



שיטות הפרדה

מבוא

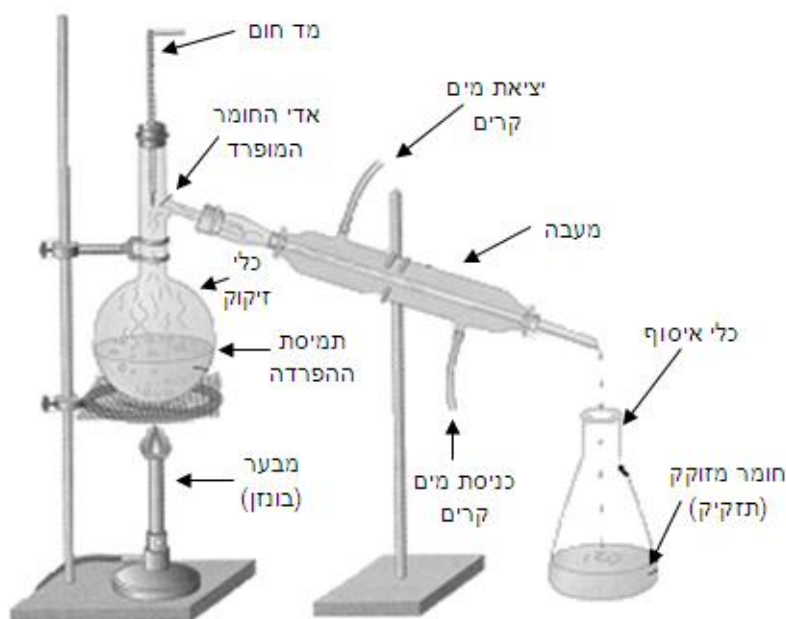
בתערובת שומר כל מרכיב על תכונותיו לפני הערבוב, לכן ניתן להפריד תערובת למרכיביה בשיטות המנצלות את השוני בתכונות הפיסיקליות של המרכיבים.

במעבדה זה נכיר ונתנסה במספר שיטות הפרדה בין חומרים:

1. זיקוק (Distillation)
2. מיצוי (Extraction)
3. סינון (Filtration)
4. כרומטוגרפיה על שכבה דקה (Thin Layer Chromatography, TLC)

זיקוק

זיקוק הוא תהליך פיסיקלי להפרדה של תערובת נוזלים, על בסיס נקודות רתיחה שונות של מרכיביה.



במערכת פשוטה של זיקוק

מרתיחים את התערובת. האדים העולים עוברים דרך כלי הקרוי מעבה (מקרר), שם הם עוברים תהליך של עיבוי ואח"כ הם מטפטפים לכלי איסוף. אדים אלו, ברובם, הם המצב הגזי של החומר בעל נקודת הרתיחה הנמוכה ביותר בתערובת. לאחר מכן מגיע תורו של החומר הבא לרתוח וכן הלאה, עד להפרדת התערובת לכל מרכיביה.

באמצעות מדידה קבועה של טמפרטורת התערובת במהלך תהליך הזיקוק ניתן לדעת מתי מפסיק החומר האחד לרתוח (כלומר, מתי הוא התאדה כולו וכבר אינו נמצא בתערובת) ומתי מתחיל החומר הבא לרתוח. במהלך הרתיחה עצמה הטמפרטורה אינה משתנה. לאחר ההתאדות המלאה של הנוזל



הראשון (זה עם טמפי' הרתיחה הנמוכה ביותר) תתחיל הטמפרטורה לעלות בקצב מהיר ותיעצר שוב כשתגיע לנקודת הרתיחה של החומר הבא. תהליך הזיקוק נפוץ מאוד בתעשיית המשקאות האלכוהוליים ובתעשייה הכימית, במיוחד בתעשיית הנפט.

מיצוי

מיצוי הוא תהליך פיסיקלי באמצעותו מוציאים מרכיב רצוי מתוך התערובת או לחילופין, מוציאים מרכיב בלתי רצוי מתוך התערובת, על מנת לנקות אותה. המיצוי מבוסס על שתי פאזות שאינן מתערבבות, על מנת להפריד מומס מפאזה אחת לפאזה אחרת.

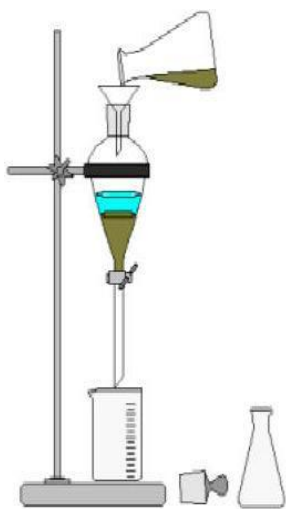
לכל חומר יש מסיסות כלשהי (טובה או נמוכה) בממס. כאשר מכניסים מומס כלשהו לתערובת של שני ממסים, אשר אינם מתערבבים זה בזה (נצפות שתי שכבות), כמות מסוימת של המומס מתמוססת בכל אחד מהממסים. לאחר זמן מתאים מגיעה המערכת למצב בו כמות (ריכוז) המומס בכל אחת מן השכבות נשארת קבועה. מצב זה נקרא מצב שיווי משקל. במיצוי טוב, החומר המומס עובר ברובו לאחת הפאזות (למעשה, לממס בו הוא מתמוסס טוב יותר).

דוגמא לתהליך מיצוי: הרתחת עלי תה במים. בתהליך זה, ממצים מעלי התה מס' מרכיבים, המצויים בעלים (tannins, theobromine and caffeine) אל המים. מיצוי מעבדה אופייניים יותר הם של תרכובות אורגניות (תרכובות המורכבות מפחמן ומימן, לעיתים גם חמצן וחנקן) מהפאזה המימית אל הפאזה האורגנית. כאשר התרכובת האורגנית (אותה רוצים להפריד) מסיסה הן במים, והן בממס אורגני, יש לטלטל אותה היטב בתערובת של שני הממסים (שאינם מתערבבים אחד בשני), פעולה הגורמת להתחלקות התרכובת בין שתי הפאזות, במידה האופיינית לתערובת מים:ממס אורגני. על פעולת המיצוי חוזרים מספר פעמים עם כמויות קטנות של ממס. בד"כ, כמות החומר האורגני תהיה גדולה יותר בממס האורגני מאשר במים.

עבודה עם משפך מפריד

המיצוי יוצא לפועל בעזרת משפך מפריד.

מכניסים את התמיסה למשפך מפריד, ומוסיפים את הממס השני. סוגרים את המשפך בפקק ומטלטלים היטב, כאשר מידי פעם משחררים את הלחץ על ידי פתיחת הברז התחתון, כאשר הוא מופנה כלפי מעלה. במהלך הטלטול, הברז והפקק מוחזקים היטב במצב סגור. לאחר גמר הטלטול נותנים למשפך המפריד להימצא במצב זקוף, כאשר הוא יושב בתוך טבעת ברזל והפקק העליון פתוח, ומחכים עד ששתי השכבות מופרדות באופן ברור. פותחים את הברז ומאפשרים לנוזל התחתון לרדת לתוך כלי איסוף כגון ארלנמייר או כוס כימית.



יש לשים לב ולזכור באילו מן השכבות נמצא החומר המבוקש!



כרומטוגרפיה

כרומטוגרפיה (Chromatography) היא שיטה אנליטית, המאפשרת הפרדה של חומרים המצויים בתערובת, זיהויים וקביעת כמותם. רגישות השיטה מאפשרת זיהוי והפרדה גם של חומרים המצויים בכמויות זעירות ביותר בתוך התערובת. הכרומטוגרפיה כוללת טכניקות רבות, ובכללותה היא מהווה כיום את הטכנולוגיה האנליטית הנפוצה ביותר, במחקר מדעי והן בתעשייה וברפואה.

המונח כרומטוגרפיה מתייחס למערכת הכוללת שתי פאזות:

א. פאזה נייחת (Stationary phase)

ב. פאזה נעה, הנקראת גם מריץ (Eluent)

בתהליך הכרומטוגרפיה "מניחים" כמות קטנה של התערובת הנבדקת בקצה הפאזה הנייחת ומריצים את המריץ על פני הפאזה הנייחת. המריץ "גורר" את התערובת הנבדקת.

קצב ההרצה של כל מרכיב בתערובת תלוי בכמה גורמים, שהחשובים שבהם:

א. נטייתו של החומר להקשר אל הפאזה הנייחת

ב. נטייתו של החומר להקשר או להתמוסס במריץ

לכל חומר או לכל מרכיב בתערובת תכונות שונות של קישור, המסה וכו' ← מהירות תנועתו במערכת כרומטוגרפיה היא אופיינית לו ושונה מזו של חומרים אחרים.

ניתן להמחיש עובדה זו באמצעות האיור הבא:



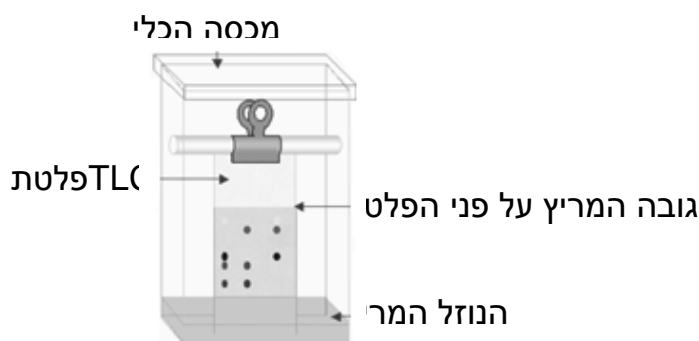


קיימות שיטות כרומטוגרפיות רבות ושונות. אפשר לסווג את הכרומטוגרפיה לפי הקריטריונים הבאים:

א. מכשור ושיטות עבודה.

ב. סוגי הכוחות הפועלים בין החומר לבין הפאזות השונות.

בניסוי שנבצע במעבדה נשתמש בכרומטוגרפית TLC. בשיטה זו הפאזה הנייחת היא חומר מיוחד כגון אלומינה או סיליקה, המרוח בשכבה דקה על לוחית העשויה פלסטיק. המריץ הוא הפאזה הנעה.



את התוצאות ניתן לראות במס' אופנים:

א. בסוגי כרומטוגרפיה פשוטים, בהם ההפרדה נעשית על נייר או על משטח אחר: ניתן לראות בעין את החומרים שהופרדו מהתערובת, בתנאי שהם בעלי צבע. אם הם חסרי צבע, ניתן לחשוף את הנייר לאור אולטרא סגול (UV) ואז רואים כתמים של החומרים השונים.

ב. בסוגי כרומטוגרפיה מתקדמים, בהם ההפרדה נעשית בנייר, קיימים גלאים אלקטרוניים משוכללים בקצה הצינור. הללו מזהים את החומרים לפי סדר הגעתם ומתרגמים (בעזרת מעבד) את הנתונים לשם הצגתם באופן גרפי (על גבי צג או כהדפס).



חלק ניסיוני

חלק א': זיקוק יין

בניסוי זה נזקק יין. אילו חומרים יש לדעתכם בתוך יין?

בניית מערכת זיקוק

- הרכיבו בעזרת המדריך מערכת זיקוק.
- לתוך האביק הכניסו כ- 25 מ"ל יין וכמה אבני רתיחה.
- חברו את מערכת הזיקוק לברז מים.
- הדליקו בזהירות את הגזיות. **ודאו עם המדריך שעוצמת הלהבה מתאימה.**
- רשמו את הטמפרטורה בה מתחיל היין להזדקק:

- התבוננו במערכת הזיקוק ורשמו את תצפיותיכם:



- בתום הזיקוק, נבדוק האם האלכוהול שהזדקק מכיל מים. העבירו לתוך זכוכית שעון נקייה מעט מן האלכוהול שהתקבל בזיקוק, הוסיפו בעזרת ספטולה מעט אבקה של נחושת גופרתית { CuSO_4 }, והתבוננו בצבע האבקה. קבלת צבע כחול תעיד על הימצאות מים באלכוהול המזוקק. מהו הצבע שהתקבל?

חלק ב': מיצוי והפרדה של ליקופן וקרופן מירקות

ליקופן (המצוי בעגבניות ובפירות רבים) ו- β -קרופן (המצוי בגזר ובכל העלים הירוקים) הם דוגמא לחומרי צבע (פיגמנטים) טבעיים, המשתייכים למשפחת חומרים הקרויים "קרטנואידים".

β -קרופן הינה מולקולה נפוצה מאד בעולם הצומח, אך חשיבותה העיקרית היא במערכת הראייה בעולם החי. β -קרופן משמש כפרו – ויטמין A, כלומר, חומר הבסיס ממנו מיצר הגוף החי ויטמין A. למולקולת β -קרופן יש נוסחא כימית הזחה לנוסחא הכימית של הליקופן, אך הקישור בין האטומים שונה \Leftarrow מבנה מולקולרי שונה. השוני במבנה מסביר את הבדלי הצבע בין שני החומרים: ליקופן בעל צבע כתום – אדום ואילו β -קרופן בעל צבע צהוב. הקרטנואידים מסיסים בממסים אורגניים \Leftarrow תהליך הפקתם מן הירקות יבוצע על ידי מיצוי לממס אורגני. לאחר המיצוי תתקבל תמיסה אורגנית, המכילה תערובת של מומסים וביניהם ליקופן ו- β -קרופן. הפרדת המומסים תתבצע באופן איכותי, בעזרת כרומטוגרפיה על שכבה דקה (TLC).

מהלך הניסוי

א. מיצוי הקרטנואידים מגזר או מרסק עגבניות

1. שקלו בכוס כימית של 50 מ"ל כ- 2.5 גרם גזר מרוסק וכ- 2.5 גרם רסק עגבניות.
2. ערבבו היטב את הגזר ואת רסק העגבניות.
3. הוסיפו לכוס זו 10 מ"ל **מבבוק A** (בבוק A מכיל את הממס. הממס הוא תמיסה, המכילה אצטון והקסאן ביחס של 1:1).
4. ערבבו היטב את הגזר, רסק העגבניות והממס.
5. הניחו במסנן ביכנר נייר סינון מתאים והרטיבו אותו (מדוע?) ע"י כמות קטנה של הממס.
6. חברו את מערכת השאיבה וסננו באמצעותה את התערובת שהכנתם.
7. חיזרו על המיצוי עם שתי מנות נוספות של 5 מ"ל ממס.
8. שטפו את רסק הירק שנותר על גבי המסנן ע"י 5 מ"ל נוספים של ממס.
9. אספו את התסנינים משלושת המיצויים ואת תמיסת השטיפה אל כוס כימית נקייה של 50 מ"ל. זוהי התמיסה האורגנית.

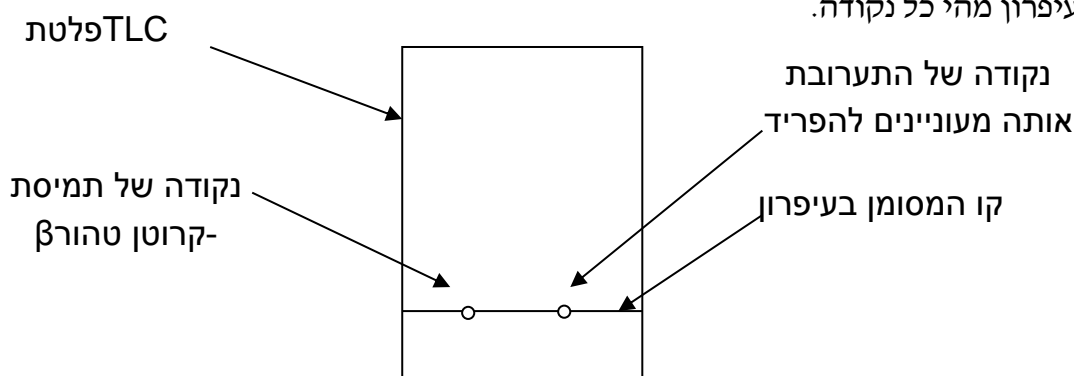


ב. ניקוי התמיסה האורגנית וייבושה ממים

- העבירו את התמיסה האורגנית לתוך משפך מפריד בנפח 50 מ"ל.
- הוסיפו 15 מ"ל **מבקבוק B** (בקבוק B מכיל תמיסה מימית של נתרן כלוריד רוויה).
- ערבבו היטב את התמיסות והניחו למשפך לעמוד בטבעת המתאימה, עד להפרדת פאזות.
מהי הפאזה העליונה? _____
מהי הפאזה התחתונה? _____
- סלקו את הפאזה המימית.
- שטפו את התמיסה האורגנית עם 15 מ"ל **מבקבוק C** (בקבוק C מכיל תמיסה מימית של 10% נתרן קרבונאט) וחזרו על פעולת ההפרדה.
- שטפו שוב את הפאזה האורגנית, הפעם בעזרת 15 מ"ל מים וחזרו על פעולת ההפרדה.
- הוסיפו לתמיסה האורגנית מעט מגנזיום גופרתי $\{ \text{MgSO}_4 \}$ לייבוש.
 MgSO_4 הוא חומר היגרוסקופי (חומר הסופח מים). חומר זה יספח את שאריות המים אשר נותרו בפאזה האורגנית.
- סננו את התמיסה לצורך סילוק מגנזיום גופרתי.
הסינון הוא סינון גרביטציוני, כלומר סינון באמצעות משפך ונייר סינון.

ביצוע כרומטוגרפיה בשכבה דקה

- בצעו הפרדה כרומטוגרפית על פלטת אלומינה, המיוחדת ל-TLC.
- ציירו בעיפרון קו ישר במרחק 1.0 ס"מ מקצה נייר הכרומטוגרמה.
 - על גבי הקו יש להניח בעדינות, באמצעות קפילרה, נקודה קטנה של החומר שמיציתם ונקודה קטנה של תמיסת β -קרסטין טהור.
 - המתינו שהנקודות יתייבשו.
 - רשמו בעיפרון מהי כל נקודה.



- החומר המריץ בניסוי זה הוא תמיסת אתיל אצטט 2% בתוך הקסאן. לתוך כלי מתאים מזגו את תמיסת המריץ, בגובה המתאים לקו אותו ציירתם על הכרומטוגרמה.
מהי הפאזה הנעה? _____



מהי הפאזה הנחה?

- הניחו את הכרומטוגרמה בתוך הכלי.
- תנו לנוזל המריץ "לעלות" על גבי הכרומטוגרמה, עד שתראו הפרדה.
- לאחר גמר ההפרדה, סמנו באמצעות עפרון את החומרים שהפרדתם על פלטת ה-TLC.
- בהתבסס על פי תוצאות הכרומטוגרמה, מה מכילה התערובת שמיציתם?



חלק ג': קביעת הרכב של תערובת באמצעות TLC ושימוש בנורת UV

לרשותכם תערובת בעלת הרכב לא ידוע, המכילה שני חומרים. בניסוי זה עליכם לזהות את שני החומרים.

מהלך הניסוי

1. ציירו בעיפרון קו ישר במרחק 1.0 ס"מ מקצה נייר הכרומטוגרמה.
2. קבלו מהמדריך את התערובת לזיהוי וציינו מהי. נעלם: I II III
3. על גבי הקו יש להניח בעדינות, באמצעות קפילרה, נקודה קטנה של שלושה חומרים, המסומנים ע"י האותיות A, B ו-C ונקודה קטנה של הנעלם שקבלתם (בסה"כ ארבע נקודות).
4. רשמו בעיפרון מהי כל נקודה.
5. המתינו שהנקודות יתייבשו.
6. החומר המריץ בניסוי זה הוא תמיסת אתנול 20% אצטון 80%.
לתוך כלי מתאים מזגו את תמיסת המריץ, בגובה המתאים לקו אותו ציירתם על הכרומטוגרמה.
מהי הפאזה הנעה? _____
מהי הפאזה הנחה? _____
7. הניחו את הכרומטוגרמה בתוך הכלי.
8. תנו לנוזל המריץ "לעלות" על גבי הכרומטוגרמה, עד שהחומר המריץ מגיע למרחק של כסנטימטר אחד מהקצה העליון.
9. הוציאו את הכרומטוגרמה וסמנו באמצעות עפרון את הקו אליו הגיע החומר המריץ.
10. המתינו שחומר המריץ יתנדף.
11. חשפו את הכרומטוגרמה לנורת UV וסמנו את הכתמים שהתקבלו על הכרומטוגרמה.
12. בהתבסס עפ"י תוצאות הכרומטוגרמה, אילו חומרים מרכיבים את התערובת שקבלתם?
