza calcinata al cocchio lascia un piccolo residuo bianco che colora la fiamma in giallo persistente.
- 3) La sostanza mostra potere riducente dopo idrolisi alcalina o acida:
 - a) 5 mg di sostanza, sciolti in 15 gocce di acqua vengono addizionati di 3 gocce di sodio idrossido 0,5M; si lasci riposare per circa un minuto a temperatura ambiente e si aggiunga una goccia di acido acetico glaciale. Si aggiungano 3 gocce di reattivo iodio–saldia d'amido: il reattivo verrà immediatamente decolorato.
 - b) 5 mg di sostanza, sciolti in 10 gocce di acqua vengono addizionati di 1–2 gocce di soluzione di acido fosfomolibdico: si ha immediatamente la formazione di una colorazione gialla. Riscaldando per alcuni secondi si ottiene una intensa colorazione blu.
 - c) a 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso–bruno.
 - d) a 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciolga il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca

concentrata). Già a freddo, senza porre a bagnomaria bollente, si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.

4) 50 mg si sciolgano in 60 gocce di acqua:

- a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con 1–2 gocce di reattivo di Millon
- b) 10 gocce di soluzione danno un abbondante precipitato bianco con una goccia di reattivo di Denigés
- c) 10 gocce di soluzione trattate con 2 gocce di reattivo di Zwicker danno una colorazione azzurra
- d) 10 gocce di soluzione trattate con 2 gocce di soluzione di ferro cloruro danno un abbondante precipitato giallo

5) 2 mg di sostanza vengono mescolati con 2 mg di acido cromotropico e 2 ml di acido solforico concentrato (provetta asciutta!). Si agita e si riscalda la miscela a 130°C per 4 minuti per immersione in bagno di glicerina preriscaldato. Si ottiene inizialmente una colorazione viola scuro che rapidamente passa al nero.

6) Lo spettro UV della sostanza è significativo .

7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

CEFUROXIMA SODICA:

1) La sostanza è molto solubile in acqua.

2) La sostanza calcinata al cocchio lascia un piccolo residuo bianco che colora la fiamma in giallo persistente.

3) La sostanza mostra potere riducente dopo idrolisi alcalina o acida:

a) 5 mg di sostanza, sciolti in 15 gocce di acqua vengono addizionati di 3 gocce di sodio idrossido 0,5M; si lasci riposare per circa un minuto a temperatura ambiente e si aggiunga una goccia di acido acetico glaciale. Si aggiungano 3 gocce di reattivo iodio–saldà d'amido: il reattivo verrà immediatamente decolorato.

b) 5 mg di sostanza, sciolti in 10 gocce di acqua vengono addizionati di 1–2 gocce di soluzione di acido fosfomolibdico: si ha immediatamente la formazione di una colorazione gialla. Riscaldando per alcuni secondi si ottiene una intensa colorazione blu.

c) a 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di

Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso–bruno.

d) a 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciolga il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Già a freddo, senza porre a bagnomaria bollente, si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.

4) 50 mg si sciolgano in 60 gocce di acqua:

a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco abbondante con 1–2 gocce di reattivo di Millon

b) 10 gocce di soluzione danno un abbondante precipitato bianco con una goccia di reattivo di Denigés

c) 10 gocce di soluzione trattate con 2 gocce di reattivo di Zwicker danno una colorazione azzurra

d) 10 gocce di soluzione trattate con 2 gocce di soluzione di ferro cloruro danno un abbondante precipitato giallo

5) 2 mg di sostanza vengono mescolati con 2 mg di acido cromotropico e 2 ml di acido solforico concentrato (provetta asciutta!). Si agita e si riscalda la miscela a 130°C per 4 minuti per immersione in bagno di glicerina preriscaldato. Si ottiene inizialmente una colorazione viola scuro che rapidamente passa al nero.

6) Lo spettro UV della sostanza è significativo .

7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SOSTANZE ORGANICHE

INTRODUZIONE

Le sostanze organiche sono suddivise in **tre sottogruppi**:

- Sottogruppo I = sostanze contenenti C, H, O.
- Sottogruppo II = sostanze contenenti C, H, O, N.
- Sottogruppo III = sostanze contenenti C, H, O, N, S.

Si deve tenere presente che una costante fisica molto importante per le sostanze organiche è il loro PUNTO DI FUSIONE, che è caratteristico per ciascuna di esse e spesso, con pochi altri dati per individuare il gruppo di appartenenza, è sufficiente per individuarle.

DETERMINAZIONE DEL PUNTO DI FUSIONE

Si introduca la sostanza in un capillare asciutto, premendo il lato aperto del capillare sulla sostanza stessa; quindi la si faccia scendere sul fondo battendo ripetutamente il lato chiuso del capillare su di una superficie dura in modo da formare una colonnina ben compatta di circa 2–3 mm di altezza; si procede quindi alla determinazione.

Il punto di fusione di una sostanza viene di solito indicato con due valori di temperatura, X–Y. Il valore più basso, X, indica la temperatura a cui ha inizio la fusione, avvertibile dalla comparsa di una goccia di liquido alla base del solido nel capillare; il valore più alto, Y, indica la temperatura a cui la fusione ha termine, quando cioè tutto il solido nel capillare si è trasformato in liquido.

L'indicazione "temperatura di fusione X" significa che la sostanza fonde completamente alla temperatura X. L'indicazione "con decomposizione" significa che la sostanza si altera; in questo caso imbrunisce, oppure forma bollicine di gas in modo più o meno tumultuoso, magari salendo su per il capillare.

La scritta "X–Y, punto di fusione non indicativo" significa che la sostanza può fondere a temperatura variabile compresa tra i valori X ed Y, a seconda del modo di operare, e che in questo caso il punto di fusione fornisce pochi elementi certi per l'identificazione della sostanza.

Da notare che la velocità di riscaldamento può avere un certo effetto sulla temperatura a cui si osserva la fusione: più lento è il riscaldamento, più la determinazione risulta precisa.

N.B.: anche alcune sostanze inorganiche o organo–metalliche possono presentare fenomeni simili alla fusione. La temperatura a cui questo avviene NON E' PERÒ ASSOLUTAMENTE INDICATIVA: non ha quindi senso eseguire la determinazione se non si ha la sicurezza che la sostanza in esame sia organica.

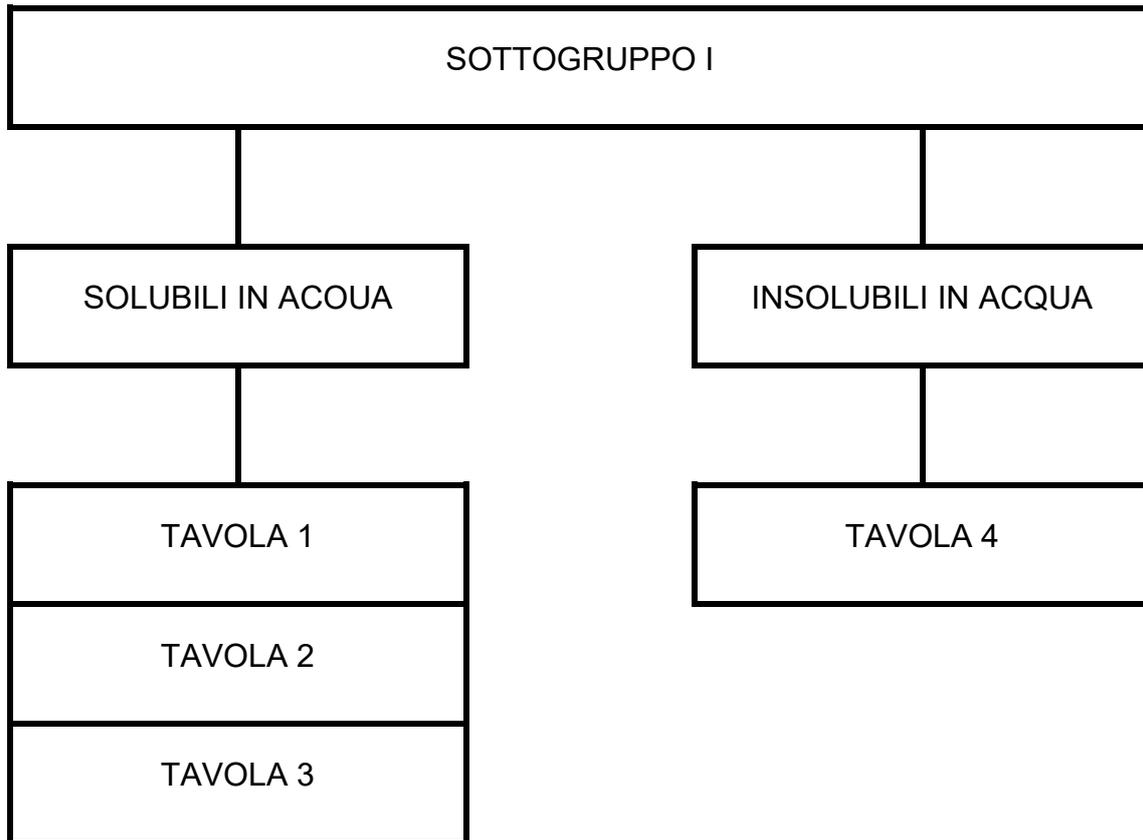
Sebbene le specifiche dell'olio di silicone usato negli apparecchi per punto di fusione prevedano un Flash Point di 315°C, non è comunque prudente superare i 280°C! (Vedi la tabella dei punti di fusione a pag 132 e le modalità d'uso degli apparecchi alle pagg. 131–134).

SOTTOGRUPPO I (C– H–O)

Il riconoscimento delle sostanze appartenenti a questo sottogruppo è basato sulla loro solubilità in acqua a 20°C e su reazioni cromatiche di gruppo; è importante che le reazioni di gruppo vengano eseguite nell'ordine in cui vengono presentate, in modo da poter escludere con sicurezza il gruppo la cui reazione è risultata negativa.

SOSTANZE ORGANICHE

Per le sostanze di questo sotto gruppo si segua lo schema seguente:



SOSTANZE ORGANICHE

SAGGIO DI SOLUBILITÀ:

10 mg di sostanza devono sciogliersi completamente in 10 gocce di acqua a 20°C.

Sostanze organiche	
Sottogruppo I	C – H – O
Tavola 1: SOLUBILI in acqua reagiscono con resorcina in acido solforico	
Acido citrico	
Acido tartarico	
Tavola 2: SOLUBILI in acqua reagiscono con anilina acetato	
Glucosio	
Fruttosio	
Saccarosio	
Lattosio	
Acido ascorbico	
Tavola 3: SOLUBILI in acqua non hanno dato le due prove delle Tavole 1 e 2	
Cloralio idrato	
Tavola 4: INSOLUBILI in acqua reagiscono sia con ferro cloruro e sia con reattivo di Millon	
Acido acetilsalicilico	
Acido salicilico	
Metile paraidrossibenzoato	
Propile paraidrossibenzoato	

SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 1 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C–H–O)

Saggio di gruppo:

Si mescolino 10 mg di sostanza con 20 mg di resorcina, 20 gocce di acido solforico concentrato e 5 gocce di potassio permanganato 0.02M.

La miscela, tenuta in bagno di glicerina a 160°C per 10 minuti, si colora in rosso.

Si versi la soluzione in circa 50 ml di acqua, si prelevino circa 10 gocce e si alcalinizzi con sodio idrossido 2M, si mettano 2 gocce della soluzione alcalina su di un pezzo di carta da filtro; si asciughi con aria calda.

Osservando alla lampada UV si nota una macchia fluorescente.

Alternativamente, si può osservare la soluzione, eventualmente diluita, in una provetta esposta alla luce UV.

Sostanze Organiche SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 1	
Acido citrico	$ \begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{COOH} \\ \\ \text{H} \end{array} $
Acido tartarico	$ \begin{array}{c} \text{COOH} \\ \\ \text{H} - \text{C} - \text{OH} \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{H} \\ \\ \text{COOH} \end{array} $

1) FENOMENO OSSERVATO -FLUORESCENZA AZZURRA

ACIDO CITRICO:

- 1) Solubilità: solubile in 1 parte di acqua.
- 2) Punto di fusione: non presenta un punto di fusione riproducibile, tuttavia fonde tra 100°C e 130°C.
- 3) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 3 gocce di reattivo di Denigés, si scaldi all'ebollizione e si aggiungano 1–2 gocce di potassio

permanganato 0.02M: si ha decolorazione della soluzione e formazione di un precipitato bianco.

4) Si scaldino 10 mg di sostanza con 5 gocce di acido solforico concentrato per 10 minuti a bagnomaria bollente; dopo raffreddamento si aggiungano 10 gocce di acqua e si alcalinizzi con sodio idrossido 1M; per aggiunta di 2 gocce di soluzione di sodio nitroprussiato si ha comparsa di una colorazione rossa che per acidificazione con acido acetico glaciale passa al rosso-violetto.

5) Si mescolino 10 mg di sostanza con una quantità doppia di urea e si tenga per 2 minuti in bagno di glicerina preriscaldato a 150°C. Il solido deve fondere formando un liquido giallo. Dopo raffreddamento, il solido viene ripreso con 20 gocce di acqua ed esaminato alla luce ultravioletta: si nota un'intensa fluorescenza azzurra; acidificando leggermente con acido cloridrico 1M la fluorescenza scompare, mentre ricompare per alcalinizzazione con ammoniaca 2M.

2) FENOMENO OSSERVATO - FLUORESCENZA AZZURRO VERDE

ACIDO TARTARICO:

1) Solubilità: solubile in 0.8 parti di acqua.

2) Il colore della soluzione solforica del saggio di gruppo è rosso-viola.

3) Punto di fusione: fonde a 170°C, a temperatura più alta imbrunisce.

4) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 10 gocce di acqua a caldo, si raffreddi, si neutralizzi con sodio idrossido 0.1M: per aggiunta di 2-3 gocce di soluzione di argento nitrato si ottiene un precipitato bianco; si aggiungono alcune gocce di ammoniaca 6M, il precipitato bianco si discioglie e riscaldando si deposita argento metallico come specchio sulle pareti oppure come precipitato nero.

5) A 10 mg di sostanza sciolta in 10 gocce di acqua si aggiungano alcune gocce di soluzione di acetato potassico: si forma immediatamente un precipitato cristallino.

6) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 10 gocce di acqua e si aggiungano 2-3 gocce di FeSO₄ (preparato di fresco) e 1 goccia di H₂O₂ (33 volumi). Si sviluppa una colorazione gialla che svanisce nel tempo sotto agitazione. Si aggiunge quindi goccia a goccia NaOH 2M: si sviluppa una intensa colorazione blu.

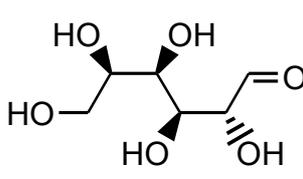
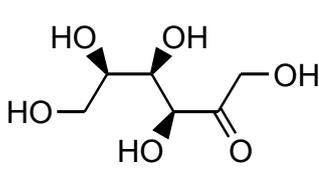
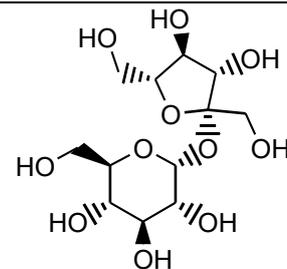
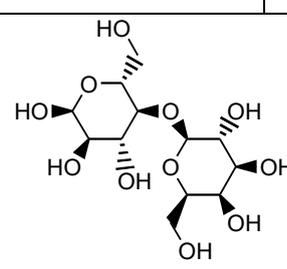
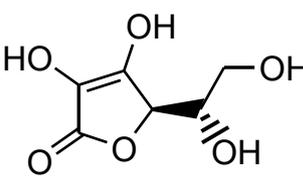
SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 2 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C–H–O)

Saggio di gruppo:

1) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungono 2 gocce di acido cloridrico concentrato e 10 mg di ammonio molibdato; per riscaldamento si ottiene una colorazione azzurra molto intensa.

N.B. – Questa colorazione compare non immediatamente con il lattosio, mentre con l'acido ascorbico si manifesta già a freddo, sia pure debolmente. Colorazioni azzurre pallide indicano un risultato negativo.

2) A 10 mg di sostanza si aggiungono 5 gocce di acido fosforico (provetta asciutta!) concentrato: si chiuda l'imboccatura della provetta con un pezzo di carta da filtro bagnata con una goccia di soluzione di anilina acetato. Per riscaldamento su fiamma diretta si ha formazione di una macchia rosso-viola sulla carta da filtro.

Sostanze Organiche SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 2		
		
Glucosio	Fruttosio	Saccarosio
		
Lattosio		Acido ascorbico

GLUCOSIO:

- 1) Solubilità: solubile in 1 parte di acqua.
- 2) Punto di fusione: 147°C.
- 3) A 40 mg di sostanza sciolta in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso-bruno.
- 4) A 10 mg di sostanza sciolta in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciogla il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Ponendo a bagnomaria bollente per 10 minuti si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.
- 5) Sciogliere circa 5 mg in 2 ml di alcool etilico, aggiungere 10 gocce di soluzione di dinitrofenilidrazina; bollire su bagnomaria per 2 min. Per raffreddamento in bagno di ghiaccio si forma un precipitato cristallino di colore rosso-arancione. Il precipitato spesso inizia a comparire già prima del riscaldamento.

N.B. in caso di difficoltà nel distinguere con il fruttosio, si può procedere al punto di fusione misto (se previsto dallo strumento), polarimetro, o una variante del "rapid furfural test" (non presente in Farmacopea). La reazione si effettua aggiungendo a una spatolina della sostanza una spatolina di resorcina e una spipettata di HCl. Si pone a bagnomaria bollente e si osserva la formazione di una colorazione rossa. Se la colorazione avviene nei primi 30 secondi si ha presenza di un chetoso (fruttosio), al contrario, se avviene dopo i 30 secondi si è in presenza di un aldoso (glucosio).

FRUTTOSIO:

- 1) Solubilità: solubile in meno di 1 parte di acqua.
- 2) Punto di fusione: 114–117°C; non è ben riproducibile, tuttavia è il solo elemento per distinguerlo dal glucosio, che ha punto di fusione: 147°C.
- 3) A 40 mg di sostanza sciolta in 10 gocce di acqua si aggiunga il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso-bruno.
- 4) A 10 mg di sostanza sciolta in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento

nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si scioglia il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Ponendo a bagnomaria bollente per 10 minuti si separa argento metallico come specchio o precipitato nero.

5) Sciogliere circa 5 mg in 2 ml di alcool etilico, aggiungere 10 gocce di soluzione di dinitrofenilidrazina; bollire su bagnomaria per 2 min. Per raffreddamento in bagno di ghiaccio si forma un precipitato cristallino di colore rosso–arancione. Il precipitato spesso inizia a comparire già prima del riscaldamento.

N.B. in caso di difficoltà nel distinguere con il fruttosio, si può procedere al punto di fusione misto (se previsto dallo strumento), polarimetro, o una variante del Rapid furfural test (non presente in Farmacopea). La reazione si effettua aggiungendo a una spatolina della sostanza una spatolina di resorcina e una spipettata di HCl. Si pone a bagnomaria bollente e si osserva la formazione di una colorazione rossa. Se la colorazione avviene nei primi 30 secondi si ha presenza di un chetoso (fruttosio), al contrario, se avviene dopo i 30 secondi si è in presenza di un aldoso (glucosio).

SACCAROSIO:

1) Solubilità: solubile in 0.5 parti di acqua.

2) Punto di fusione: 187°C.

3) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga una goccia di acido cloridrico 2M e si faccia bollire per 1 minuto: si aggiungano 10 mg di ammonio molibdato e si riscaldi nuovamente. Si ottiene una intensa colorazione azzurra.

4) A 50 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano una goccia di acido cloridrico 2M e si faccia bollire per 2–3 minuti; si aggiungano quindi 10 gocce di reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B) e si riscaldi nuovamente: la colorazione scompare e si ottiene un precipitato rosso–mattone. Ripetendo questa prova omettendo il trattamento con acido cloridrico, si ottiene un risultato negativo.

5) Sciogliere circa 5 mg in 2 ml di alcool etilico, aggiungere 10 gocce di soluzione di dinitrofenilidrazina; bollire su bagnomaria per 2 min. Per raffreddamento in bagno di ghiaccio si forma un precipitato cristallino di colore rosso–arancione. Il precipitato spesso inizia a comparire già prima del riscaldamento.

LATTOSIO:

1) Solubilità: solubile in 6 parti di acqua.

- 2) Punto di fusione: 212–214°C, con decomposizione.
- 3) A 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunge il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di soluzione di Fehling A e 5 gocce di soluzione di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso-bruno.
- 4) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciogla il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Ponendo a bagnomaria bollente per 10 minuti si separa argento metallico come specchio o precipitato nero.
- 5) Sciogliere circa 5 mg in 2 ml di alcool etilico, aggiungere 10 gocce di soluzione di dinitrofenilidrazina; bollire su bagnomaria per 2 min. Per raffreddamento in bagno di ghiaccio si forma un precipitato cristallino di colore rosso-arancione. Il precipitato spesso inizia a comparire già prima del riscaldamento.

ACIDO ASCORBICO:

- 1) Solubilità: solubile in 3–4 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 190–192°C.
- 3) A 40 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunge il reattivo di Fehling (preparato mescolando, a parte, 5 gocce di Fehling A e 5 gocce di Fehling B): riscaldando a fiamma diretta si ottiene la scomparsa della colorazione blu e la formazione di un precipitato rosso-bruno.
- 4) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano 4 gocce di reattivo di Tollens (preparato a parte al momento dell'uso: a 10 gocce di soluzione di argento nitrato si aggiungano 4 gocce di sodio idrossido 1M e si sciogla il precipitato così ottenuto aggiungendo poche gocce di ammoniaca concentrata). Ponendo a bagnomaria bollente per 10 minuti si separa argento metallico come specchio o come precipitato nero.
- 5) Sciogliere circa 5 mg in 2 ml di alcool etilico, aggiungere 10 gocce di soluzione di dinitrofenilidrazina; bollire su bagnomaria per 2 min. Per raffreddamento in bagno di ghiaccio si forma una colorazione giallo intensa o un precipitato cristallino di colore giallo-arancio. La soluzione di dinitrofenilidrazina è già giallina; è quindi opportuno eseguire una prova in bianco, confrontando la colorazione ottenuta nel saggio con

SOSTANZE ORGANICHE

quella di una soluzione formata da una goccia di reattivo più 20 gocce di alcool etilico, trattata nella stessa maniera.

6) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiunga una goccia di acido cloridrico 2M e si faccia bollire per 1 minuto: si aggiungano 10 mg di ammonio molibdato e si riscaldi nuovamente. Si ottiene una intensa colorazione azzurra

7) A 10 mg di sostanza sciolti in 10 gocce di acqua si aggiungano alcune gocce di soluzione di sodio bicarbonato (pH circa 7–8); per aggiunta di alcune gocce di soluzione di ferro solfato (circa al 2%, preparato al momento) si produce una colorazione violetta intensa, che scompare per acidificazione con acido solforico 1M.

8) La soluzione acquosa ha un pH di circa 2–3 (pHmetro).

SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 3 – SOSTANZE SOLUBILI IN ACQUA (C–H–O)

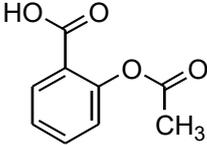
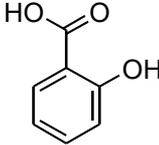
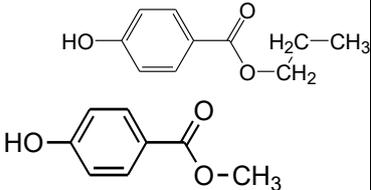
Sostanze che non hanno dato le prove di tavola 1 e 2

Sostanze Organiche SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 3	
Cloralio idrato	$ \begin{array}{c} \text{HO} \quad \text{OH} \\ \diagdown \quad / \\ \text{C} \\ \\ \text{Cl} - \text{C} - \text{Cl} \\ \\ \text{Cl} \end{array} $

CLORALIO IDRATO:

- 1) Solubilità: estremamente solubile in acqua.
- 2) Punto di fusione: 51–57°C.
- 3) Si mescolino 10 mg di sostanza con una quantità doppia di resorcina, si aggiungano 10 gocce di sodio idrossido 2M e si scaldi cautamente: si ottiene una colorazione rossa.
- 4) Si mescolino 20 mg di sostanza con 10 gocce di sodio idrossido 10M; per blando riscaldamento a fiamma diretta si sviluppa il caratteristico odore del cloroformio.

SOTTOGRUPPO I – TAVOLA 4 – SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA (C–H–O)

Sostanze Organiche SOTTOGRUPPO I – TAVOLE 4	
	
Acido acetilsalicilico	Acido salicilico
	
Metile paraidrossibenzoato	Propile paraidrossibenzoato

Saggi di gruppo:

- 1) A 10 mg di sostanza sospesi in 20 gocce di acqua si aggiungano 1–2 gocce di soluzione di ferro cloruro e si prenda nota dei fenomeni; se non accade nulla, si riscaldi all'ebollizione.
- 2) A 10 mg di sostanza si aggiungano 10–15 gocce di reattivo di Millon e si scaldi all'ebollizione.

Si prenda nota dei fenomeni.

1) FENOMENO OSSERVATO:

Saggio n. 1: COLORAZIONE VIOLA ALL'EBOLLIZIONE

Saggio n. 2: COLORAZIONE ARANCIO–ROSSA

ACIDO ACETILSALICILICO:

- 1) Solubilità: solubile in 300 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 136–138°C.

- 3) Si mescolino 10 mg di sostanza con pari quantità di urotropina e 10 gocce di acido solforico concentrato e si tenga in bagno di glicerina per 10 minuti a 130°C: si nota la comparsa di una colorazione rossa.
- 4) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 20 gocce di piridina al 10%: con 2–3 gocce di reattivo di Zwicker danno, a freddo, una colorazione azzurra, che all'ebollizione vira gradatamente al verde.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

2) FENOMENO OSSERVATO:

Saggio n. 1: INTENSA COLORAZIONE VIOLETTA A FREDDO

Saggio n. 2: COLORAZIONE ARANCIO–ROSSA

ACIDO SALICILICO:

- 1) Solubilità: solubile in 500 parti di acqua a freddo ed in 15 parti di acqua all'ebollizione.
- 2) Punto di fusione: 157°C.
- 3) 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di soluzione di sodio bicarbonato al 2% presentano un'intensa fluorescenza azzurra alla luce UV.
- 4) Si mescolino 10 mg di sostanza con pari quantità di urotropina e 10 gocce di acido solforico concentrato e si tenga in bagno di glicerina per 10 minuti a 130°C: si nota la comparsa di una colorazione rossa.
- 5) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 20 gocce di piridina al 10%, con 2 gocce di reattivo di Zwicker danno una colorazione azzurrina che va al verde dopo riscaldamento.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

3) FENOMENO OSSERVATO:

Saggio n. 1: VIOLETTO A FREDDO, ROSSO ARANCIO A CALDO

Saggio n. 2: COLORAZIONE ROSSO VIOLA

METILE para-IDROSSIBENZOATO:

- 1) Punto di fusione: 125–128°C.
- 2) Lo spettro UV della sostanza è significativo, ma molto simile, quasi identico, a quello del propile–para–idrossibenzoato.

4) FENOMENO OSSERVATO:

Saggio n.1: GIALLINO A FREDDO, ROSSO ARANCIO A CALDO, PRECIPITA PER RAFFREDDAMENTO

Saggio n.2: COLORAZIONE ROSSO VIOLA

PROPILE-para-IDROSSIBENZOATO:

1) Punto di fusione: 95–98°C.

2) Lo spettro UV della sostanza è significativo, ma molto simile, quasi identico, a quello del metile-para-idrossibenzoato.

Sottogruppo II (C–H–O–N)

Sottogruppo II	C – H – O – N
Tavola 1: danno la prova con 2,4–dinitroclorobenzene	
Acido nicotinico	
Nicotinamide	
Isoniazide	
Tavola 2: danno la prova con nitrito e acido cloridrico	
Aminofenazone	
Tavola 3: danno la prova con resorcina in acido solforico	
Furazolidone	
Allopurinolo	
Tavola 4: danno la prova con il reattivo di Mayer	
Chinina cloridrato	
Papaverina cloridrato	
Procaina cloridrato	
Lidocaina cloridrato	
Tavola 5: danno la prova della muresside	
Caffeina	
Teofillina	
Aminofillina (Teofillina etilendiammina)	
Tavola 6: non hanno dato le prove precedenti	
Paracetamolo	
Acido glutammico	

Sottogruppo II – TAVOLA 1 –(C – H – O – N)

Saggio di gruppo:

Si mescolino in una provetta asciutta 5–10 mg di sostanza con 5 gocce di 2,4–dinitroclorobenzene (*), si metta in bagno di glicerina a 80°C, mescolando con una bacchettina; dopo qualche minuto si porti la temperatura del bagno a 160°C e la si mantenga per 10 minuti. Dopo raffreddamento si aggiunga 1 ml di acqua ed una goccia di sodio idrossido 5M: si ottiene una intensa colorazione rossa.

50

(*) Questa sostanza è **molto irritante** anche se non pericolosa: se ci si sporca bisogna lavarsi bene con sapone. Fare attenzione a non toccarsi il viso quando si lavora con essa.



Sottogruppo II (C – H – O – N)	
TAVOLA 1	
Acido nicotinicco	
Nicotinamide	
Isoniazide	

ACIDO NICOTINICO:

- 1) Solubilità: solubile in circa 60 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 234–237°C.
- 3) La soluzione acquosa della sostanza è leggermente acida.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

NICOTINAMIDE:

- 1) Solubilità: solubile in circa 1 parte di acqua.
- 2) Punto di fusione: 128 – 130°C.
- 3) La soluzione acquosa della sostanza è neutra.
- 4) Si sciolgano 50 mg di sostanza in 5 ml di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di mercurio cloruro
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di acido tannico
 - d) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Nessler.
- 5) Si mescolino 5 mg di sostanza con una quantità doppia di dimetilossalato e di acido tiobarbiturico e si metta la miscela in bagno di glicerina preriscaldato a 150°C; nel giro di alcuni minuti il residuo assume una colorazione rossa. Questo residuo è inoltre parzialmente solubile in alcune gocce di alcool metilico.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 7) La sostanza ha comportamento cromatografico

ISONIAZIDE:

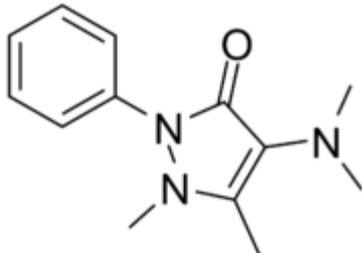
- 1) Solubilità: solubile in 8 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 170 – 173°C.
- 3) Si sciolgano 5 mg di sostanza in 10 gocce di piridina al 10%, trattati con 1–2 gocce di reattivo di Zwicker, danno nel giro di 3–4 minuti una colorazione verde smeraldo.
- 4) Si sciolgano 50 mg di sostanza in 5 ml di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione si addizionino a 1 ml di soluzione calda di vanillina (circa 10 mg di vanillina si sciolgano in 30 gocce di acqua e quindi si aggiungano 2 gocce di acido solforico concentrato), si scaldi ancora a bagnomaria bollente per 10 minuti. Dopo raffreddamento, si sfreghino le pareti della provetta con una bacchettina di vetro, si lasci a riposo per qualche tempo in bagno di ghiaccio: si ottiene un abbondante precipitato giallo – arancio.
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di mercurio cloruro

SOSTANZE ORGANICHE

- c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Millon
 - d) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico
 - e) 10 gocce di soluzione con 1–2 gocce di soluzione di argento nitrato danno un precipitato bianco che passa al nero; per leggero riscaldamento si ottiene uno specchio metallico sulle pareti della provetta
 - f) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di acido tannico
 - g) 10 gocce di soluzione danno un precipitato grigio–nero con 1–2 di reattivo di Nessler
 - h) 10 gocce di soluzione decolorano 2 gocce di reattivo di Bouchardat
 - i) a 10 gocce di soluzione si aggiungano 2–3 gocce di soluzione di acido fosfomolibdico; dopo 1–2 minuti si alcalinizzi con ammoniaca 2M: si ha comparsa di una colorazione oppure di un precipitato azzurro
- 5) Si mescolino 5 mg di sostanza con una quantità doppia di dimetilossalato ed acido tiobarbiturico e si metta la miscela in bagno di glicerina preriscaldato a 150°C; nel giro di alcuni minuti il residuo assume una colorazione rossa. Questo residuo è inoltre parzialmente solubile in alcune gocce di alcool metilico.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

Sottogruppo II – TAVOLA 2 –(C – H – O – N)**Saggio di gruppo:**

A 10 mg di sostanza sciolta in 10 gocce di acido cloridrico 1M si aggiungono 2–3 gocce di soluzione di nitrito di sodio: si ottiene una colorazione viola fugace.

Sottogruppo II (C – H – O – N)	
TAVOLA 2	
Aminofenazone	

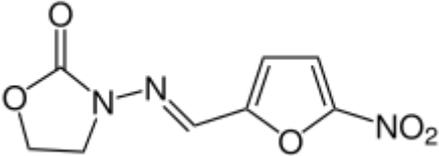
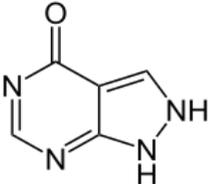
AMINOFENAZONE:

- 1) Solubilità: solubile in circa 18 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 107–109° C.
- 3) Si sciolgano 50 mg in 5 ml di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione danno una colorazione violetta fugace con una goccia di soluzione di cloruro ferrico, diluita 1:1 con acqua;
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di cloruro mercurico;
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con una goccia di acido solforico 1M e 2 gocce di reattivo di Mayer;
 - d) 10 gocce di soluzione con 2 gocce di soluzione di argento nitrato danno una colorazione azzurra che rapidamente vira al viola e lascia separare argento metallico o come specchio o come precipitato nero;

SOSTANZE ORGANICHE

- e) 10 gocce di soluzione danno una colorazione rosso ciclamino con 1–2 gocce di reattivo di Bouchardat.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

Sottogruppo II– TAVOLA 3 – (C – H – O – N)

Sottogruppo II (C – H – O – N) TAVOLA 3	
Furazolidone	
Allopurinolo	

Saggio di gruppo:

Si mescolino 10 mg di sostanza con 20 mg di resorcina e 40 gocce di acido solforico concentrato in una provetta asciutta e la si tenga in bagno di glicerina a 130 – 140°C per 10 minuti. Si osservi la colorazione che può svilupparsi anche sin dall'inizio del riscaldamento; poi si versi il contenuto della provetta in circa 50 ml di acqua, si prelevino circa 0.5 ml, si diluisca con circa 10 ml di acqua, si alcalinizzi con sodio idrossido 10M e si osservi la fluorescenza alla lampada UV.

**1) FENOMENO OSSERVATO - COLORAZIONE BRUNA
FLUORESCENZA AZZURRA INTENSA**

FURAZOLIDONE:

- 1) La sostanza è di color giallo–arancio ed è insolubile in acqua.
- 2) Punto di fusione: 248–249°C.
- 3) Posti 5 mg di sostanza in 20 gocce di sodio idrossido 2M, non si sciolgono; dopo qualche minuto la sospensione assume lentamente una colorazione arancio – bruna. Questo fenomeno si accelera riscaldando.
- 4) Sciogliere circa 5 mg in 2 ml di alcool etilico, aggiungere 10 gocce di soluzione di dinitrofenilidrazina; bollire su bagnomaria per 2 min. Per raffreddamento in bagno di ghiaccio si forma un precipitato cristallino di colore rosso–arancione.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 6) La sostanza ha comportamento cromatografico: Entrambe le macchie sono gialle.

3) FENOMENO OSSERVATO - COLORAZIONE ARANCIO

FLUORESCENZA GIALLO-VERDE

ALLOPURINOLO:

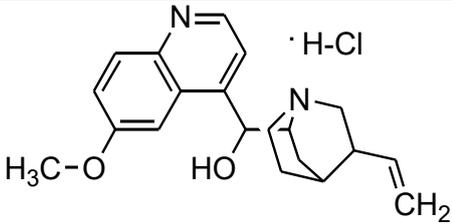
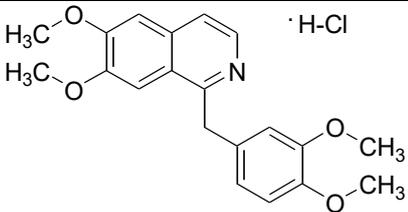
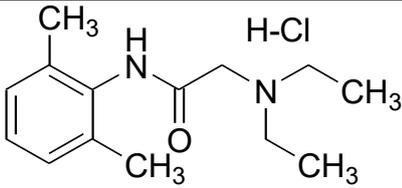
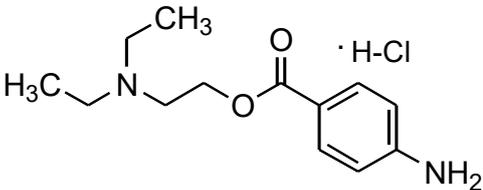
- 1) La sostanza è bianca, molto poco solubile in acqua a freddo, solubile a caldo; solubile a freddo in sodio idrossido 2M.
- 2) Punto di fusione: praticamente non fonde.
- 3) 10 mg di sostanza si sciolgono in 2 ml di sodio idrossido 2M, si aggiunga 1 ml di reattivo di Mayer, si riscaldi all'ebollizione e si lasci a riposo: si ottiene un precipitato fioccoso di colore giallo.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

Sottogruppo II – TAVOLA 4 –(C – H – O – N)

Saggio di gruppo:

A 10 mg di sostanza sciolta in 20 gocce di acqua si aggiungono 1–2 gocce di reattivo di Mayer: si ottiene un precipitato bianco.

57

Chinina cloridrato	
Papaverina cloridrato	
Lidocaina cloridrato	
Procaina cloridrato	

CHININA CLORIDRATO:

- 1) Solubilità: solubile in circa 25 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 110 – 120°C, non riproducibile.
- 3) Si sciolgono 50 mg di sostanza in 5 ml di acqua:
 - a) a 10 gocce di soluzione si aggiungano 10 ml di acqua e 5 gocce di acido solforico concentrato: si ha comparsa di una intensa fluorescenza azzurra se la soluzione viene osservata alla luce UV;
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di mercurio cloruro;
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico;
 - d) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di acido tannico;
 - e) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrico;
 - f) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Nessler;
 - g) 10 gocce di soluzione danno un precipitato arancio con 1–2 gocce di reattivo di Bouchardat.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico. Entrambe le macchie sono fluorescenti.

PAPAVERINA CLORIDRATO:

- 1) Solubilità: solubile in circa 40 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 215 – 220°C con decomposizione.
- 4) Si sciolgono 50 mg di sostanza in 5 ml di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di mercurio cloruro;
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Millon;
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico;
 - d) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrico;

- e) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Nessler;
 - f) 10 gocce di soluzione danno un precipitato–arancio con 1–2 gocce di reattivo di Bouchardat.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo .
- 6) La sostanza ha comportamento cromatografico.

PROCAINA CLORIDRATO:

- 1) Solubilità: solubile in 1 parte di acqua.
- 2) Punto di fusione: 153 – 156°C.
- 3) A 10 mg di sostanza, sciolti in 10 gocce di acido cloridrico 1M e raffreddati in ghiaccio, si aggiungano 3–4 gocce di soluzione di sodio nitrito e si agiti bene; dopo 5 minuti si aggiungano due spatoline di urea e si agiti in modo che tutto il nitrito in eccesso venga decomposto; addizionando 3–4 gocce di soluzione di α -naftilamina si ottiene un'intensa colorazione o un precipitato rosso scarlatto.
- 4) Si sciolgano 50 mg di sostanza in 5 ml di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di mercurio cloruro;
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico;
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrico;
 - d) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di argento nitrato;
 - e) 10 gocce di soluzione danno un precipitato rosso–bruno con 1–2–gocce di reattivo di Bouchardat;
 - f) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Nessler;
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 6) La sostanza ha comportamento cromatografico.

LIDOCAINA CLORIDRATO:

- 1) Solubilità: solubilissima in acqua a freddo.
- 2) Punto di fusione: 76 – 79°C.

SOSTANZE ORGANICHE

4) Si sciolgono 10 mg di sostanza in 40 gocce di acqua e si aggiungono 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e 3 gocce di acido cloridrico 6M; dopo 3–4 minuti si aggiungono 3 gocce di sodio idrossido 10M ed un pizzico di urea. Si agiti bene e si aggiungano quindi 3 gocce di soluzione di α -naftolo; si ottiene una colorazione gialla – scura che, riscaldando su b.m. bollente per circa 10 minuti, diventa gialla chiara.

5) Si sciolgono 50 mg di sostanza in 5 ml di acqua:

a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di mercurio cloruro;

b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Millon;

c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico;

d) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrico;

e) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di reattivo di Nessler;

f) 10 gocce di soluzione danno un precipitato–arancio con 1–2 gocce di reattivo di Bouchardat.

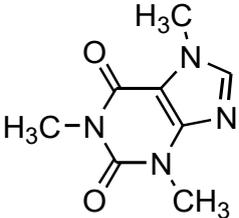
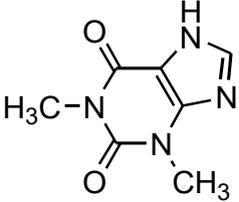
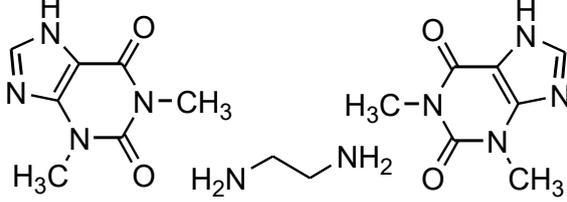
6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.

7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

Sottogruppo II – TAVOLA 5 – (C – H – O – N)

Saggio di gruppo:

In una capsula di porcellana si mettano 20 mg di sostanza, 10 gocce di acido cloridrico concentrato e 4–5 gocce di soluzione di idrogeno perossido a 33 volumi, si ponga su bagnomaria bollente e si evapori a secchezza. Si raffreddi e si versino alcune gocce di ammoniaca 3M: il residuo assume una colorazione rosso–porpora per caffeina e teofillina, rossa per aminofillina.

Sottogruppo II (C – H – O – N)	
TAVOLA 5	
Caffeina	
Teofillina	
Aminofillina	

CAFFEINA:

- 1) Solubilità: solubile in 60 parti di acqua.
- 2) Punto di fusione: 234–237°C.
- 3) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 20 gocce di acqua. Aggiungendo 1–2 gocce di soluzione di acido tannico si ottiene un precipitato bianco.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

TEOFILLINA:

SOSTANZE ORGANICHE

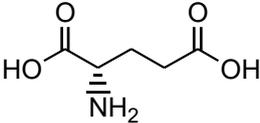
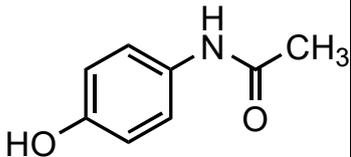
- 1) Solubilità: solubile in 120 parti di acqua a 20°C; molto più solubile a caldo.
- 2) Punto di fusione: 270 – 274°C.
- 3) A 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di alcool etilico si aggiungano 2 – 3 gocce di reattivo di Parri ed una goccia di ammoniaca concentrata: si sviluppa istantaneamente una colorazione violetta.
- 4) 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di piridina al 10% danno con 2–3 gocce di reattivo di Zwicker una colorazione verde e, dopo alcuni minuti, un precipitato verde smeraldo.
- 5) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 40 gocce di acqua:
 - a) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di argento nitrato;
 - b) 10 gocce di soluzione danno un precipitato bianco con 1–2 gocce di soluzione di acido tannico;
 - c) 10 gocce di soluzione danno un precipitato giallo con 1–2 gocce di soluzione di acido picrolonico.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

AMINOFILLINA (TEOFILLINA–ETILENDIAMMINA):

- 1) La sostanza è molto solubile in acqua.
- 2) Punto di fusione: a 150°C circa distilla etilendiammina; a 270–274°C imbrunisce e fonde.
- 3) Eseguendo la prova riportata come saggio di gruppo per le basi xantiniche il residuo assume una colorazione rossa.
- 4) A 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di alcool etilico si aggiungano 2–3 gocce di reattivo di Parri e una goccia di ammoniaca concentrata: si sviluppa istantaneamente una colorazione rosso-bruna.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 6) La sostanza ha comportamento cromatografico.

Sottogruppo II – TAVOLA 6 –(C – H – O – N)

Saggio di gruppo: nessun saggio di gruppo

Sottogruppo II (C – H – O – N) TAVOLA 6	
Acido glutammico	
Paracetamolo	

PARACETAMOLO:

- 1) Moderatamente solubile in acqua ed in acido cloridrico 2M, molto solubile in sodio idrossido 2M.
- 2) Punto di fusione: 171–173°C.
- 3) Si sciolgano 10 mg di sostanza in 10 gocce di acido solforico concentrato: non si nota alcuna colorazione; tuttavia, aggiungendo 1–2 gocce di acido nitrico concentrato compare una intensa colorazione giallo limone.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

ACIDO GLUTAMMICO:

- 1) Solubilità: solubile in circa 100 parti di acqua a freddo, più solubile a caldo.
- 2) Punto di fusione 195 – 202°C con decomposizione.
- 3) A 5 mg di sostanza sospesi in 40 gocce di acqua si aggiungano 5 gocce di soluzione di ninidrina; tenendo in bagnomaria bollente per 10 minuti si sviluppa una intensa colorazione azzurro – viola.

ATTENZIONE: LA NINIDRINA MACCHIA DI VIOLA LA PELLE!

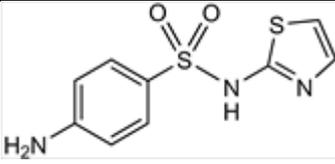
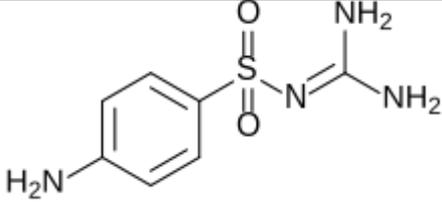
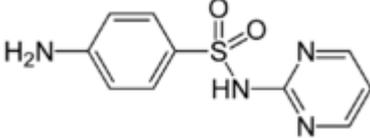
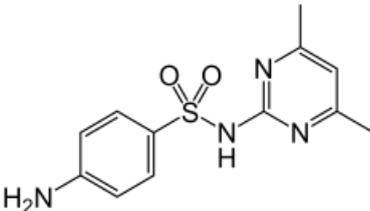
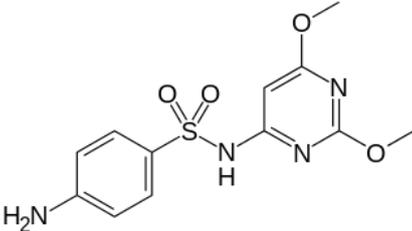
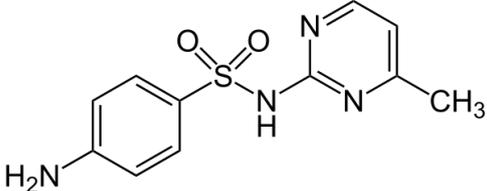
Sottogruppo III (C – H – O – N – S)

Sostanze organiche
Sottogruppo III C – H – O – N – S
Tavola 1: INSOLUBILI in acqua, SOLUBILI in acido cloridrico 1M, reagiscono con p-DMAB
Sulfatiazolo
Sulfaguanidina
Sulfadiazina
Sulfametazina (Sulfadimidina)
Sulfamerazina
Sulfadimetoxina
Sulfametoxazolo
Sulfisossazolo (Sulfafurazolo)
Tavola 2: INSOLUBILI in acqua e in acido cloridrico 1M NON reagiscono con p-DMAB, ma con resorcina in acido solforico
Ftalilsulfatiazolo
Succinilsulfatiazolo
Tavola 3: INSOLUBILI in acqua e in acido cloridrico 1M, non danno precipitato bianco con acido acetico glaciale, riducenti dopo idrolisi
Tolbutamide

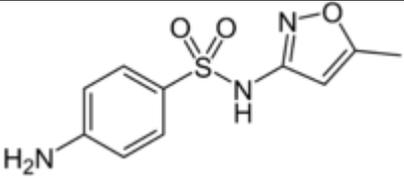
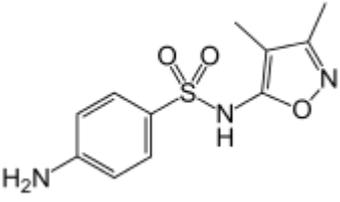
Sottogruppo III –TAVOLA 2– (C–H–O–N–S)

SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA E SOLUBILI IN ACIDO CLORIDRICO 1M

Saggio di gruppo: 5 mg di sostanza posti su una carta da filtro e bagnati con una goccia di para–dimetilaminobenzaldeide (p–DMAB) danno un'intensa colorazione arancione.

Sottogruppo III (C – H – O – N – S) – TAVOLA 2	
Sulfatiazolo	
Sulfaguanidina	
Sulfadiazina	
Sulfametazina (Sulfadimidina)	
Sulfadimetossina	
Sulfamerazina	

SOSTANZE ORGANICHE

<p>Sulfametossazolo</p>	 <p>The structure shows a benzene ring with an amino group (-NH₂) at the para position relative to a sulfonamide group (-SO₂NH-). The nitrogen of the sulfonamide group is bonded to the 5-position of a furazolidine ring, which has a methyl group at the 2-position.</p>
<p>Sulfisossazolo (sulfafurazolo)</p>	 <p>The structure shows a benzene ring with an amino group (-NH₂) at the para position relative to a sulfonamide group (-SO₂NH-). The nitrogen of the sulfonamide group is bonded to the 5-position of a furazolidine ring, which has methyl groups at the 2 and 4 positions.</p>

SULFATIAZOLO:

- 1) Solubilità: 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 20 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 20 gocce di sodio idrossido 0.1M; poco solubile in acqua a 100°C.
- 2) Punto di fusione: 199 – 204°C.
- 3) La sostanza riscaldata lentamente in provetta asciutta si colora in rosso – bruno; se all'imboccatura della provetta si pone un pezzo di carta da filtro bagnata con una goccia di piombo acetato, si forma una macchia nera.
- 4) A 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido nitrico 1M si aggiungano 2 gocce di reattivo di Millon: si ottiene un precipitato giallo–arancio.
- 5) A 5 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M si aggiungano 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e si tenga in bagno di ghiaccio per alcuni minuti; si aggiungano quindi due spatoline di urea e si agiti bene in modo da eliminare l'eccesso di nitrito, si aggiungano una goccia di sodio idrossido 10M e 5 gocce di soluzione di β -naftolo: si ottiene un precipitato rosso–arancio.
- 6) A 5 mg di sostanza sciolti in 50 gocce di acqua all'ebollizione, si aggiungano, dopo raffreddamento, 2 gocce di soluzione di piridil–piridinio dicloruro, 3 gocce di sodio idrossido concentrato e 2 gocce di acido cloridrico concentrato: si ottiene una colorazione arancione. È opportuno eseguire contemporaneamente un saggio di confronto senza sostanza.
- 7) Si mescolino 20 mg di sostanza con 40 gocce di alcool etilico, 3 gocce di reattivo di Parri e si scaldi all'ebollizione; per aggiunta di una goccia di ammoniaca si sviluppa una colorazione viola fugace.
- 8) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 9) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFAGUANIDINA:

- 1) Solubilità: 5 mg di sostanza si sciolgono in 25 gocce di acido cloridrico 0.1M, mentre sono praticamente insolubili in sodio idrossido 0.1M a freddo; poco solubile in acqua.
- 2) Punto di fusione: 190 – 193°C.
- 3) Si mescolino 10 mg di sostanza con 20 gocce di sodio idrossido 10M; si chiuda l'imboccatura della provetta con un pezzo di carta da filtro imbevuto con 1 – 2 gocce di reattivo di Nessler: per riscaldamento della miscela si liberano vapori di ammoniaca che formano sulla carta una macchia bruna. Questo saggio può anche essere eseguito esponendo ai vapori una cartina indicatrice di pH bagnata con una goccia di acqua distillata: la cartina diverrà blu.
- 4) A 5 mg di sostanza sciolti in 50 gocce di acqua all'ebollizione, si aggiungano, dopo raffreddamento, 2 gocce di soluzione di piridil-piridinio dicloruro, 3 gocce di soluzione di sodio idrossido concentrato e 2 gocce di acido cloridrico concentrato: si ottiene una colorazione arancione. È opportuno eseguire contemporaneamente un saggio di confronto senza sostanza.
- 5) Si mescolino 20 mg di sostanza con 40 gocce di alcool etilico, 3 gocce di reattivo di Parri e si scaldi all'ebollizione; per aggiunta di una goccia di ammoniaca si sviluppa una colorazione viola fugace. Questo saggio potrebbe non essere così chiaro come in altri sulfamidici.
- 6) Si sciolgano 5 mg di sostanza in 20 gocce di acido nitrico 1M; con 1 – 2 gocce di reattivo di Millon si ottiene un precipitato giallo.
- 7) La sostanza riscaldata cautamente in provetta a fiamma diretta fonde dando una colorazione viola ed un sublimato bianco sulle pareti della provetta mentre si sviluppano vapori di ammoniaca, rilevabili come descritto nella precedente reazione numero 3).
- 8) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 9) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFADIAZINA:

- 1) Solubilità: 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 30 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 30 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: 252–255°C.
- 3) Si sciolgano 5 mg di sostanza in 30 gocce di acido nitrico 1M; con 2 – 3 gocce di reattivo di Millon si ottiene un precipitato giallo.
- 4) Si mescolino 5 mg di sostanza con pari quantità di acido tiobarbiturico, si metta in bagno di glicerina preriscaldato a 140°C, si riscaldi ancora: a circa 150°C comincia ad apparire una colorazione violetta che raggiunge il massimo di intensità attorno a 180°C.
- 5) Si sciolgano 10 mg di acido tiobarbiturico in 10 gocce di acqua ed alla soluzione si aggiungano 10 mg di sostanza, si mescoli bene e si metta su bagnomaria bollente per 10 minuti: si nota la comparsa di una colorazione rossa; ponendo una goccia della soluzione su di un pezzo di carta da filtro si forma una macchia colorata in rosso che presenta una fluorescenza salmone.
- 6) Si pongano 100 mg di sostanza sul fondo di una provetta asciutta e si riscaldi lentamente fino a che sulle pareti fredde della provetta si deposita un sublimato. Con una spatolina si prelevi un poco di sostanza sublimata e si mescoli con 10 mg di resorcina e 10 gocce di acido solforico concentrato. Per riscaldamento su bagnomaria bollente si sviluppa una colorazione rosso intensa.
- 7) Si mescolino 20 mg di sostanza con 40 gocce di alcool etilico, 3 gocce di reattivo di Parri e si scaldi all'ebollizione: per aggiunta di 1 – 2 gocce di ammoniaca concentrata si ottiene una colorazione viola.
- 8) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 9) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFAMETAZINA (SULFADIMIDINA):

- 1) La sostanza è molto poco solubile in acqua; 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 20 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 20 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: 194–195°C.
- 3) A 10 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido nitrico 1M si aggiungono 2 gocce di reattivo di Millon: si ottiene un precipitato giallastro.
- 4) A 5 mg di sostanza sciolti in 50 gocce di acqua all'ebollizione, si aggiungano, dopo raffreddamento, 2 gocce di soluzione di piridil–piridinio dicloruro, 3 gocce di sodio idrossido concentrato e 2 gocce di acido cloridrico concentrato: si ottiene una colorazione arancione. È opportuno eseguire contemporaneamente un saggio di confronto senza sostanza.
- 5) Si mescolino 20 mg di sostanza con 40 gocce di alcool etilico, 3 gocce di reattivo di Parri e si scaldi all'ebollizione; per aggiunta di una goccia di ammoniaca si sviluppa una colorazione viola fugace.
- 6) La sostanza riscaldata cautamente in provetta a fiamma diretta, fonde senza colorarsi, poi si decompone diventando bruno–nera, mentre compare un sublimato bianco sulle pareti della provetta.
- 7) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 8) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFAMERAZINA:

- 1) La sostanza è molto poco solubile in acqua; 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 20 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 20 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: 234–235°C.
- 3) A 5 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M si aggiungano 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e si tenga in bagno di ghiaccio per alcuni minuti; si aggiungano quindi due spatoline di urea e si agiti bene in modo da eliminare l'eccesso di nitrito, si aggiungano una goccia di sodio idrossido 10M e 5 gocce di soluzione di β -naftolo: si ottiene un precipitato rosso–arancio.
- 4) A 5 mg di sostanza sciolti in 50 gocce di acqua all'ebollizione, si aggiungano, dopo raffreddamento, 2 gocce di soluzione di piridil–piridinio dicloruro, 3 gocce di sodio idrossido concentrato e 2 gocce di acido cloridrico concentrato: si ottiene una colorazione arancione. È opportuno eseguire contemporaneamente un saggio di confronto senza sostanza.

- 5) Si sciolgono 10 mg di sostanza in 20 gocce di acido nitrico 1M; alla soluzione si aggiungono 10 gocce di reattivo di Millon: si ottiene un precipitato giallastro.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo .
- 7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFADIMETOSSINA:

- 1) La sostanza è molto poco solubile in acqua; 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 20 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 20 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: 201–203°C.
- 3) A 5 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M si aggiungono 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e si tenga in bagno di ghiaccio per alcuni minuti; si aggiungono quindi due spatoline di urea e si agiti bene in modo da eliminare l'eccesso di nitrito, si aggiungono una goccia di sodio idrossido 10M e 5 gocce di soluzione di β -naftolo: si ottiene un precipitato rosso-arancio.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo .
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFAMETOSSAZOLO:

- 1) La sostanza è praticamente insolubile in acqua; 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 20 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 20 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: 171–172°C.
- 3) A 5 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M si aggiungono 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e si tenga in bagno di ghiaccio per alcuni minuti; si aggiungono quindi due spatoline di urea e si agiti bene in modo da eliminare l'eccesso di nitrito, si aggiungono una goccia di sodio idrossido 10M e 5 gocce di soluzione di β -naftolo: si ottiene un precipitato rosso-arancio.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SULFISOSSAZOLO (SULFAFURAZOLO):

- 1) La sostanza è molto poco solubile in acqua; 5 mg di sostanza si sciolgono sia in 20 gocce di acido cloridrico 1M e sia in 20 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: 193°C.
- 3) A 5 mg di sostanza sciolti in 20 gocce di acido cloridrico 0.1M si aggiungano 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e si tenga in bagno di ghiaccio per alcuni minuti; si aggiungano quindi due spatoline di urea e si agiti bene in modo da eliminare l'eccesso di nitrito, si aggiungano una goccia di sodio idrossido 10M e 5 gocce di soluzione di β -naftolo: si ottiene un precipitato rosso-arancio.
- 4) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 5) La sostanza ha comportamento cromatografico.

Sottogruppo III – TAVOLA 2 –(C – H – O – N – S)

SOSTANZE INSOLUBILI IN ACQUA ED IN ACIDO CLORIDRICO 1M

Saggio di gruppo:

Si mescolino 10 mg di sostanza con una quantità doppia di resorcina e si sciolga la miscela in 20 gocce di acido solforico concentrato (provetta asciutta!). Si tenga in bagno di glicerina a 160°C per 10 minuti. Si ottiene una colorazione che varia da giallo – bruno al rosso bruno scuro. Si raffreddi e si versi in un bicchiere contenente circa 20 ml di acqua. Si prelevino 10 gocce della soluzione e si alcalinizzino con sodio idrossido 2M.

Si prenda nota dei fenomeni.

Sottogruppo III (C – H – O – N – S) – TAVOLA 3	
Ftalilsulfatiazolo	
Succinilsulfatiazolo	

1) FENOMENO OSSERVATO - COLORE GIALLO-ARANCIONE

FLUORESCENZA GIALLA INTENS.A

FTALILSULFATIAZOLO:

- 1) Solubilità: 5 mg di sostanza si sciolgono in 20 gocce di sodio idrossido 1M.
- 2) Punto di fusione: imbrunisce a 235°C e fonde a 270–273°C.
- 3) Si facciano bollire 5 mg di sostanza in 30 gocce di acqua e 10 gocce di alcool etilico, si raffreddi e se necessario si centrifughi; alla soluzione si aggiungano 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e 3 gocce di acido cloridrico 6M. Dopo 3–4 minuti si aggiungano 3 gocce di sodio idrossido 10M ed un pizzico di urea, si agiti bene e si aggiungano quindi 3 gocce di soluzione di α -naftolo; riscaldando a bagnomaria, nel giro di alcuni minuti si ha comparsa di una colorazione rosso-arancio.
- 4) 10 mg di sostanza sciolti a caldo in 20 gocce di alcool etilico trattati con 2 gocce di reattivo di Parri e una goccia di ammoniaca concentrata danno una colorazione rosa viola con formazione di un precipitato.
- 5) A 20 mg di sostanza, sciolti in 20 gocce di soluzione di piridina al 10%, si aggiungano a freddo 2 – 3 gocce di reattivo di Zwikker: si ottiene un precipitato verde.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

2) FENOMENO OSSERVATO - COLORE ARANCIO ROSSO

FLUORESCENZA GIALLO-VERDE

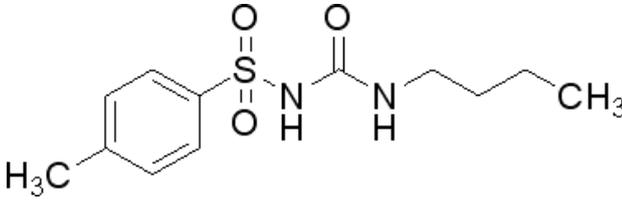
SUCCINILSULFATIAZOLO:

- 1) Solubilità: 5 mg di sostanza si sciolgono in 20 gocce di sodio idrossido M.
- 2) Punto di fusione: 198–200°C.
- 3) Si facciano bollire 5 mg di sostanza in 30 gocce di acqua e 10 gocce di alcool etilico, si raffreddi e se necessario si centrifughi; si aggiungano 5 gocce di soluzione di sodio nitrito e 3 gocce di acido cloridrico 6M. Dopo 3–4 minuti si aggiungano 3 gocce di sodio idrossido 10M ed un pizzico di urea, si agiti bene e si aggiungano quindi 3 gocce di soluzione di α -naftolo; riscaldando a bagnomaria, nel giro di alcuni minuti si ha comparsa di una colorazione rosso-arancio.
- 4) A 10 mg di sostanza, sciolti in 30 gocce di soluzione di piridina al 10%, si aggiungano a freddo 2–3 gocce di reattivo di Zwikker: si ottiene una colorazione verde – bottiglia.

SOSTANZE ORGANICHE

- 5) Si mescolino 20 mg di sostanza con 40 gocce di alcool etilico e 3 gocce di reattivo di Parri e si porti all'ebollizione; per aggiunta di una goccia di ammoniaca concentrata si ottiene una colorazione viola.
- 6) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 7) La sostanza ha comportamento cromatografico.

SOTTOGRUPPO III – TAVOLA 3 –(C – H – O – N – S)

Sottogruppo III (C – H – O – N – S) – TAVOLA 4	
Tolbutamide	

76

TOLBUTAMIDE:

- 1) Punto di fusione: 125 – 127°C.
- 2) Si mescolino 20 mg di sostanza con 40 gocce di alcool etilico, 3 gocce di reattivo di Parri e si scaldi all'ebollizione; per aggiunta di una goccia di ammoniaca si sviluppa una colorazione viola che scompare per raffreddamento.
- 3) Si pongano 5 mg di sostanza su una carta da filtro e li si bagnino con una goccia di para-dimetilaminobenzaldeide (p-DMAB): NON danno intensa colorazione né rossa, né arancione.
- 4) La sostanza è solubile in sodio idrossido 1M, ma è insolubile in piridina al 10%.
- 5) Lo spettro UV della sostanza è significativo.
- 6) La sostanza ha comportamento cromatografico.

CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE (TLC)

Mediante cromatografia è possibile riconoscere con certezza una sostanza anche in presenza di molte impurezze, che vengono separate.

Analiticamente è più conveniente utilizzare la cromatografia su strato sottile che è rapida, semplice e poco costosa; essa richiede però PULIZIA e CURA da parte dell'operatore; verranno utilizzate delle piastre (lastrine) di gel di silice (5 x 10 cm) contenente un materiale fluorescente alla luce UV (254 nm e 365 nm) per una rapida e semplice visualizzazione delle sostanze che sono in grado di assorbire nell'ultravioletto.

Preparazione e sviluppo delle piastre:

Servendosi di una matita (NON usare biro o pennarelli) tracciare una linea leggera parallela ad uno dei due lati più corti e distante circa 1,0 cm dal bordo; segnarvi sopra 3 o 5 punti equidistanti tra loro e dal margine: questa linea si dice "origine". Preparare la soluzione della sostanza (di norma in acetone anidro) in una provetta asciutta e pulita, agitando sino a dissoluzione: il riscaldamento è da evitare, per l'infiammabilità dei solventi e perché alcune sostanze possono decomporsi (ad es. le penicilline). Servendosi di un apposito capillare, deporvi un poco di soluzione sulla piastra: immergere il capillare nella soluzione (che entra per capillarità) e toccare per breve tempo uno dei punti segnati sulla piastra, deponendovi un poco di soluzione. Aspettare che il solvente si asciughi e ripetere l'operazione; bisogna toccare per breve tempo per evitare che la macchia si allarghi troppo, con difficoltà nello sviluppo e risultati poco chiari. Tenere presente che troppa sostanza porta a macchie con lunghe code mentre troppa poca rende difficile il rilevamento. È possibile controllare l'intensità della macchia deposta osservandola alla luce UV (254 nm).

Si possono utilizzare i tre (o 5) punti per deporvi, oltre la sostanza in esame, anche due (o 4) sostanze di riferimento che, in base alle prove precedentemente effettuate, potrebbero costituire un confronto e/o un'alternativa. Annotare cosa si carica!

Quando la piastra è ben asciutta (eventualmente si usi il föhn), introdurla verticalmente nella vaschetta con l'adatta miscela di solventi, con la parte recante le macchie verso il basso. Chiudere bene la vaschetta. Quando il solvente è arrivato a circa 1 cm dall'estremità superiore, togliere la piastra, segnare con una matita la linea raggiunta dal solvente (fronte) e asciugarla con il föhn SOTTO CAPPA. Osservare la piastra alla

CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE (TLC)

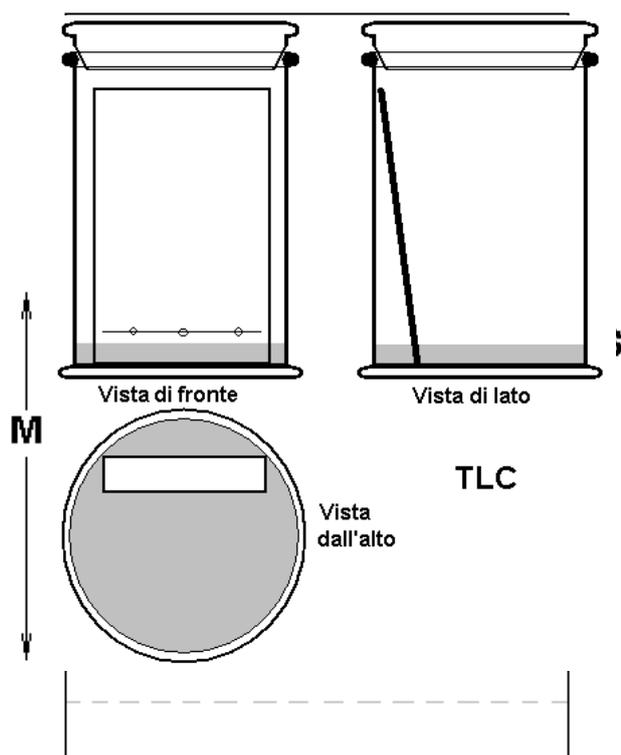
luce della Mineral Light (UV di 254 nm) e con una matita segnare le macchie visibili sulla lastra stessa.

Misurare la distanza percorsa dal fronte del solvente e per le singole sostanze (partire dal fronte delle macchie) rispetto all'origine, cioè la linea sulla quale si sono deposte le sostanze. Per ogni sostanza calcolare il valore dell' R_f (fattore di ritardo o di ritenzione), così definito:

$$R_f = \frac{\text{Distanza percorsa dalla macchia (cm)}}{\text{Distanza percorsa dal fronte del solvente (cm)}}$$

Questo valore è quindi sempre minore di 1 ed essendo caratteristico per ogni sostanza (naturalmente nelle stesse identiche condizioni sperimentali), permette quindi di identificare la sostanza. Basterà esaminare i valori riportati nelle apposite tabelle o preferibilmente eseguire un confronto con il valore ottenuto con la(e) sostanza(e) di riferimento deposta(e) sulla stessa lastrina. Bisogna ricordare però che anche la cromatografia, da sola, non può dare una risposta assoluta, i dati devono essere sempre confrontati con i risultati di altre prove.

Nell'esempio della lastrina per cromatografia sviluppata, nella figura sottoriportata, l' R_f della sostanza a sinistra sarà: $R_f = M/S$, cioè $4.9 \text{ cm} / 7.4 \text{ cm} = 0,66$



Vaschetta per cromatografia con lastrina appena introdotta.

ESECUZIONE PRATICA DELLA CROMATOGRAFIA

La sostanza da analizzare (1–3 mg) si scioglie in una piccola quantità di solvente organico (circa 1 ml); normalmente conviene usare acetone (non quello per asciugare la vetreria!), ma se la sostanza non si scioglie si può provare ad usare l'alcool metilico. Deporre la sostanza su piastra come prima descritto e controllare l'intensità della macchia dopo l'evaporazione del solvente, esponendo la piastra alla luce della Mineral Light (luce UV di 254 nm): si deve vedere una macchia scura ben definita.

Per l'eluizione della piastra sono disponibili due solventi, uno acido ed uno basico (la cui composizione è riportata a piè delle tabelle delle pagg. 128, 129 e 130); la maggior parte delle sostanze si possono analizzare con entrambi i sistemi, e questo è un vantaggio, perché può accadere che due sostanze che si comportano allo stesso modo in un solvente, e quindi non sono distinguibili, siano invece ben differenziabili nell'altro. Pertanto, prima di scegliere il solvente conviene considerare il comportamento nei due solventi delle sostanze che potrebbero interessare, esaminando i loro valori di R_f nelle tabelle riportate più avanti.

Fanno eccezione le penicilline: esse devono essere analizzate SOLO con il solvente acido, questo per motivi di stabilità. Anche il loro metodo di rilevamento è esclusivo: con la Mineral Light si vedono solo quelle contenenti gruppi aromatici, per le altre penicilline va usata la reazione chimica descritta più avanti.

CROMATOGRAFIA DI PENICILLINE

Sciogliere 1–3 mg di sostanza in 1 ml di alcool metilico agitando ma senza riscaldare; deporre su piastra come descritto. Sviluppare la piastra usando il SOLVENTE ACIDO. Per il rilevamento delle macchie procedere come segue:.

- a) asciugare la piastra con il fohn
- b) immergerla nella soluzione di permanganato di potassio con l'aiuto di una pinzetta
- c) scaldare la lastrina con il pohn fino a che non si vede la comparsa delle macchie bianche

N.B. Le operazioni di sviluppo delle piastre si devono fare sotto cappa e, per evitare di macchiare di permanganato, l'asciugatura con il pohn deve essere eseguita sopra ad un foglio di alluminio che sarà posizionato sotto cappa.

CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE (TLC)

In ordine alfabetico

SOSTANZA	Rf Solv. Acido**	Note	Rf Solv. Basico***	Note
Acido nicotinic	0,38		0,32	
Allopurinolo	0,52		0,56	
Aminofenazone	0,20		0,77	
Aminofillina	0,47		0,47	
Ampicillina	0,11	*		
Benzilpenicillina	0,52	*		
Caffeina	0,38		0,73	
Cefalexina	0,20	*		
Cefalotina sodica	0,52	*		
Cefuroxina sodica	0,43	*		
Chinina cloridrato	0,15	(macchia fluor.)	0,80	(macchia fluor.)
Clomifene citrato	0,50		0,96	
Cloxacillina	0,75	*		
Fenacetina	0,73		0,87	
Ftalilsulfatiazolo	0,58		0,24	(2 ^a macchia 0.55)
Furazolidone	0,48	(macchia gialla)	0,76	(macchia gialla)
Indometacina	0,84		0,74	
Isoniazide	0,13		0,56	
Lidocaina cloridrato	0,99		0,32	
Nicotinammide	0,26		0,32	
Nitrofurantoina	0,65	(macchia gialla)	0,40	(macchia gialla)
Papaverina cloridrato	0,13		0,88	
Paracetamolo	0,72		0,78	
Procaina cloridrato	0,47		0,88	(macchia gialla)
Succinilsulfatiazolo	0,50		0,16	
Sulfadiazina	0,69		0,37	
Sulfadimetoxina	0,68		0,84	
Sulfaguanidina	0,35		0,66	
Sulfamerazina	0,71		0,37	
Sulfametazina	0,71		0,54	

CROMATOGRAFIA SU STRATO SOTTILE (TLC)

Sulfametoxazolo	0,73		0,74	
Sulfametoxipiridazina	0,60		0,77	
Sulfatiazolo	0,58		0,55	
Sulfisossazolo	0,65		0,82	
Teofillina	0,48		0,48	
Tolbutamide	0,68		0,84	

81

Rilevamento: osservazione alla Mineral light (254 nm), tranne:

- * Rilevamento: vedi cromatografia di penicilline
- ** acetato di butile, metanolo, acido acetico 100%, acqua (6,5:2,0:0,5:0;5)
- *** acetato di etile, metanolo, ammoniaca 25% (85:30:25)

PUNTO DI FUSIONE

Preparazione del campione: il campione deve essere asciutto, omogeneo e sotto forma di polvere. Quando risulta necessario, occorre quindi frantumare finemente in mortaio la sostanza cristallina in esame.

Introdurre una piccola quantità (circa 3–4 mm in altezza) nel capillare chiuso, battendo sul ripiano per farla scorrere lungo le pareti. Non impaccarla troppo.

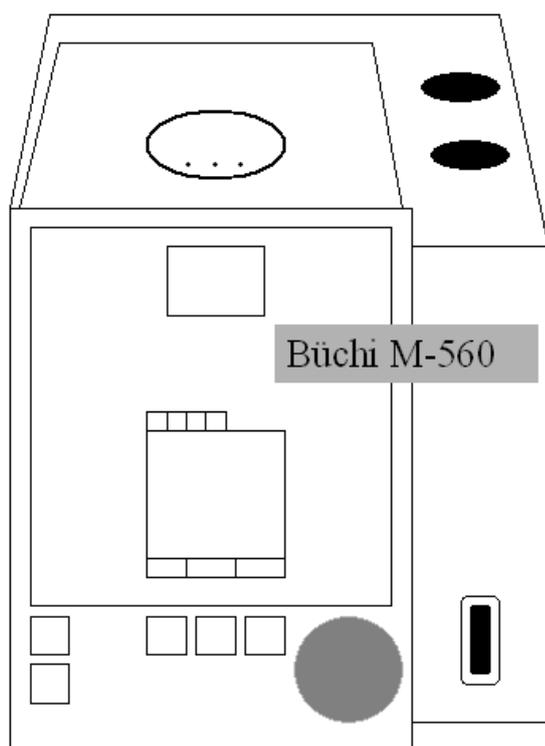
Verificare che non vi siano capillari all'interno degli alloggiamenti. Accendere lo strumento.



Apparecchio per punti di fusione BÜCHI M-560.

Sul display compare la schermata corrispondente a PUNTO DI FUSIONE, ed evidenziato in verde il metodo LAB1 utilizzato in questo Corso di Analisi. Presenta una temperatura iniziale di 40°C, una temperatura finale di 280°C, con un gradiente di temperatura di 20°C/min.

Premere START, il pulsante verde a sinistra. Attendere il segnale acustico che indica quando la temperatura della cella di alloggiamento si è stabilizzata. Inserire quindi il capillare nell'alloggiamento e premere di nuovo START. Osservare il campione



mediante la lente e visualizzare nel display il corrispondente valore di temperatura del blocco.

È possibile marcare sul display fino a tre valori di temperatura significativi, quando si cominciano ad osservare i primi cambiamenti nello stato del campione, da cui ricavare gli estremi dell'intervallo di fusione. Per fare questo, basta premere il tasto quadrato grigio (sotto il display), in corrispondenza a REGOLA, incolonnato con l'alloggiamento del capillare. Il valore di temperatura viene marcato, mentre continua l'analisi e quindi il riscaldamento della cella.

PUNTO DI FUSIONE

Sostanza	P. F. (°C)	Solub.	Comp.	Cl/Cu	Cl/MnO ₂	Cl/Ag ⁺
Cloralio idrato	51–55			+	+	–
Lidocaina cloridrato	76–79	MS	n	+	+	+
Propile para–idrossibenzoato	95–98	i				
Acido citrico	100–130 *	MS				
Aminofenazone	107–109	S	N			
Chinina cloridrato	108–115 *	S	n	+	+	+
Fruttosio	110–114	MS				
Acido benzoico	120–122	i				
Clomifene citrato	120–122	i	n	+	+	–
Nicotinamide	123–130	MS	n			
Tolbutamide	125–127	i	n s			
Metile para–idrossibenzoato	125–128	i				
Benzilpenicillina procainica	128–131	i	n s			
	D					
Acido acetilsalicilico	136–138	i				
Glucosio	147	MS				
Procaina cloridrato	153–156	MS	n	+	+	+
Acido salicilico	156	i				
Indometacina	159–161	i	n	+	+	–
Acido tartarico	170	MS				
Isoniazide	170–173	MS	n			
Sulfametoxazolo	171–172	i	n s			
Paracetamolo	171–173	ps	n			
Sulfametoxipiridazina	180–182	i	n s			
Saccarosio	187	MS				
Acido ascorbico	190–192	MS				
Sulfaguanidina	190–193	i	n s			
Sulfisossazolo	193	i	n s			
Sulfametazina	194–195	i	n s			
Acido glutammico	195–202	ps	n			
Succinilsulfatiazolo	198–200	i	n s			
Sulfatiazolo	199–204	i	n s			

PUNTO DI FUSIONE

Sulfadimetoxina	201–203	i	n s			
Lattosio	212–214	MS				
Papaverina cloridrato	215–220	S	n	+	+	+
Efedrina cloridrato	217–220	S	n	+	+	+
Prometazina cloridrato	221–225	MS	n s	+	+	+
Sulfamerazina	234–235	i	n s			
Acido nicotinico	234–237	ps	n			
Caffeina	234–237	ps	n			
Furazolidone	248–249	i	n			
Cefalexina	250–260 D	MS	n s			
Nitrofurantoina	258	i	n			
Sulfadiazina	252–255	i	n s			
Ftalilsulfatiazolo	270–273	i	n s			
Teofillina	270–274	MPS	n			
Aminofillina (1)	270–274	MS	n			
Allopurinolo	> 260 D	i	n			

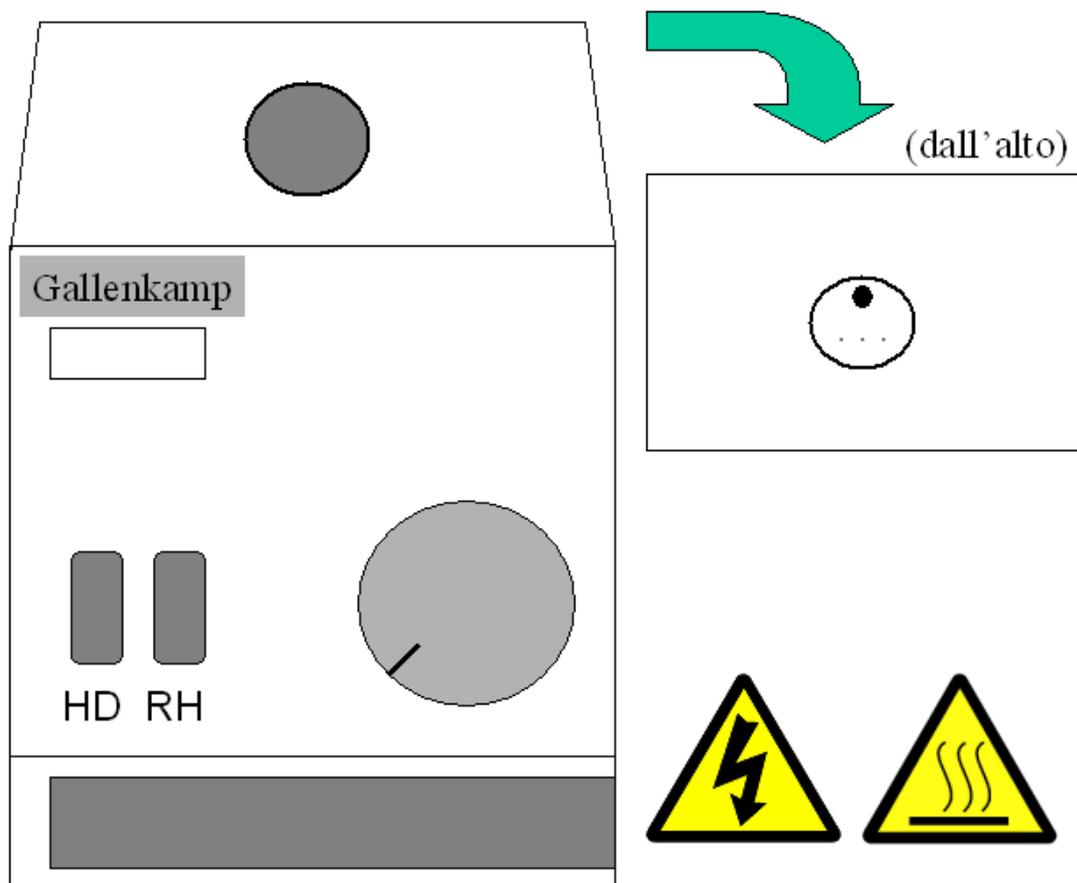
* Punto di fusione non indicativo **D** = decomposizione (1) a 150° distilla etilendiamina

Al termine dell'analisi, premere il pulsante rosso STOP, e quindi, dopo aver preso nota dei dati, premere il pulsante grigio in corrispondenza a FINE. Si accenderà contemporaneamente il sistema di raffreddamento automatico dell'apparecchio. Togliere il capillare dall'alloggiamento e lasciare pulita la postazione. Eliminare il capillare sporco nel contenitore del vetro.

Apparecchio per punti di fusione GALLENKAMP.

PUNTO DI FUSIONE

Controllare che la temperatura della cella di alloggiamento sia al di sotto di 40°C, ruotando al minimo la manopola, in modo da visualizzare la temperatura sul display. Togliere il blocco refrigerante dal foro di alloggiamento prima di procedere ad inserire il capillare.



85

Inserire il capillare nell'alloggiamento centrale appoggiandolo sopra il piedistallo e procedere con il riscaldamento. Ruotare la manopola VARIABLE HEATER (7–8) per fornire un riscaldamento “veloce” lontano dal punto di fusione. Controllare l'innalzamento di temperatura della cella sul display. Man mano che ci si avvicina al punto di fusione, rallentare il riscaldamento (3–4–5) per poter osservare meglio il passaggio di stato. Bloccare la lettura della temperatura sul display mediante il tasto **HOLD DISPLAY** quando si comincia a cogliere l'inizio del passaggio di stato (attenzione: il tasto **Hold display** blocca la temperatura che si legge sul display, ma non blocca il flusso di calore che viene fornito al campione, per cui il processo di fusione continuerà). Annotare tale temperatura e poi sbloccare l'**Hold display** per verificare la temperatura finale di fusione. Le due temperature costituiscono gli estremi dell'intervallo di fusione della sostanza in esame.

Chiudere lo strumento ruotando del tutto la manopola del reostato, fino a spegnere il display. Togliere il capillare dall'alloggiamento ed inserire il blocco refrigerante

PUNTO DI FUSIONE

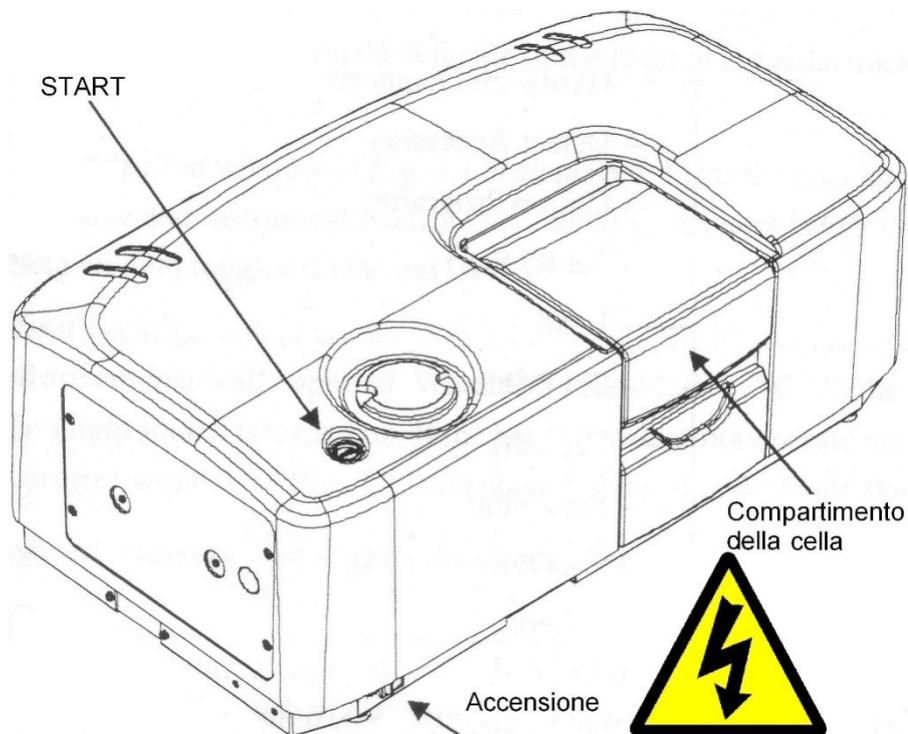
nell'opportuno foro di entrata. Aprire un poco il rubinetto dell'aria compressa e lasciare pulita la postazione. Eliminare il capillare sporco nel contenitore del vetro.

La tabella dei punti di fusione delle sostanze che trattiamo in laboratorio è a pag. 132.

UTILIZZO DEL POLARIMETRO

P-2000 Jasco

Preparare la soluzione secondo le istruzioni ricevute. Portare nel locale dello strumento solo la soluzione, una spruzzetta con acqua deionizzata, una pipetta



Pasteur e un bicchiere per i rifiuti.

Indicazioni pratiche sull'utilizzo del polarimetro:

Preparare una soluzione a concentrazione nota di sostanza. Si ricorda che la concentrazione dovrà essere convertita in g/ml per calcolare il Potere Rotatorio Specifico.

Portare con sé al polarimetro solo:

1. la soluzione del campione,
2. una spruzzetta con acqua deionizzata,
3. un beaker per scarti e lavaggi,
4. foglio e penna per gli appunti,
5. una pipetta Pasteur (opzionale), per aiutarsi nella fase di riempimento della cuvetta.

Le operazioni relative all'analisi del campione possono essere così riassunte:

1. Sciacquare bene la cuvetta servendosi della spruzzetta.

2. Posizionare la cuvetta vuota nell'alloggiamento dello strumento e cliccare su "ZERO CLEAR". In questo modo polarizzatore e analizzatore verranno allineati e il valore della rotazione ottica verrà azzerato.
3. Riempire la cuvetta con il solvente d'uso (acqua deionizzata) e procedere all'analisi del "bianco", cliccando su "BLANK". Dopo che lo strumento avrà effettuato tre misure, la schermata del computer tornerà attiva e si potrà procedere con l'analisi del campione.
4. Avvinare la cuvetta con la soluzione di campione.
5. Riempire la cuvetta con la soluzione di campione e procedere con la misurazione, cliccando su "SAMPLE".
6. Effettuare la media dei tre valori di Rotazione Ottica (α) ottenuti, e utilizzare il valore medio per il calcolo del Potere Rotatorio Specifico.

Calcolo del Potere Rotatorio Specifico:

$$[\alpha]^{20}_D = \frac{\alpha}{cl}$$

dove:

20 = Temperatura 20°C

D = riga D dello spettro del Sodio

α = Rotazione Ottica (rilevata dal polarimetro)

l = cammino ottico (espresso in dm)

c = concentrazione del campione (espressa in g/ml)

Esempio:

Concentrazione del campione: 2.6 % m/V

$$2.6 \text{ (g): } 100 \text{ (ml)} = x \text{ (g): } 1 \text{ (ml)} \longrightarrow x = \frac{2.6 \text{ (g)}}{100 \text{ (ml)}} = 0.026 \text{ g/ml}$$

$$[\alpha]^{20}_D = \frac{\alpha \text{ misurato}}{0.026 \text{ (g/ml)} * 1 \text{ (dm)}}$$

UTILIZZO DEL POLARIMETRO

Dati di FUI X su sostanze otticamente attive trattate in Analisi dei Medicinali I

Sostanza	$[\alpha]_{20/D}$	% p/v	Solvente
Acido L ascorbico	+20,5° / +21,5°	10	H ₂ O
Acido L glutammico	+31.5±1.0°	10	1 M HCl
Acido L tartarico	+12.0° / +12.8°	20	H ₂ O
Benzilpenicillina potassica	+ 270° / + 300°	2	(1)
Chinina Cloridrato	- 245° / - 258°	2	0.1 M HCl
Efedrina Cloridrato	+ 33,5° / + 35,5	5	H ₂ O
Fruttosio	- 91,0° / - 93,5°	10	(3)
Glucosio	+ 52,5° / + 53,3°	10	(3)
Lattosio	+ 52,3°	4,5	(3)
Saccarosio	+ 66,3° / + 67,0°	26	H ₂ O

(1)acqua esente da anidride carbonica R (2)acqua R e acetone R 2:3

(3) FUI X: in 80 ml di *acqua R*, aggiungere 0,2 ml di *ammoniaca diluita R1*, lasciare a riposo per 30 min e diluire a 100,0 ml con *acqua R*

UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV-VIS

Preparazione del campione:

Sciogliere una punta di spatola della sostanza in provetta con qualche ml di acqua e mescolare. Lo spettro UV va registrato con assorbanza massima 1 ($A < 1$). In alcuni casi ci si può spingere, solo con scopi qualitativi a valori più alti ma comunque inferiori a DUE ($A < 2$).

Prendere la spruzzetta dell'acqua deionizzata, la provetta con il campione, una pipetta Pasteur e un bicchiere e recarsi alla stanza degli spettrofotometri. Prima di entrare, togliere i guanti.

90

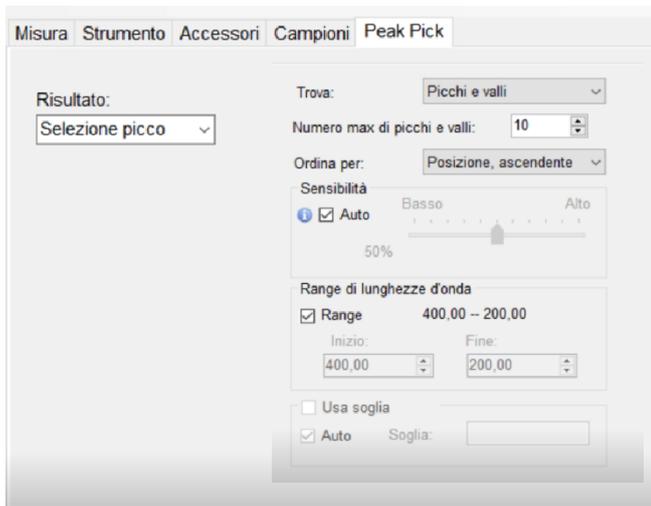
STRUMENTO Thermo Fisher Evolution 201



1. Accendere strumento e tablet; se lo strumento è acceso e con il bianco eseguito impostato passare direttamente al punto 10;
2. Avviare il programma "Thermo INSIGHT" dal tablet;
3. Selezionare il tipo di esperimento "LAM1";
4. Per verificare le impostazioni Selezionare "INSTRUMENT" dalla finestra;
5. Controllare eventualmente le seguenti impostazioni (da tastiera);

Misura	Strumento	Accessori	Campioni	Peak Pick
Modalità dati:	Assorbanza			
Fattore:	1,00			
Smooth:	Nessuno			
Derivata:	Nessuno			
Lunghezza d'onda iniziale:	400,00			nm
Lunghezza d'onda finale:	200,00			nm
banda passante:	1 nm			
Tempo integrazione:	0,05			sec
Intervallo dati:	1,00			nm
Velocità scansione:	1200,00			nm/min
Tempo previsto:	13,0			sec

UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV-VIS



6. Posizionare la cuvette contenente il bianco nello scompartimento per il bianco (non porta campioni !!), prestando attenzione ad inserirla nella corretta posizione (attenzione alle due pareti opache !!) ed assicurarsi di averla premuta verso il basso finchè il fondo della provetta tocca la parte inferiore dell'apposito alloggiamento (potrebbe servire un po' di forza), riempiendo la cuvette fino a circa $\frac{3}{4}$ del volume totale;
7. Posizionare la cuvette (in quarzo se si lavora in UV) contenente il bianco nello scompartimento porta campione (non scompartimento per il bianco !!), prestando attenzione ad inserirla nella corretta posizione (attenzione alle due pareti opache !!) ed assicurarsi di averla premuta verso il basso, finchè il fondo della provetta tocca la parte inferiore dell'apposito alloggiamento (potrebbe servire un po' di forza), riempiendo la cuvette fino a circa $\frac{3}{4}$ del volume totale;
8. Cliccare su "OK" sulla finestra del tablet;
9. Lo strumento registrerà il "bianco";
10. Al termine della registrazione del "bianco", apparirà sullo schermo del tablet una finestra che richiederà il nome identificativo che si desidererà dare al campione;
11. Inserire il nome identificativo del campione da tastiera;
12. Sostituire il bianco della cuvette presente sullo scompartimento portacampioni, con il campione da analizzare dopo aver avvinato la cuvette con il campione stesso, riempiendo la cuvette fino a circa $\frac{3}{4}$ del volume totale;
13. Cliccare su "CONTINUE";
14. Lo strumento registrerà lo spettro;

UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV–VIS

15. Se il valore dell'assorbanza nel punto massimo dei picchi risulta maggiore di 1 per determinazioni quantitative (2 per analisi qualitative), occorrerà rieffettuare la lettura dopo aver diluito opportunamente il campione;
16. Una volta ottenuto lo spettro lo si può stampare lo spettro con Print”;

STRUMENTO **Thermo Fisher Helios**

Accendere lo strumento e attendere qualche minuto che le lampade si stabilizzino.

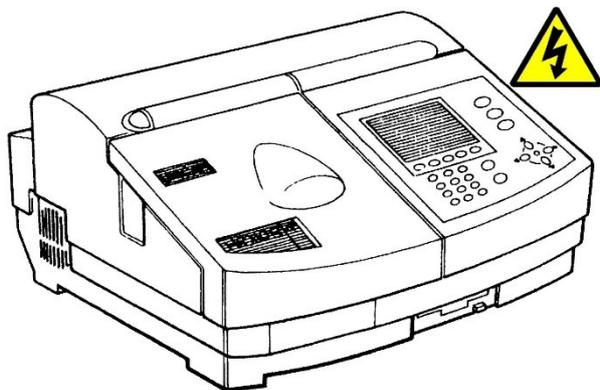
Premere il tasto **HOME** in alto a destra, che invia alla schermata iniziale. Selezionare con i pulsanti a freccia, fino ad evidenziare il programma SCANSIONE. Premere il tasto giallo **ENTER**. Nella schermata del programma è possibile, usando i pulsanti a freccia, selezionare e modificare ciascuna voce mediante il pulsante **ENTER**. Procedere alla voce successiva solo quando lo strumento ha eseguito il comando richiesto.

Questa tabella rispecchia l'impostazione standard del programma che viene utilizzato.

Tipo di scansione	INTELLISCAN	Tabella picchi	PICCHI E VALLI
Modo	ABS	Grafico max	1.000 o 2.000
Inizio	200.0 nm	Grafico min	0.000
Fine	400.0 nm	Smoothing	NESSUNO
B.passante	2.0 nm	Cambio lampada	325 nm
Velocità	NORMALE	Prog cuvette	OFF
Intervallo punti	1.0 nm	Rif Modo	OFF

Preparare la cuvetta con il bianco, nel nostro caso acqua deionizzata, e inserirle negli alloggiamenti del bianco e del campione. Le cuvette vanno inserite in modo che la parete opaca non interferisca con il raggio della lampada. Premere il tasto **ZERO** **BASE** per l'allineamento. (Di solito questa operazione viene fatta dai tecnici all'inizio della giornata di lavoro. In questo caso, non toccare mai la cuvetta con il solo bianco). Pulire più volte con acqua deionizzata della propria spruzzetta la cuvetta che conterrà il campione, avendo l'attenzione di prenderla toccando solo le pareti opache. Riempire con la soluzione acquosa in esame e asciugare le pareti con un fazzolettino di carta. Inserire la cuvetta nell'alloggiamento del campione, chiudere il coperchio e leggere sul display in alto a destra l'assorbanza del campione a 200 nm. Procedere se necessario con opportune diluizioni (o eventualmente aggiungendo qualche goccia della

soluzione concentrata) in cuvetta fino a portare l'assorbanza intorno al valore di 1,000.



Premere il tasto **RUN** per far partire la scansione. Seguire l'analisi mediante la visualizzazione del grafico. Al termine, quando scompare la scritta MISURA DEL CAMPIONE, premere il pulsante corrispondente a **STAMPA GRAFICO** per stampare il grafico ottenuto.

Togliere la cuvetta campione, eliminare il contenuto e lavarla più volte con l'acqua della spruzzetta. Asciugare le pareti e inserirla nell'alloggiamento. Prendere con sé tutto il materiale portato per l'analisi e lasciare la postazione di lavoro pulita e in ordine (come vi piacerebbe trovarla).

N.B. È possibile terminare la scansione prima della fine premendo il pulsante **STOP**. Attendere la scomparsa della scritta SCANSIONE ANNULLATA quindi aprire lo sportello.

Elenco delle sostanze con spettri UV caratteristici

(in ordine alfabetico)

Sostanza	N°	Grup	MAX	MAX	MAX	min	min	min
Acido acetilsalicilico	66	1	270			260		
Acido ascorbico		0						
Acido benzoico	69	3	270	228		260	210	
Acido citrico		0						
Acido glutammico		0						
Acido nicotinico	71	1	262			238		
Acido salicilico	65	3	298	230		260	222	
Acido tartarico		0						
Allopurinolo	88	1	252			232		
Amido		0						
Aminofenazone	75	3	262	222		248	230 (Flesso)	
Aminofillina (Teofillina etilendiammina)	92	1	272			244		
Ampicillina sodica	55	5						
Benzilpenicillina potassica	52	5						
Bismuto salicilato basico		3	298	230		260	222	
Caffeina	90	1	274			246		
Caffeina e sodio benzoato	45	1	272			250		
Calcio Glicerofosfato		0						
Calcio gluconato		0						
Calcio lattato		0						
Cefalexina	103	1	260			236		
Cefalotina sodica	52	2	238			216		
Cefuroxima sodica	125	1	276			224		
Chinina cloridrato	82	4	334	236	208	304	224	
Clomifene citrato	118	3	290	234		268	224	
Cloralio idrato		0						
Cloramfenicolo	93	1	278			238		
Cloxacillina sodica	53	5						
Efedrina cloridrato	87	4	264	258	252	262	254	228

UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV-VIS

Fenacetina	96	1	246			218		
Fenitoina sodica		0						
Fenossimetilpenicillina	113	3	274	268		272	250	
Fruttosio		0						
Ftalilsulfatiazolo	110	3	286	266		270	232	
Furazolidone	81	3	362	262		296	214	
Furosemide	120	4	332	278	230	308	252	
Glucosio		0						
Indometacina	119	3	322	268		302	244	
Isoniazide	73	1	264			228		
Lattosio		0						
Lidocaina cloridrato	117	3	270	264		272	256	
Mannitolo		0						
Metile paraidrossibenzoato	68	1	256			226		
Nicotinamide	72	3	264	214		246	204	
Nitrofurantoina	80	3	362	268		302	214	
Nitrofurazone	78	3	370	262		308	216	
Papaverina cloridrato	83	3	310	252		272	214	
Paracetamolo	97	1	244			218		
Piombo acetato		0						
Potassio e antimonile tartrato		0						
Procaina cloridrato	84	3	292	222		244	210	
Prometazina cloridrato	101	3	300	250		274	222	
Propile paraidrossibenzoato	67	1	256			226		
Saccarosio		0						
Sodio benzoato	31	2	224			212		
Sodio citrato		0						
Sodio etilmercurio tiosalicilato	51	5						
Sodio aminosalicilato	46	4	300	266	208	286	246	
Sodio salicilato	30	3	298	230		260	222	
Succinilsulfatiazolo	111	3	282	260		268	224	
Sulfadiazina	107	2	266			230		
Sulfadimetossina	126	1	262			232		
Sulfaguanidina	105	1	260			228		

UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV-VIS

Sulfamerazina	108	3	266	242		248	224	
Sulfametazina	109	3	264	242		250	222	
Sulfametossazolo	128	1	268			238		
Sulfametossipiridazina	106	2	264			236		
Sulfatiazolo	104	3	286	260		268	228	
Sulfisossazolo	127	1	264			226		
Teofillina	91	1	272			244		
Tetraciclina cloridrato	85	3	358	276		322	234	
Tiamina cloridrato	102	3	264	244		256	214	
Tolbutamide	115	1	228			216		
Trimetoprim	116	1	278			260		

97

Nota: il "Gruppo 0" non presenta assorbimenti osservabili
 il "Gruppo 5" presenta assorbimenti, ma gli spettri non sono significativi
 Anche la mancanza di assorbimenti può, però, essere significativa!

Si tenga presente che nell'elenco sono riportate anche alcune sostanze che non sono più trattate per quanto riguarda le reazioni di identificazione della dispensa.

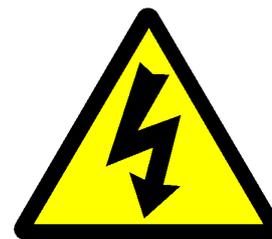
NOTA BENE: nel mentre in biblioteca del Dipartimento sono disponibili le collezioni di spettri IR ed NMR (The Aldrich Library of Infrared spectra e The Aldrich Library of ¹³C and ¹H FT NMR spectra), che sono molto utili (ovviamente non esaustive), non abbiamo disponibile una simile raccolta di spettri UV, oltre a quella di laboratorio.

Per molti dei prodotti che analizziamo possono essere utili dei siti Internet, fra cui:
http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi che contiene lo Spectral Database for Organic Compounds, SDBS.

<http://www.sigmaaldrich.com/technical-service-home/product-catalog.html> con gli spettri (e le MSDS) di molte delle sostanze vendute dalla Ditta Sigma Aldrich

UTILIZZO DELLA CENTRIFUGA

Mettere la sospensione da centrifugare nella apposita provetta da centrifuga. Prendere una provetta da centrifuga vuota e riempirla con la stessa quantità di acqua, in modo che le due provette siano riempite con lo stesso volume di soluzione. Non riempirle oltre 8–9 ml. Accendere la centrifuga.

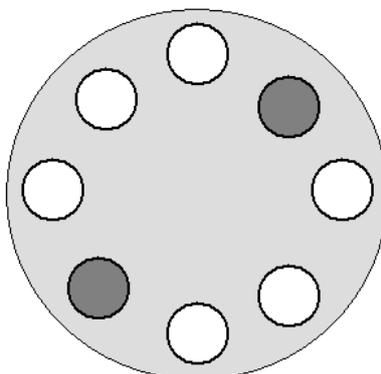


98

Controllare le impostazioni di tempo e giri (rpm), in maniera che non si superino i 3000 rpm per 5 minuti. Eventualmente modificarle con i tasti a freccia.

Premere il pulsante di apertura dello sportello della centrifuga e contemporaneamente aprire lo stesso tirandolo leggermente verso di sé. Alloggiare le provette a coppie in maniera che sia rispettata la simmetria radiale, cioè posizionandole in modo che ciascuna provetta e la sua “controprovetta” giacciono su una linea che passa per il centro del rotore (vedi disegno qui in basso). Coppie diverse di provette possono contenere quantità diverse di soluzione.

Chiudere lo sportello tirandolo leggermente verso di sé, senza sbattere. Premere il pulsante **START**. Attendere fino al segnale acustico (clic). Premere di nuovo il pulsante di apertura dello sportello e aprire lo stesso. Togliere le provette dagli alloggiamenti. Richiudere lo sportello.



UTILIZZO DEL pH-METRO

Preparare circa 25–30 ml della soluzione acquosa di cui si vuole determinare il pH, in un becker o in una beuta da 50 ml. Portare alla postazione del pHmetro anche un becker vuoto e la spruzzetta dell'acqua deionizzata.

Accendere lo strumento premendo il pulsante generale on/off ①.

La calibrazione dello strumento è già stata eseguita e ripetuta di tanto in tanto dal personale tecnico, mediante due soluzioni standard a pH 4,01 e pH 7,01.

Togliere l'elettrodo dal becker contenente acqua o dal cappuccio contenente una soluzione di KCl. **L'elettrodo non deve mai andare a secco!**

Sciacquare l'elettrodo ② con l'acqua della spruzzetta, avendo l'accortezza di raccogliercela nel bicchiere vuoto.

Inserire con mano delicata l'elettrodo nel becker contenente la soluzione di cui si vuole determinare il pH, in modo che non sia troppo vicino al vetro (sia lateralmente che sul fondo), ma che il bulbo tondeggiante della membrana di vetro (FRAGILISSIMA!!) sia del tutto immerso nella soluzione.

Premere il pulsante Ent ③ e attendere che la misura sul display si stabilizzi.

Premere il pulsante Esc ④ per bloccare la misura sul display; prenderne nota.

Rimuovere il becker con la soluzione e sciacquare più volte l'elettrodo con l'acqua della spruzzetta. Lasciare l'elettrodo immerso nel becker con acqua deionizzata e poi controllare che sia pulito, facendo una nuova misura di pH, che dovrebbe stabilizzarsi intorno a 5,7–6.

Riportare al proprio bancone la spruzzetta dell'acqua deionizzata e i due becker contenenti la soluzione in esame e la soluzione sporca di lavaggio; completare eliminando correttamente i residui.



UTILIZZO SPETTROFOTOMETRO FT-IR

Per preparare un campione all'analisi IR allo strumento FT-IR Perkin Elmer occorre che questi sia allo stato solido di polvere per poter procedere alla preparazione alla pastiglia con KBr. Il KBr (il cui contenitore va tenuto sempre ben chiuso dopo aver prelevato il sale) si trova nella stanza dello strumento, così come il mortaio ed il pestello d'agata. Pestare finemente una punta di spatola di analita con 5-10 parti di KBr fino ad ottenere una polvere molto sottile ed omogenea.

Per ottenere il film utilizzare la comprimitrice come mostrato dal personale docente e tecnico. Vi verrà fornito anche un video con le modalità operative.

Il supporto è composto da quattro parti A-D (vedi figura):

- A) un anello metallico con foro da 13 mm
- B) Un perno inferiore (più piccolo)
- C) Un perno inferiore (più grande)
- D) Piastra per l'inserimento nello spettrofotometro FT-IR

Assemblare l'anello (A) e il perno inferiore (B) e coprire con la minima quantità di polvere la testa del cilindro in maniera omogenea. Inserire il perno superiore. A questo punto procedere alla pressa.

Inserire il supporto nella pressa e bloccare la piastra superiore tramite manovella superiore nera. Chiudere il circuito idraulico con la maniglia grigia frontale. E portare a pressione azionando più volte l'asta monitorando i valori di pressione che non superino i 10 MPa. Raggiunta la massima pressione attendere qualche secondo e svitare delicatamente e lentamente la maniglia grigia frontale per togliere la pressione. Rimuovere quindi il supporto e togliere delicatamente i perni per poterlo inserire nella placca D e inserirlo nello spettrofotometro.

Per registrare lo spettro: Avviare il software Spectrum v5.0. Per registrare il bianco assicurarsi che non ci sia un campione inserito e andare su:

Instrument -> Scan Background

Verificare che venga registrato uno spettro nel range 4000-400 cm^{-1} , 8 scansioni. Cliccare Ok ed eventualmente soprascrivere il file Bianco.

Per registrare lo spettro del campione:

inserire il campione

Instrument -> Scan Sample

Inserire il nome del file e lasciare i parametri preimpostati.

Per processare lo spettro cliccare sul nome dato e eseguire:

Process -> Baseline Correction -> Automatic Correction

UTILIZZO SPETTROFOTOMETRO FT-IR

Selezionare il nuovo spettro ottenuto (eventualmente cancellare i precedenti)

E eseguire:

Process -> Smooth -> Automatic Smooth

Cliccare sull'icona per ottenere il peakpeaking dei picchi di assorbimento e stampare lo spettro.

La seguente tabella elenca le frequenze di assorbimento infrarosse dei principali gruppi funzionali.

Absorbiti on peak (cm⁻¹)	Intensity	Group	Vibrational Mode	Group name	Notes
3700–3584	medium	O–H	stretching	alcohol	free
3550–3200	strong	O–H	stretching	alcohol	intermolecular bonded
3500–3400	medium	N–H	stretching	primary amine	
3400–3300 3330–3250	medium	N–H	stretching	aliphatic primary amine	
3350–3310	medium	N–H	stretching	secondary amine	
3300–2500	strong	O–H	stretching	carboxylic acid	usually centered on 3000 cm ⁻¹
3000–2800	strong	N–H	stretching	Amine salt	
3333–3267	strong	C–H	stretching	alkyne	
3100–3000	medium	C–H	stretching	alkene	
3000–2840	medium	C–H	stretching	alkane	
2830–2695	medium	C–H	stretching	aldehyde	doublet
2600–2550	weak	S–H	Stretching	thiol	
2349	strong	O=C=O	stretching	carbon dioxide	

UTILIZZO SPETTROFOTOMETRO FT-IR

2275– 2250	strong	N=C=O	stretching	isocyanate	
1818– 1750	strong	C=O	stretching	anhydride	
1815– 1785	strong	C=O	stretching	acid halide	disubstituted
1800– 1770	strong	C=O	stretching	conjugated acid halide	
1775 1720	strong	C=O	stretching	conjugated anhydride	
1770– 1780	strong	C=O	stretching	vinyl / phenyl ester	
1760	strong	C=O	stretching	carboxylic acid	monomer
1750– 1735	strong	C=O	stretching	esters	6–membered lactone monosubstituted
1750– 1735	strong	C=O	stretching	δ–lactone	γ: 1770
1745	strong	C=O	stretching	cyclopentanone	
1740– 1720	strong	C=O	stretching	aldehyde	
1730– 1715	strong	C=O	stretching	α,β–unsaturated ester	or formates

1725– 1705	strong	C=O	stretching	aliphatic ketone	or cyclohexanone or cyclopentenone
1720– 1706	strong	C=O	stretching	carboxylic acid	dimer
1710– 1680	strong	C=O	stretching	conjugated acid	dimer
1710– 1685	strong	C=O	stretching	conjugated aldehyde	
1690	strong	C=O	stretching	primary amide	free (associated: 1650)
1690– 1640	medium	C=N	stretching	imine / oxime	

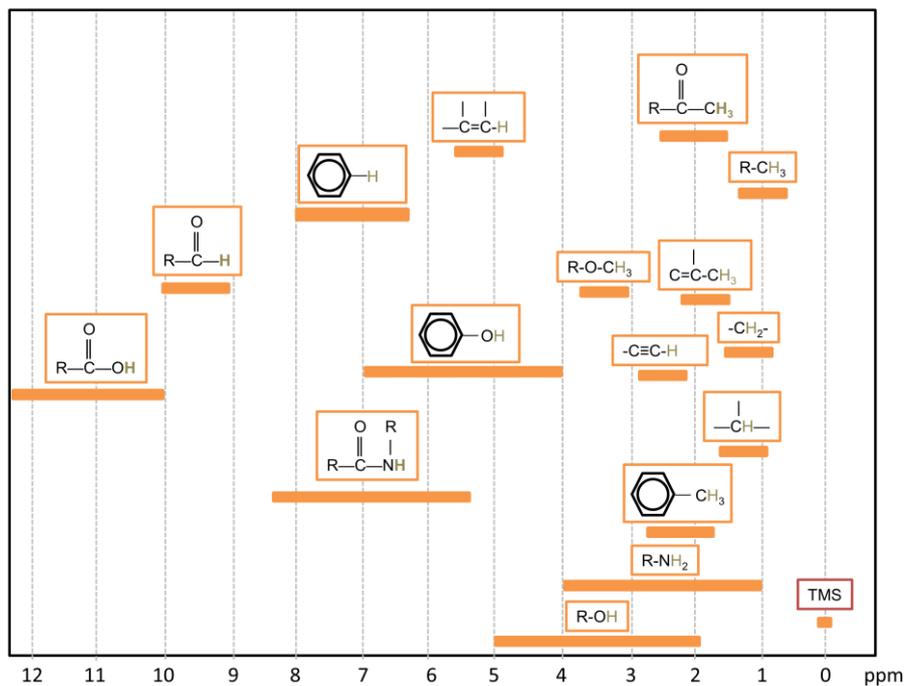
UTILIZZO SPETTROFOTOMETRO FT-IR

1685– 1666	strong	C=O	stretching	conjugated ketone	
1680	strong	C=O	stretching	secondary amide	free (associated: 1640)
1680	strong	C=O	stretching	tertiary amide	free (associated: 1630)
1678– 1668	weak	C=C	stretching	alkene	disubstituted (trans)
1675– 1665	weak	C=C	stretching	alkene	trisubstituted
1675– 1665	weak	C=C	stretching	alkene	tetrasubstituted
1662– 1626	medium	C=C	stretching	alkene	disubstituted (cis)
1658– 1648	medium	C=C	stretching	alkene	vinylidene
1650– 1600	medium	C=C	stretching	conjugated alkene	
1650– 1580	medium	N–H	bending	amine	
1650– 1566	medium	C=C	stretching	cyclic alkene	
1648– 1638	strong	C=C	stretching	alkene	monosubstituted
1620– 1610	strong	C=C	α,β - unsaturat ed		

MATERIALE PER INTERPRETAZIONE SPETTRI

NMR

Schema Chemical Shift Protone



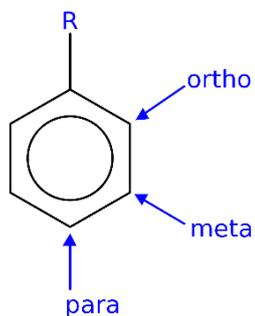
Lista Principali Chemical Shift

Tipo di Protone	≈Chemical Shift (ppm)	Tipo di Protone	≈Chemical Shift (ppm)
$(\text{CH}_3)_4\text{Si}$	0		6.5–8
$-\text{CH}_3$	0.9	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}-\text{H} \end{array}$	9.0–10
$-\text{CH}_2-$	1.3	$\begin{array}{c} \\ \text{I}-\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	2.5–4
$\begin{array}{c} \\ -\text{CH}- \\ \end{array}$	1.4	$\begin{array}{c} \\ \text{Br}-\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	2.5–4
$\begin{array}{c} \quad \\ -\text{C}=\text{C}-\text{CH}_3 \\ \quad \end{array}$	1.7	$\begin{array}{c} \\ \text{Cl}-\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	3–4
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}-\text{CH}_3 \end{array}$	2.1	$\begin{array}{c} \\ \text{F}-\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	4–4.5
	2.3	RNH_2	variable, 1.5–4
$-\text{C}\equiv\text{C}-\text{H}$	2.4	ROH	variable, 2–5
$\text{R}-\text{O}-\text{CH}_3$	3.3	ArOH	variable, 4–7
$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{CH}_2 \\ \\ \text{R} \end{array}$	4.7	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ -\text{C}-\text{OH} \end{array}$	variable, 10–12
$\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}=\text{C}-\text{H} \\ \quad \\ \text{R} \quad \text{R} \end{array}$	5.3		

Calcolo del chemical shift del anello aromatico secondo l'uso di costanti additive (Z_i). Vedi Sotto.			
Sostituente R	Z_{orto}	Z_{meta}	Z_{para}
H	0.0	0.0	0.0
CH₃^[a]	-0.18	-0.11	-0.21
C(CH₃)₃	0.02	-0.08	-0.21
CH₂Cl	0.02	-0.01	-0.04
CH₂OH	-0.07	-0.07	-0.07
CF₃	0.32	0.14	0.20
CCl₃	0.64	0.13	0.10
CH=CH₂	0.04	-0.04	-0.12
CH=CHCOOH^[a]	0.19	0.04	0.05
C C-H	0.15	-0.02	-0.01
C C-Ph^[a]	0.17	-0.02	-0.03
Ph^[a]	0.23	0.07	-0.02
COOH^[a]	0.77	0.11	0.25
C(O)OCH₃^[a]	0.68	0.08	0.19
C(O)OPh^[a]	0.85	0.14	0.27
C(O)NH₂^[a]	0.46	0.09	0.17
C(O)Cl^[a]	0.76	0.16	0.33
C(O)CH₃^[a]	0.60	0.10	0.20
C(O)C(CH₃)₃	0.44	0.05	0.05
C(O)H^[a]	0.53	0.18	0.28
C(NPh)H	0.6	0.2	0.2
C(O)Ph^[a]	0.45	0.12	0.23
C(O)C(O)Ph^[a]	0.62	0.15	0.30
CN^[a]	0.29	0.12	0.25
F	-0.29	-0.02	-0.23
Cl^[a]	-0.02	-0.07	-0.13
Br^[a]	0.13	-0.13	-0.08
I	0.39	-0.21	0.00
OH^[a]	-0.53	-0.14	-0.43
OCH₃^[a]	-0.45	-0.07	-0.41
O-C(O)CH₃^[a]	-0.27	-0.02	-0.13
O-C(O)Ph^[a]	-0.14	0.07	-0.09
OPh^[a]	-0.36	-0.04	-0.28
O-SO₂Me	-0.05	0.07	-0.01

MATERIALE PER INTERPRETAZIONE SPETTRI NMR

SH	-0.08	-0.16	-0.22
NH₂	-0.71	-0.22	-0.62
NEt₂^[a]	-0.68	-0.15	-0.73
NHC(O)CH₃^[a]	0.14	-0.07	-0.27
NO₂^[a]	0.87	0.20	0.35



106

$$\delta_{\text{Ar-H}} = 7.36 + Z_{\text{ortho}} + Z_{\text{meta}} + Z_{\text{para}}$$

Valori ottenuti J. Am. Chem. Soc. 1956, 78, 3048 at 30 MHz in Cicloesano al 50%.

[A] Valori ottenuti in CDCl₃ (P Schatz, University Wisconsin, Madison).

APPENDICE

ELENCO DEI REATTIVI

Quando non è detto altrimenti, si intende che il solvente è l'acqua.

Le concentrazioni percentuali sono espresse in m/v.

107

Acido fosfomolibdico: soluzione satura.

Acido picrico: soluzione acquosa satura (circa 1.25%).

Acido picrolonico: soluzione alcoolica al 2.5%.

Acido tannico: soluzione al 10%.

Acqua di bromo: 35 g di bromo in 1 litro di acqua.

Acqua di cloro: soluzione satura.

Ammonico cloruro: soluzione al 10%.

Ammonio ossalato: soluzione al 5%.

Anilina acetato: soluzione di anilina al 10% in acido acetico al 10%.

Argento nitrato: soluzione al 5%.

Azzurro di bromotimolo: 0.1 g si sciolgono a caldo in 3,2 ml di sodio idrossido 0,05M e 5 ml di alcool a 90°; dopo dissoluzione si porta a 250 ml con alcool a 20°.

Bario cloruro: soluzione al 10%.

Bario idrossido: soluzione satura.

Cadmio acetato: soluzione al 20%.

Calcio cloruro: soluzione al 10%.

Cobalto nitrato: soluzione 0,2 M.

p-Dimetilaminobenzaldeide: 40 mg in 2 ml di alcool etilico a 95° e 2 gocce di acido cloridrico concentrato. (Reattivo di Ehrlich).

2,4-Dinitroclorobenzene: soluzione al 10% in cloroformio.

2,4-Dinitrofenilidrazina. A 0,5 g aggiungere 5 ml di acido cloridrico conc. e 100 ml di alcool, scaldando a b.m. fino a dissoluzione completa. Aggiungere 1 ml di acido cloridrico conc., mescolare e lasciare a riposo al buio per circa 12 h. Filtrare.

Ditizone: soluzione allo 0.05% in cloroformio.

Ferro cloruro (ferrico): soluzione al 10%.

Giallo di Clayton: soluzione allo 0.1%.

Idrogeno perossido (Acqua ossigenata): 33 volumi.

Magneson I: soluzione allo 0.01% in sodio idrossido 0,2M.

Mercurio cloruro (mercurico): soluzione al 20%.

Miscela magnesiaca: si sciolgano in 10 ml di acqua 1 g di magnesio solfato, 1 g di ammonio cloruro, 4 g di ammoniaca al 20%; dopo alcuni giorni si filtra.

α -Naftilammia: soluzione all'1% in alcool etilico a 95°.

α -Naftolo: soluzione all'1% in alcool etilico a 95°.

β -Naftolo: soluzione all'1% in alcool etilico a 95°.

Ninidrina: soluzione all'1% in alcool etilico a 95°.

Piombo acetato: soluzione al 10%.

Piridil-piridinio dicloruro: soluzione all'1%.

Potassio ferricianuro: soluzione al 10%.

Potassio ioduro: soluzione al 10%.

Rame acetato: soluzione allo 0.3%.

Rame Solfato: soluzione al 5%.

Reattivo di Bouchardat: si sciolgano 3 g di potassio ioduro e 2 g di iodio nella minima quantità di acqua. Si diluisca quindi al volume di 100 ml.

Reattivo di Denigés : 5 g di ossido mercurico giallo si sciolgano in un miscuglio di 100 ml di acqua e 20 ml di acido solforico concentrato.

Reattivo di Ehrlich, vedi: p-Dimetilaminobenzaldeide.

Reattivo di Fehling A: 34.6 g di rame solfato in 500 ml di acqua.

Reattivo di Fehling B: si sciolgano in acqua 60 g di sodio idrossido e 173 g di sodio e potassio tartrato fino ad ottenere 500 ml di soluzione.

Reattivo di Jaksch: fenilidrazina p. 1, sodio acetato p. 2, acido acetico al 50% p. 20.

N.B.:La fenilidrazina contenuta nel Reattivo di Jaksch è classificata **H350**

Reattivo di Mayer: mercurico cloruro g 1.35; potassio ioduro g 5; acqua g 100.

Reattivo di Millon: si mescolino 500 g di mercurio con 680 g di acido nitrico conc. fino a scomparsa dei vapori rosso-bruni; si diluisca la soluzione con pari volume di acqua.

Reattivo di Nessler: si sciolgano 50 g di potassio ioduro in 50 ml di acqua bollente e si aggiunga poco a poco una soluzione acquosa satura a freddo di mercurico cloruro fino a che una goccia produca un precipitato rosso persistente. Alla soluzione si aggiungano 150 g di potassio idrossido scolti in 500 ml e si diluisca con acqua al volume di 1 litro. Dopo alcuni giorni si decanti la soluzione limpida.

Reattivo di Parri: soluzione al 3% di cobalto nitrato in metanolo.

Reattivo di Zwikker: 5 ml di piridina, 40 ml di rame solfato al 10% e 50 ml di acqua.

Reattivo Iodio–salda d'amido: miscela di una soluzione di salda d'amido all'1%, acido acetico glaciale, iodio 0,05M, nella proporzione 50 : 3 : 1.

Sodio bicarbonato: soluzione satura (circa 7%).

Sodio Fosfato: soluzione al 10%.

Sodio nitrito: soluzione al 5%.

Sodio nitroprussiato: soluzione al 5%.

Stagno cloruro (stannoso): a 113 g di stagno cloruro si aggiungano 100 ml di acido cloridrico concentrato. Si agiti per alcuni secondi e si aggiungano 200 ml di acqua ed alcuni pezzetti di stagno granulare. Si riscaldi all'ebollizione fino a completa dissoluzione del sale. Dopo raffreddamento si diluisca con acqua fino ad 1 litro. La soluzione si conserva in presenza di un poco di stagno.

Tioacetamide: soluzione al 3%.

Reagenti

Per ciascun bancone (sotto la cappa) ci sono dei flaconi con contagocce di Ranvier contenenti i seguenti acidi **concentrati**: acetico ($\approx 16M$), cloridrico ($\approx 12M$), nitrico ($\approx 15M$), solforico ($\approx 18M$). Inoltre, sempre sotto cappa, ci sono flaconi con soluzioni diluite di ammoniaca ($\approx 6M$) e di acido cloridrico ($\approx 2M$) e di acido nitrico ($\approx 2M$ e $\approx 4M$).

Ancora, sul bancone sono presenti quattro barattoli con i seguenti reattivi solidi: sodio carbonato, magnesio polvere, ferro solfato (ferroso), rame ossido (rameico).

All'interno delle postazioni appartenenti a ciascun studente ci sono dei flaconi di sodio idrossido e di bario idrossido aventi una concentrazione 2M, di ammoniaca avente una concentrazione 3M e di acido solforico avente una concentrazione 1M. Di volta in volta potranno essere riempiti ricorrendo alle soluzioni preventivamente preparate dai Tecnici e collocate sul primo banco di destra della stanza A o sotto la cappa adiacente.

Gli altri reagenti previsti per l'analisi dei medicinali sono dislocati sui reagentari situati al centro della stanza. Da qui vanno prelevati ed usati, ma le bottigliette **non** vanno mai allontanate dal reagentario e portate sui banchi.

Ricordiamo, infine, che l'ammoniaca concentrata dei reagentari, essendo contenuta in bottigliette che nell'uso quotidiano sono state aperte molte volte, è da ritenersi sottoposta ad evaporazione; pertanto, è da considerarsi **circa** 14–15M.

NORME PER LO SMALTIMENTO DEI RIFIUTI

Nei lavandini possono essere scaricate solo
acqua proveniente dal rubinetto o scarti di acqua deionizzata
acqua e detersivo comune per il lavaggio della vetreria o delle mani
gli ultimi risciacqui della vetreria stessa
l'ultimo risciacquo della vetreria con acqua deionizzata
ghiaccio, **se** non inquinato;
NULL'ALTRO!

Tutte le soluzioni contenenti sostanze chimiche devono essere scaricate in una
delle apposite taniche per rifiuti liquidi, distinte per:

- soluzioni acquose acide
- soluzioni acquose basiche
- soluzioni acquose di sali di metalli pesanti
- soluzioni acquose di sali di mercurio
- solventi organici non alogenati
- solventi organici alogenati.

I residui solidi delle polveri ed eventualmente i filtri, solo se **fortemente** contaminati,
vanno scaricati nei contenitori presenti sotto la cappa dell'ufficio e sul ripiano
all'estremità opposta del laboratorio, marcati "POLVERI".

I vetri di scarto (cocci di vetreria raccolta dal pavimento compresa) vanno collocati
negli appositi contenitori per rifiuti speciali (giallo o nero) marcati VETRI, di cui uno
è posto accanto all'ingresso. Non vi vanno scaricati residui di porcellana.

I cocci di porcellana vanno smaltiti o nel contenitore metallico nella stanza delle
soffierie, o, solo se freddi, nelle apposite scatole accanto alla prima finestra, a
destra entrando.

Filtri non eccessivamente inquinati, guanti e carta leggermente inquinata vanno
collocati negli appositi contenitori per rifiuti speciali (gialli o neri) marcati GUANTI e
carta inquinata, posti accanto ai reagentari.

Conseguentemente nei sacchi neri dei portarifiuti vanno eliminati **solo** gli usuali
rifiuti solidi urbani, con esclusione di qualsiasi rifiuto speciale, per il quale più sopra
sia stato indicato un procedimento specifico di eliminazione.

NORME DI SICUREZZA

Durante le lezioni della parte teorica del corso, sono state tenute apposite lezioni, come risulta dai registri di lezione, specificatamente dedicate alla prevenzione degli infortuni in laboratorio, ai rischi connessi con le operazioni chimiche e non chimiche di laboratorio ed all'uso dei dispositivi di sicurezza collettiva e dei **Dispositivi di Protezione Individuale**, con richiami al Regolamento di Sicurezza per gli Studenti dell'Università degli Studi di Padova.

Sono state inoltre effettuati ripetuti richiami a tali lezioni ed alle norme di sicurezza, in particolare alle **schede di sicurezza dei reattivi e solventi**, nel corso delle descrizioni a lezione delle varie esperienze da eseguire.

È noto ed è chiaro a tutti che, dal punto di vista della vigente normativa anti infortunistica, la situazione giuridica degli studenti che frequentano il laboratorio è equiparata a quella dei lavoratori subordinati, e che pertanto ad essi spetta l'**obbligo legale** di prestare attenzione alle istruzioni dei Docenti del laboratorio – che hanno, rispetto agli Studenti, la posizione giuridica di responsabili dell'attività didattica in laboratorio, a norma del D.l. n. 363 del 5 agosto 1998 – e di seguirne attentamente le istruzioni.

In particolare è noto ed è chiaro a tutti che in laboratorio sono presenti ed in funzione apparecchiature con parti in movimento, apparecchiature elettriche sotto tensione, apparecchiature in vetro sotto vuoto o sotto pressione ed oggetti che possono raggiungere temperature elevate.

È noto ed è chiaro a tutti che in laboratorio si trovano e si usano anche sostanze che rientrano nelle categorie: **Infiammabili, Corrosivi, Tossici, Nocivi, Irritanti, Comburenti** ed è noto anche che un'erronea manipolazione delle sostanze o l'esecuzione di operazioni non previste e non autorizzate può portare alla formazione di sostanze classificabili anche come Esplosivi.

Prima dell'uso di ogni sostanza è **obbligatorio leggere e comprendere** le schede di sicurezza contenenti le frasi di rischio o pericolo ed i consigli di prudenza (Frase R e S ovvero Frasi H e P) della sostanza stessa; durante e dopo la lavorazione, attenersi alle indicazioni riportate per la manipolazione, lo stoccaggio e lo smaltimento.

In laboratorio è fatto obbligo di indossare il **camice**, di utilizzare gli **occhiali protettivi** e di indossare **guanti protettivi** ed eventualmente mascherine durante ogni manipolazione di sostanze che ne richiedano l'uso.

È vietato l'uso di pipette a bocca. È vietato portare oggetti alla bocca.

In laboratorio è **vietato portare lenti a contatto** ed indossare gioielli, calzature o indumenti che siano fonte di pericolo.

I capelli, se lunghi, vanno tenuti raccolti dietro il capo.

In laboratorio è vietato fumare ed assumere cibi e bevande.

Il laboratorio va mantenuto pulito ed in ordine, non si possono introdurre sostanze ed oggetti estranei alle attività di lavoro.

In laboratorio vanno rispettare le norme igieniche, per es. il lavarsi le mani alla fine del lavoro.

Prima di utilizzare qualsiasi apparecchio va letto il manuale delle istruzioni sino a comprenderlo.

Vanno utilizzate solo le apparecchiature elettriche a norma in dotazione, tenendole il più lontano possibile da fonti di umidità e/o vapori infiammabili.

Vanno utilizzate sempre le cappe chimiche per tutte le reazioni che lo richiedono e per il travaso o prelievo di solventi, specie se volatili.

È obbligatorio conservare in laboratorio solo i quantitativi minimi indispensabili di sostanze infiammabili o di solventi e custodire gli agenti pericolosi sotto chiave e con relativa registrazione, in particolare quelli cancerogeni (R45–R49; H 340–H351), radioattivi e biologici (gruppo 3 e 4).

È obbligatorio **etichettare correttamente** tutti i recipienti per poterne riconoscere il contenuto anche a distanza di tempo;

È obbligatorio raccogliere, separare ed **eliminare in modo corretto** i rifiuti chimici, solidi e liquidi, prodotti nei laboratori; **è vietato scaricarli** in fogna e nei cassonetti.

Non è consentito lavorare soli in laboratorio, specialmente fuori dai normali orari di lavoro ed in caso di operazioni complesse o pericolose, né lasciare senza controllo reazioni in corso o apparecchi in funzione; se necessario questi vanno muniti degli opportuni sistemi di sicurezza.

Prima di lasciare il laboratorio è obbligatorio accertarsi che il proprio posto di lavoro sia pulito ed in ordine e che tutti gli apparecchi utilizzati, eccetto quelli necessari, siano spenti e riposti.

È stata mostrata a tutti, all'inizio della prima giornata di laboratorio, la collocazione in laboratorio delle uscite di sicurezza, dei mezzi antiincendio, delle docce e lavaocchi, del materiale di primo soccorso e di ogni altro mezzo di prevenzione infortuni e di pronto intervento.

È stata comunicata, all'inizio della prima giornata di laboratorio, la disposizione che qualsiasi anomalia, guasto, incidente o lesione personale va immediatamente segnalata ai Docenti.

Per ogni materia qui non trattata, si fa riferimento al **Regolamento di Sicurezza per gli Studenti** dell'Università degli Studi di Padova.

