

# Ćwiczenie 3

## Barwniki roślinne

### Zagadnienia teoretyczne do przygotowania:

- podstawowe pojęcia: teoria barwności, substancja barwna a barwnik, chromofory, auksochromy, pigmenty
- podziały barwników wg różnych kryteriów
- barwniki asymilacyjne, właściwości fizyko-chemiczne, metody izolacji barwników z materiału roślinnego
- widmo absorpcyjne, interpretacja widm
- reakcje diazowania i sprzęgania, wpływ warunków na przebieg reakcji; związki azowe, diazoniowe, dwuazowe (równania reakcji, nazwy produktów sprzęgania)

### 1. WSTĘP

**Substancje barwne** – są to związki chemiczne wybiórczo absorbujące promieniowanie elektromagnetyczne w zakresie widzialnym (o długości fali od ok. 380 do 780 nm) warunkujące barwę organizmów roślinnych i zwierzęcych. Według współczesnej, tzw. elektronowej, teorii barwności, barwa związku organicznego jest spowodowana obecnością w jego cząsteczce sprzężonych układów elektronów  $\pi$ , które bardzo łatwo ulegają wzbudzeniu, absorbując promieniowanie o określonej długości fali w widzialnej części widma; zaś niepochlónięte obszary widma zostają odbite i przedostają się poprzez narząd wzroku do mózgu, dają wrażenie barwy. W teorii klasycznej **barwa związku zależy od** obecności w jego cząsteczce ugrupowania atomów, zwanych chromoforem. Mogą to być wymienione wcześniej sprzężone układy wiązań podwójnych pomiędzy atomami węgla - liniowe i cykliczne, atomami azotu, atomami węgla i tlenu, węgla i azotu czy węgla i siarki. Przykładami tego typu są: aryl,  $-C=C-$ ,  $-N=N-$ ,  $>C=O$ ,  $>C=N$ ,  $>C=S$  oraz grupy funkcyjne jak  $-N=O$ ,  $-NO_2$ .

Związek barwny staje się **barwnikiem**, to znaczy może nadawać barwę innym przedmiotom, dopiero po wprowadzeniu do jego cząsteczki ugrupowania atomów, zwanych auksochromem – jest to ugrupowanie atomów zawierające pary elektronowe, np.  $-OH$ ,  $-OCH_3$ ,  $-OCOCH_3$ ,  $-NH_2$ ,  $-NHR$ ,  $-NR_2$ ,  $-NHCOCH_3$  lub  $-Cl$ ,  $-Br$ , które wprowadzone do cząsteczki określonego związku organicznego, tzw. **chromogenu**, powoduje nasilenie jego barwy i jednocześnie nadaje mu wszelkie cechy barwnika użytkowego (tzn. umożliwia wiązanie z barwionym materiałem). Zgodnie ze współczesną teorią barwności **auksochromy** są elektrodonorami, ugrupowaniami sprzyjającymi polaryzacji cząsteczki. Wprowadzone do cząsteczki mogą powodować zmiany w obserwowanym paśmie absorpcji danego związku. Dostrzec można cztery typy zmian:

- przesunięcie batochromowe – przesunięcie pasma absorpcyjnego w kierunku fal dłuższych
- przesunięcie hipsochromowe – przesunięcie pasma absorpcyjnego w kierunku fal krótszych
- efekt hiperchromowy – podwyższenie natężenia pasma absorpcji
- efekt hipochromowy - obniżenie natężenia pasma absorpcji

Barwniki najczęściej służą do barwienia różnego rodzaju włókien naturalnych i syntetycznych, tworzyw sztucznych, oraz skóry, papieru i żywności. W farbiarstwie włókienniczym zastosowanie praktyczne mają jedynie barwniki odznaczające się trwałością otrzymanych wybarwień, tzn. ich odpornością na działanie światła, potu, chloru, tarcia w stanie suchym i wilgotnym oraz prania w ciepłym roztworze mydła, prasowania, oraz te barwniki, które nie działają szkodliwie na organizm człowieka (nie wywołują odczynów alergicznych).

## 2. PODZIAŁ BARWNIKÓW

Barwniki klasyfikuje się według różnych kryteriów takich jak pochodzenie, budowa chemiczna, rozpuszczalność, możliwości zastosowań czy barwa. **Uwzględniając pochodzenie** wyróżnia się **barwniki naturalne organiczne i nieorganiczne, barwniki syntetyczne identyczne z naturalnymi** oraz **barwniki syntetyczne nie mające odpowiednika w naturze**, a także **barwniki pochodzące z określonego źródła** np. z liści, pomidora, buraka, marchwi czy malin itd.

**Ze względu na budowę chemiczną cząsteczki**, barwniki dzieli się najogólniej na **barwniki karbocykliczne i heterocykliczne**. Z uwagi na **rodzaj występującego w barwniku chromoforu** wśród **barwników karbocyklicznych** **rozdziela się m.in.** barwniki azowe, nitrowe, nitrozowe, triarylometanowe, benzochinonowe, naftochinonowe, antrachinonowe, chinoiminowe, wśród **barwników heterocyklicznych** zaś – barwniki indygooidowe, tioindygoowe, ksantenowe, oksazynowe, akrydynowe, azynowe, tiazynowe, ftalocyjaninowe, cyjaninowe i inne.

### Przykłady grup barwników według budowy chemicznej

- barwniki azowe ( $-N=N-$ , oranż metylowy (heliantyna), żółty 4-hydroksyazobenzen),
- barwniki chinonowe ( $O=C_6H_4=O$ , alizaryna, chinizaryna, lawson, juglon),
- barwniki difenylometanowe ( $Ar_2C=N$ , oranż akrydynowy),
- barwniki iminochinoidowe ( $N=C_6H_4=O$  lub  $N=C_6H_4=N$ , błękit indofenolowy),
- barwniki indofenolowe (2,6-dichlorofenoloindofenol)
- barwniki indygooidowe (indygotyna, indygo),
- barwniki nitrowe ( $-NO_2$ , kwas pikrynowy),
- barwniki nitrozowe ( $-NO$ , trwała zieleń O),
- barwniki polienowe ( $(-C=C-)_n$ , karoteny),
- barwniki tiazynowe (błękit metylenowy),
- barwniki trifenylometanowe (zieleń malachitowa).

## 2.1. Barwniki syntetyczne

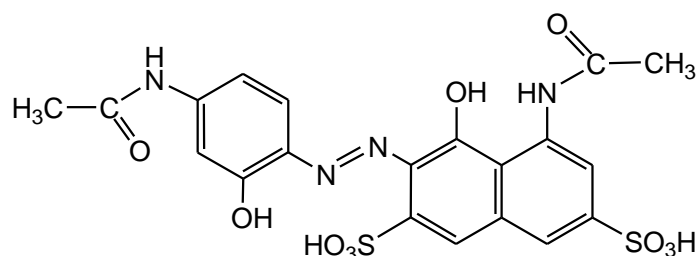
Są to otrzymane na drodze syntezy chemicznej barwniki o bardzo różnej strukturze: mono-, di- i triazowe, triarylometanowe, ksantenowe, chinolinowe i indygidowe. Formy tych związków rozpuszczalne w wodzie najczęściej otrzymuje się przez wprowadzenie do cząsteczki barwnika grup sulfonowych lub karboksylowych. Strącenie tych barwników w postaci soli, najczęściej glinowych, umożliwia otrzymywanie barwnych pigmentów, nierozpuszczalnych w wodzie. Są to tzw. laki. Zaletą barwników syntetycznych w porównaniu z barwnikami naturalnymi jest to, że mają one standardową moc barwienia, są czystszyimi, jednorodnymi związkami chemicznymi, mają większą trwałość i odporność na warunki środowiska, a ich formy handlowe (proszki, pasty, roztwory) ułatwiają stosowanie. Nie bez znaczenia jest fakt, że są one tańsze od naturalnych.

### a) Barwniki kwasowe

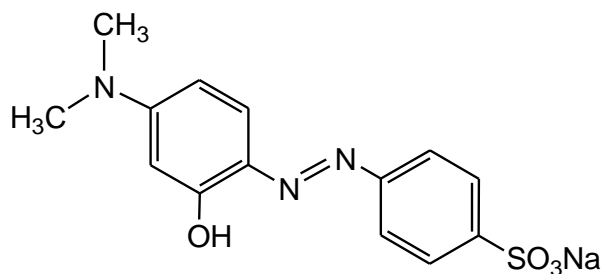
Związki z tej grupy posiadają budowę anionową i wykorzystywane są w barwieniu proteinowych włókien naturalnych (np. jedwab, wełna) i syntetycznych (np. włókna poliamidowe). Związki te wykorzystywane są także w barwieniu skóry, drewna, wyrobów kosmetycznych. Do grupy tej należą głównie pochodne azowe.

Przykładem tego typu związków jest czerwień kwasowa trwała E6B (**Rys. 1**). Ten monoazowy związek wykorzystywany jest w barwieniu wełny i produktów spożywczych. Obecność grupy acetylowej w strukturze podnosi odporność wybarwionych produktów na działanie światła.

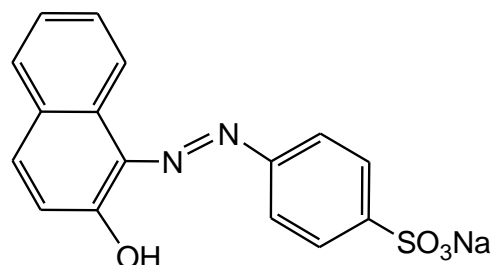
Oranż metylowy (heliantyna) (**Rys. 1**), będący pochodną azobenzenu, stosowany jest głównie jako indykator. W środowisku silnie kwasowym (<3,2) przyjmuje barwę czerwoną, a w środowisku o wyższym pH (>4,4) przyjmuje zabarwienie żółte. Z kolei oranż β-naftolowy (**Rys. 1**) jest pochodną kwasu sulfanilowego o intensywnej barwie czerwono-pomarańczowej, która kiedyś stosowana była jako barwnik spożywczy. Związek ten z powodu dużej toksyczności wycofany został z użycia w produkcji żywności.



**Czerwień kwasowa trwała E6B**



**Heliantyna**



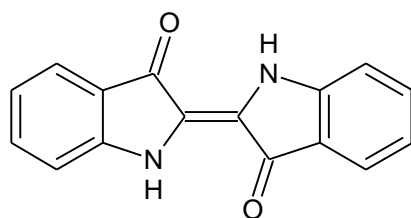
**Oranz β-naftolowy**

**Rysunek 1. Struktury wybranych barwników kwasowych**

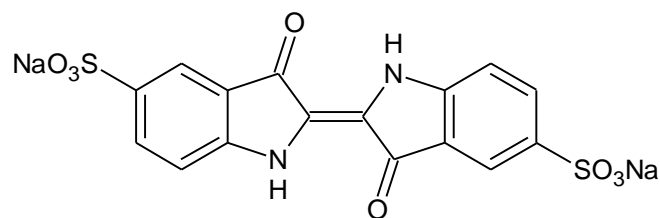
### b) Barwniki kadziowe

Grupa ta nie jest jednorodna pod względem chemicznym, ale związki zaliczane do tej grupy charakteryzują się tym samym sposobem aplikacji: ponieważ zazwyczaj związki z tej grupy nie są rozpuszczalne w wodzie, to przed barwieniem należy przeprowadzić je w formę rozpuszczalną. Otrzymywanie formy rozpuszczalnej (leukozwiązku) zachodzi w wyniku redukcji (kadziowania) barwnika. Podczas barwienia dochodzi do utleniania leukozwiązku, co prowadzi do odtworzenia barwnika na włóknie w postaci wyjściowej.

Do tej grupy związków należy indygo (**Rys. 2**), pozyskiwany początkowo z surowców roślinnych. Obecnie najprostszą metodą jego syntezy jest wykorzystanie reakcji Baeyera-Drewsa z użyciem aldehydu 2-nitrobenzoesowego i acetonu.



**Indygo**



**Indygokarmin**

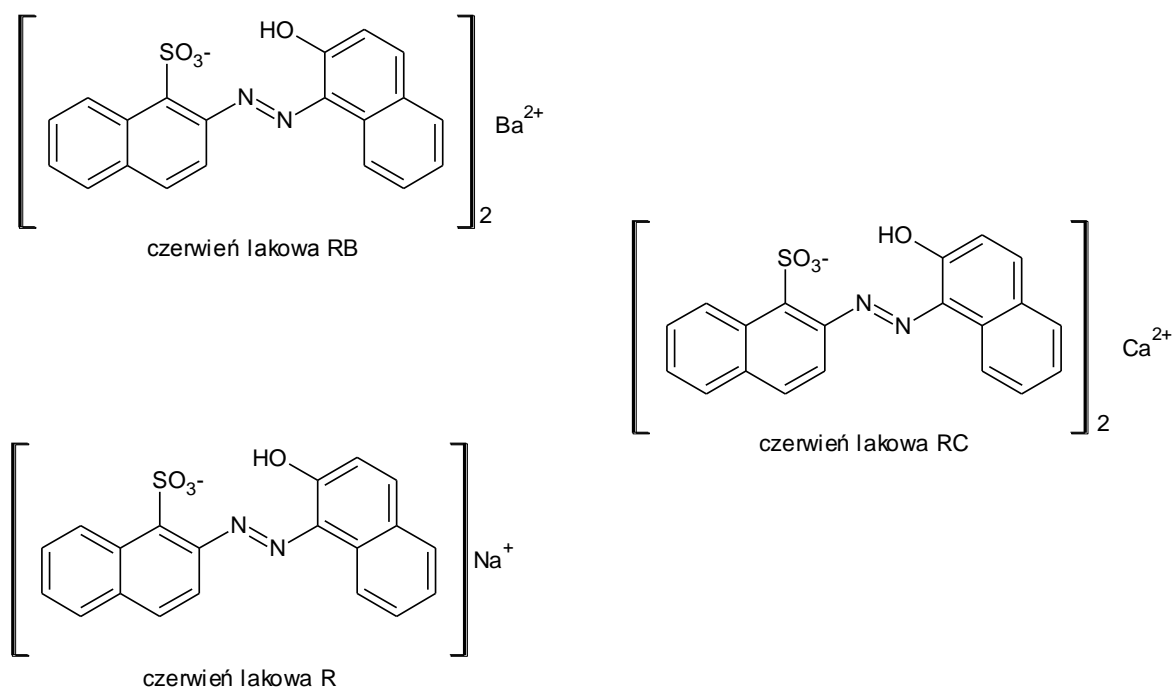
**Rysunek 2. Struktury wybranych barwników kadziowych**

### c) Pigmenty

Do tej grupy barwników zaliczamy związki nierozpuszczalne w wodzie i rozpuszczalnikach organicznych, które stosowane są w formie nierozpuszczalnej. Jakkolwiek pod względem struktury chemicznej są to głównie związki azowe, to wiele popularnych pigmentów charakteryzuje się inną budową chemiczną.

Główną grupą pigmentów są czerwienie lakowe (R, RB, RC) (**Rys. 3**), określane również mianem laków i tonerów. Otrzymywane są one przez wytrącanie barwników kwasowych lub zasadowych w postaci nierozpuszczalnych soli. Związki te, ze względu na prostotę syntezy, są

szeroko stosowane w przemyśle spożywczym, farbiarskim i kosmetycznym. Przykładami pigmentów zasadowych mogą być rodamina B (stosowana jako barwnik fluorescencyjny), zieleń malachitowa (wykorzystywany w akwarystyce), brunat zasadowy R czy B (stosowane w przemyśle farbiarskim). zasadowy R czy B (stosowane w przemyśle farbiarskim).



**Rysunek 3. Struktury wybranych pigmentów**

## 2.2. Barwniki roślinne – ekstrakcja, rozdział, właściwości oraz analiza widm absorpcji UV-Vis

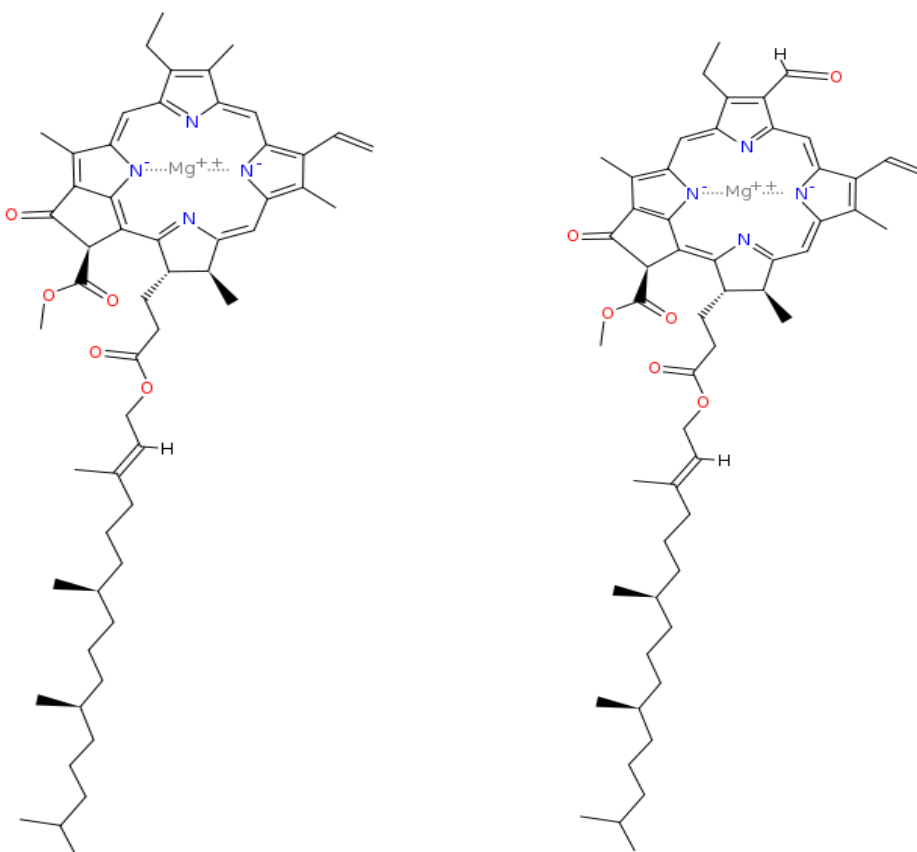
Barwniki fotosyntetyczne (asymilacyjne) to barwne związki chemiczne odgrywające kluczową rolę w procesie fotosyntezy i nadające barwę liściom. Wszystkie organizmy fotosyntezujące posiadają barwniki odpowiedzialne za absorpcję światła. Różnią się one budową, zakresami światła widzialnego, które mogą pochłaniać, właściwościami i pełnionymi funkcjami. Wspólną ich cechą, pozwalającą na absorpcję promieniowania jest obecność w budowie układu wiązań sprzężonych. Skład oraz zawartość barwników zmienia się wraz z rozwojem rośliny oraz zależy od natężenia i widma światła oraz dostępności składników mineralnych. Wyróżnia się trzy grupy barwników: **chlorofile**, **karotenoidy** i **fikobiliny**. U roślin wyższych występują dwa, różniące się nieznacznie budową chlorofile, **niebieskozielony chlorofil a** i **żółtozielony chlorofil b**, przy czym ilość chlorofilu b jest 2-3 krotnie mniejsza niż chlorofilu a. Inne, jak **chlorofil c** i **d** występują jedynie u części glonów. **Karotenoidy** (żółtopomarańczowe barwniki pomocnicze) występują w ilościach 2-6 razy mniejszych niż chlorofile. W skład karotenoidów wchodzi głównie **ksantofile** (m.in. luteina, wiolaksantyna, neoksantyna) oraz **karoteny** (w tym  $\beta$ -karoten). Każdy organizm fotosyntezujący ma charakterystyczny zestaw barwników, przy czym u wszystkich obecny jest chlorofil a. **Fikobiliny** (fikoerytryna, fikocyjanina i allofikocyjanina) to dominujące barwniki pomocnicze u krasnorostów i sinic.

### a) Chlorofile

Należą do barwników porfiryńowych. Zawierają cztery połączone ze sobą pierścienie pirolowe, które łączy centralnie ułożony atom magnezu. Absorbują światło o długości fali poniżej 480 nm i pomiędzy 550-700 nm, stąd w widmie chlorofilu, zarówno a i b, obecne są dwa maksyma absorpcji. Maksyma te, w zależności od użytego rozpuszczalnika, mogą się przesunąć w kierunku fal dłuższych lub krótszych. Niebieskozielony chlorofil a, absorbuje głównie światło fioletowe i czerwone, żółtozielony chlorofil b, absorbuje głównie światło niebieskie i pomarańczowe. Światło o długości fali pomiędzy 480 a 550 nm (zielone) jest odbijane, stąd obserwujemy zieloną barwę roślin.

Chlorofile są nietrwałe. Zniszczenie żywej tkanki roślinnej oraz struktury chlorofilu (np. w wyniku ogrzewania, działania światła, kontaktu z rozpuszczalnikami) prowadzi do przemian chlorofilu i zmiany barwy.

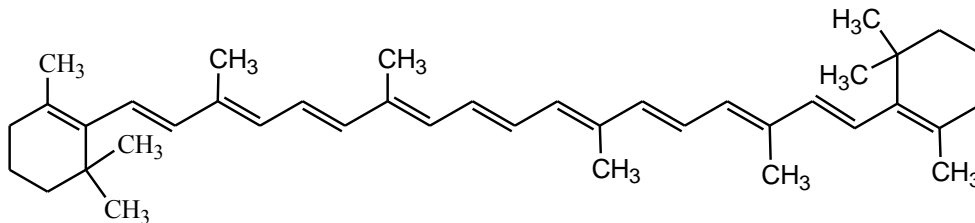
W środowisku kwaśnym następuje zastąpienie jonu magnezu przez dwa jony wodoru, w wyniku czego powstaje feofityna (brunatna barwa). Podczas ekstrakcji barwników tworzy się ona pod wpływem endogennych kwasów organicznych, czemu zapobiega się dodając substancje neutralizujące. Niewielkie ilości feofityny występują zawsze w ekstraktach barwników roślinnych oraz w nieuszkodzonych komórkach roślinnych zdolnych do fotosyntezy tlenowej. Jej ilość rośnie z wiekiem organizmu. Stężenie feofityny może być także wskaźnikiem stopnia uszkodzenia roślin zielonych przez czynniki środowiskowe (światło, temperatura, zanieczyszczenia).



Rysunek 4. Struktury chlorofilu a i b.

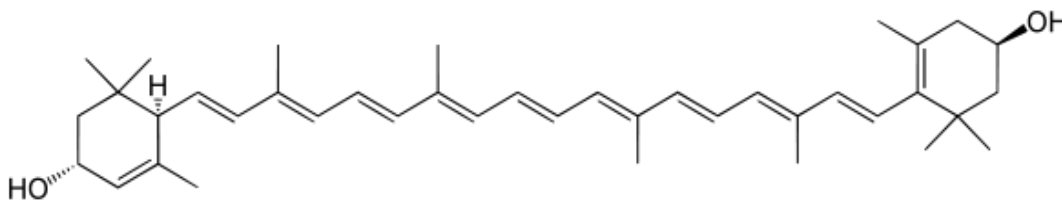
## b) Karotenoidy

Należą do grupy tetraterpenów. Zbudowane są z ośmiu jednostek izoprenowych (40 atomów węgla). Absorbują energię świetlną w zakresie, w jakim nie mogą tego robić chlorofile. Karotenoidy występują w liściach, lecz ich żółto-pomarańczowa barwa jest zwykle maskowana przez intensywnie zielony kolor chlorofilu. Wśród tej grupy związków  $\beta$ -karoten stanowi ok. 75-80% ogółu karotenów roślinnych.



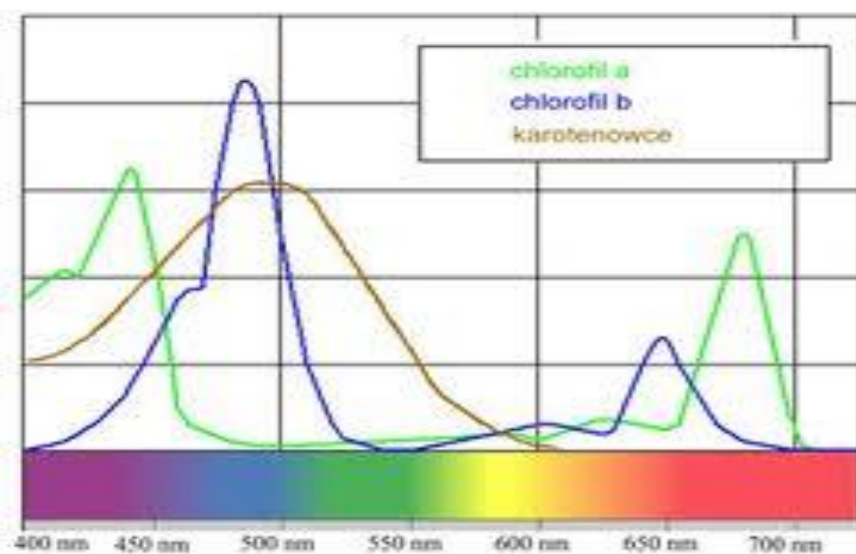
Rysunek 5. Struktura  $\beta$ -karotenu

Pochodne o charakterze alkoholi, epoksydów oraz zawierające grupy aldehydowe lub karboksylowe umieszczone symetrycznie nazywane są ksantofilami.



Rysunek 6. Struktura luteiny (ksantofil)

Charakterystyczne widma absorpcji chlorofilu a i b oraz karotenowców przedstawiono na rysunku poniżej.

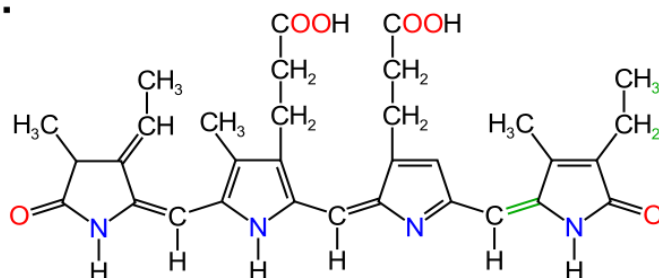


Rysunek 7. Widmo absorpcyjne chlorofili i karotenowców

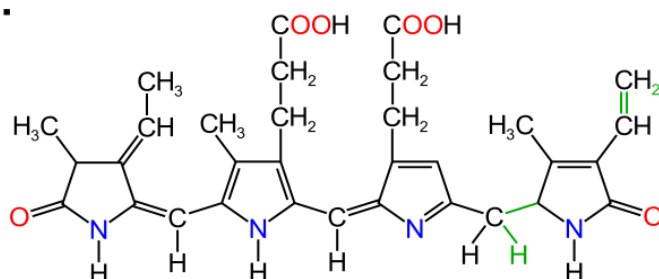
### c) Fikobiliny

Wydajnie absorbują światło czerwone, pomarańczowe, żółte i zielone, czyli w zakresie długości fali częściowo nieabsorbowanym przez chlorofile. Organizmy żyjące w wodach płytkich posiadają zazwyczaj fikobiliny absorbujące światło żółte i czerwone, natomiast żyjące w wodach głębszych – światło zielone. Fikobiliny wykazują fluorescencję i są często wykorzystywane w technikach immunofluorescencyjnych, jako znaczniki fluorescencyjne przyłączane do przeciwciał.

1.



2.



Różnice  
w strukturze  
(inne położenie  
jednego z wiązań  
podwójnych)  
zaznaczono  
kolorem  
zielonym.

1. Fikocyjanobilina  
(chromofor niebieski)

2. Fikoerytrobilina  
(chromofor czerwony)

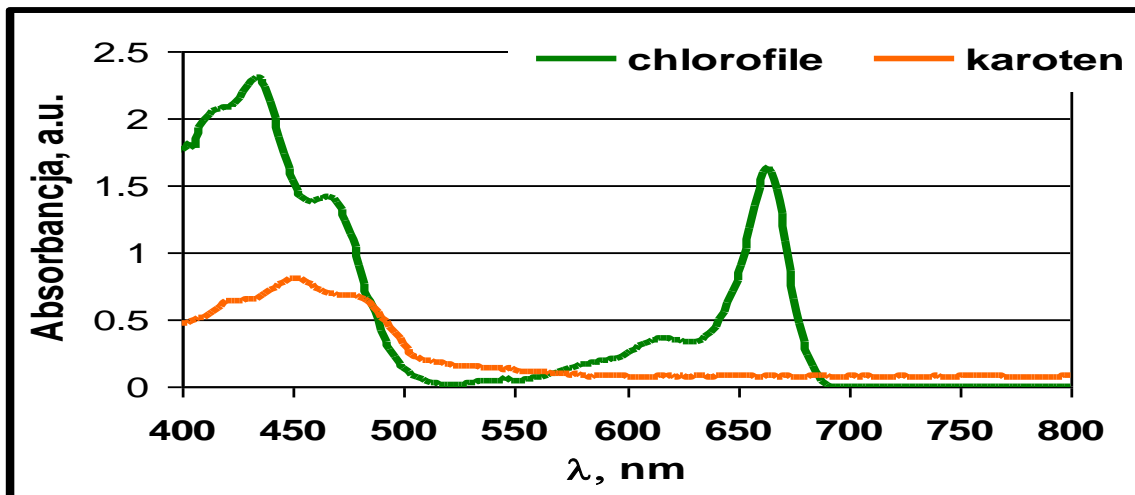
**Rysunek 8. Przykładowe fikobiliny**

Barwniki źle rozpuszczają się w wodzie, stąd do ekstrakcji ich stosuje się rozpuszczalniki organiczne (np. etanol, etery, aceton). Ze względu na charakter budowy i długość łańcuchów węglowych w cząsteczce różnią się one w znaczny sposób polarnością, dzięki czemu możliwe jest rozdzielanie ich z w układzie różniących się polarnością rozpuszczalników za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Im związek jest bardziej polarny, tym lepiej będzie adsorbowany na płytce. Mniej polarne związki wędrują wraz z rozpuszczalnikiem stosowanym do rozdzielania chromatograficznego. Po rozwinięciu chromatografu możliwa jest identyfikacja poszczególnych barwników (analiza jakościowa). Na płytce chromatograficznej barwniki te eluują w następującej kolejności:

1. karoteny (intensywnie żółty kolor) – najmniej polarne
2. feofityna a (intensywnie szary)
3. feofityna b (szary, może być niewidoczny)
4. chlorofil a (niebieskozielony, bardziej intensywny niż chlorofil b)
5. chlorofil b (zielony)
6. ksantofile (żółty) – najbardziej polarne.



Z kolei, z uwagi na wysokie molowe współczynniki absorpcji chlorofili i karotenoców, do ilościowego ich oznaczenia wykorzystuje się metody spektrofotometryczne. Przykładowe widmo barwników wyekstrahowanych z liści lipy przedstawiono na Rys. 9.



Rysunek 9. Widmo po rozdziale chromatograficznym chlorofili i karotenu w ekstrakcie etanolowym otrzymanym z liści lipy

## WYKONANIE ĆWICZENIA

### ĆWICZENIE 1. Analiza składu jakościowego barwników asymilacyjnych

**Cel:** Ekstrakcja barwników roślinnych (chlorofil a, chlorofil b, karoten, ksantofile) z liści, chromatograficzny rozdział mieszaniny barwników za pomocą chromatografii cienkowsarstwowej i oznaczenie metodą spektrofotometryczną.

#### A. Otrzymywanie (ekstrakcja) barwników asymilacyjnych

Materiał roślinny pociąć na małe kawałeczki. Odważyć około 1 g, przenieść do suchego moździerza porcelanowego i dodać 3 ml alkoholu etylowego. Rozcierać energicznie pistlem. Dodać kolejne 2 ml alkoholu i dalej rozcierać. Zawiesinę alkoholową zdekantować do cylindra. Do zawartości moździerza dodać 7 ml eteru naftowego i ekstrahować barwniki. Ponownie zdekantować zawiesinę do cylindra. Porcją 2 ml etanolu przemyć moździerz i pistel przenosząc do cylindra. Cylinder zatkać korkiem i wytrząsnąć zawartość. Gdy drobna zawiesina opadnie na dno, przesączyć ekstrakt przez miękki sączonek do suchej probówki. Przechowywać probówkę w ciemnym miejscu.

## **B. Chromatograficzny rozdział barwników**

Przygotować 2 płytki TLC o szerokości około 4 cm i długości 10 cm. W odległości około 1-1,5 cm od dołu zaznaczyć linię startu, na którą nanosić przy pomocy kapilary ekstrakt barwników. Po nałożeniu całej szerokości odczekać chwilę aż rozpuszczalnik odparuje, po czym nałożyć w to samo miejsce kolejną porcję barwnika. Czynność powtórzyć 8-razy. Pozostawić płytkę do odparowania rozpuszczalnika na około 5 minut.

Wysuszoną płytkę wstawić pionowo do komory chromatograficznej wypełnionej eluentem (eterem naftowym). Ilość eteru powinna sięgać poniżej poziomu naniesionych ekstraktów barwników (<1 cm). Przykryć naczynie. Rozdział chromatograficzny prowadzić aż do momentu, gdy czoło rozpuszczalnika znajdzie się 1-2 cm przed górną krawędzią płytki. Chromatogram (płytkę) wyjąć i pozostawić do wysuszenia.

Opisać otrzymany chromatogram i przeprowadzić interpretację: zanotować kolejność elucji poszczególnych barwników; określić ilość rozdzielonych pasm; na podstawie informacji o budowie określić rodzaj barwnika asymilacyjnego wyizolowanego z badanego materiału roślinnego w danym układzie rozwijającym).

Uwaga: Nie należy pobrudzić ani uszkodzić płytki; płytkę należy trzymać tylko za jej krawędź. Nakładać kolejne objętości kapilary tak, by tworzący się na płytce ślad miał średnicę nie większą niż 5 mm.

Uwaga: Tylko końcówka płytki ma być zanurzona w rozpuszczalniku (eterze), płama roztworu nie może dotykać jego powierzchni.

## **C. Pomiar widm absorpcyjnych**

### **a) Ekstrakt barwników przed rozdziałem**

Z wyjściowego ekstraktu pobrać 0.2-0.5 ml i rozcieńczyć etanolem do 5 ml. Zarejestrować widmo absorpcji ekstraktu w zakresie od 400 do 700 nm, stosując roztwór etanolu jako próbę odniesienia (ślepa).

Zinterpretować otrzymane widmo [określić rodzaj barwnika fotosyntetycznego, ilość i położenie (długość fali) maksimów].

### **b) Ekstrakty poszczególnych barwników po rozdziale**

Powycinać z płytki odpowiednie fragmenty rozdzielonych barwników, umieścić je w probówkach i zalać 2 ml etanolu. Po wymyciu barwników zmierzyć ich widma absorpcji w od 400 do 700 nm, stosując roztwór etanolu jako próbę odniesienia (ślepa).

Zinterpretować otrzymane widma (wyznaczyć maksima absorpcji i wartości absorbancji). Porównać widmo absorpcji ekstraktu barwnikowego wyjściowego z widmami wyizolowanych barwników po rozdziale. Zinterpretować wynik.

## ĆWICZENIE 2. Badanie właściwości chlorofili

**Cel:** Ocena właściwości chlorofili w zależności od środowiska (czynników stresowych).

### A. Wykonanie doświadczenia

Materiał roślinny (liść) pociąć na małe fragmenty. Odważyć około 0,2 g przenieść do suchego moździerza porcelanowego i dodać 3 ml eteru naftowego. Rozcierać energicznie pestle. Eterowy ekstrakt odrzucić. Dodać kolejne 3 ml eteru i dalej rozcierać. Czynność powtarzać do zaniku zabarwienia ekstraktu. Do pozostałości w moździerzu dodawać po 2-3 ml etanolu, rozcierać pestle i zawiesinę alkoholową przesączyć (miękki sączek) do probówki miarowej. Porcją 2-3 ml etanolu przemyć moździerz i tłuczek, przenosząc wszystko do probówki. Dodać do probówki tyle etanolu by suma roztworu w nim zawarta wynosiła 10 ml. Probówkę zatkać korkiem i wytrząsnąć zawartość.

Otrzymany ekstrakt rozdzielić równomiernie do czterech probówek:

- 1 – dodać 1 ml H<sub>2</sub>O
- 2 – dodać 0,5 ml H<sub>2</sub>O i 0,5 ml 2 M NaOH
- 3 – dodać 0,5 ml H<sub>2</sub>O i 0,5 ml 2 M HCl
- 4 – dodać 1 ml roztworu soli metalu

Porównać barwy roztworów w poszczególnych probówkach. Zinterpretować wyniki.

Zarejestrować widma absorpcji (400-700 nm) ekstraktów z probówek. Wyznaczyć położenia maksimów absorpcji. Zinterpretować wynik. Wyciągnąć wnioski.

### Opracowanie wyników (propozycja rozwiązania)

1. Odwzorowana płytką TLC
2. Wyniki rozdziału chromatograficznego i analizy widm UV-Vis

Barwnik	Kolor	Maksima absorpcji [nm]	
		$\lambda_1$	$\lambda_2$

3. Właściwości chlorofili

Roztwór	Barwa roztworu	Maksima absorpcji [nm]
ekstrakt + woda		
ekstrakt + zasada		
ekstrakt + kwas		
ekstrakt + sól metalu		

## ZAŁĄCZNIK

Tabela 1 Maksima absorpcji w acetonie podstawowych barwników

Barwnik	Maksima absorpcji [nm]		A <sub>1</sub> /A <sub>2</sub>
	$\lambda_1$	$\lambda_2$	
Chlorofil a	430	662	1,22
Chlorofil b	456	645	2,81
Feofityna a	418	653	4,25
B-karoten	450	477	-
Luteina	447	475	-
Wiolaksantyna	442	473	-

# ĆWICZENIE 4

## Barwniki syntetyczne - synteza i właściwości fizykochemiczne

### 1. WSTĘP

Przeważająca ilość produkowanych przemysłowo barwników należy do grupy **związków azowych** (około 55%). Najczęstsza metodologia syntezy zakłada wykorzystanie dwóch następujących po sobie reakcji chemicznych: **diazowania** i **sprzęgania**. Warto pamiętać, że pomimo prostoty tych reakcji, wszelkie odstępstwa od metodologii syntezy mogą doprowadzić do obniżenia wydajności reakcji lub niekorzystnie wpłynąć na barwę otrzymywanego związku. Ze względu na niestabilność szeregu związków diazoniowych, reakcje diazowania należy prowadzić w niskich temperaturach, zazwyczaj 0-5°C.

Najczęstszym sposobem przeprowadzenia diazowania jest stopniowe dodawanie wodnego roztworu azotanu (III) sodu do kwaśnego roztworu lub zawiesiny diazowanej aminy. Szybkość dodawania azotanu (III) sodu jest regulowana w taki sposób, aby w mieszaninie reakcyjnej stale utrzymywał się nadmiar kwasu azotowego (III). Stwierdza się to poprzez nanoszenie kropli mieszaniny reakcyjnej na papierek jodoskrobiowy (powinno pojawić się niebieskie zabarwienie). Papierek jodoskrobiowy nasączony jest roztworem jodków oraz skrobi. Pod wpływem utleniaczy jony jodkowe I utleniają się do formy cząsteczkowej jodu – I<sub>2</sub>, który tworzy z nadmiarem jonów jodkowych jon I<sub>3</sub><sup>-</sup>. Ten ostatni, z amylozą lub amylopektyną, zawartymi w skrobi, tworzy barwne kompleksy. Warto pamiętać, iż obecność w mieszaninie reakcyjnej utleniaczy może spowodować zmianę barwy papierka jodoskrobiowego na niebieski pomimo nieobecności kwasu azotowego (III). Warto podkreślić jest również fakt, iż szybkość wkrapiania azotanu (III) sodu do mieszaniny reakcyjnej powinna być odpowiednio dobrana, tak aby nie doprowadzić do rozkładu azotanu, czemu może towarzyszyć wydzielanie się toksycznych tlenków azotu. Skutkiem może być powstanie produktów ubocznych. Wyjątkiem pod tym względem są reakcje nitrowania amin o małej zasadowości, np. nitroaniliny, podczas której azotan (III) sodu dodawany jest do mieszaniny reakcyjnej w jednej porcji. Nawet chwilowy niedobór kwasu nieorganicznego lub azotowego (III) może doprowadzić do powstania produktów ubocznych - związków diazaminowych. Z kolei, diazowanie amin o bardzo małej zasadowości (np. heterocyklicznych) przeprowadza się z użyciem kwasu nitrozylosiarkowego, generowanego z kwasu azotowego (V) i siarkowego (VI).

Ze względu na wysoką reaktywność i małą stabilność soli diazoniowych, reakcje sprzęgania przeprowadza się w niskich temperaturach (0-10°C). Szczególnie istotne wydaje się to w przypadku prowadzenia reakcji w środowisku zasadowym, które może powodować rozkład soli diazoniowej. Problem ten można rozwiązać dodając sól diazoniową w małych porcjach, kontrolując tym samym postęp reakcji.

W przypadku prowadzenia reakcji w środowisku kwaśnym, sól diazoniowa może być dodawana w jednej porcji do układu reakcyjnego. Co prawda należy wtedy usunąć nadmiar kwasu azotowego (III) z roztworu soli diazoniowej, ale nie sprawia to większego problemu (np. dodatek mocznika, kwasu sulfamidowego). Pominięcie tego etapu może doprowadzić do powstania produktów nitrozowania lub niepożądanych produktów diazowania (w przypadku I-rzędowych amin aromatycznych).

Pracując z solami diazoniowymi należy pamiętać, że są one bezpieczne w postaci roztworów wodnych, ale po wysuszeniu mogą ulegać wybuchowemu rozkładowi lub samozapłonowi.

Kończym etapem syntezy barwników rozpuszczalnych w wodzie jest etap wysalania z użyciem chlorku sodu lub potasu. Reakcję tą prowadzi się w podwyższonej temperaturze, ponieważ pozwala to na otrzymanie produktu w postaci grubokrystalicznej, którą łatwo odsączyć. Przebieg wysalania również może podlegać kontroli. W tym celu krople mieszaniny reakcyjnej nanosi się na bibułę filtracyjną. Oprócz warstwy osadu powinna pojawić się bezbarwna lub słabo zabarwiona otoczka odcieku. Ilość użytej podczas wysalania soli dostosowuje się do objętości roztworu. Zwyczajowo używa się maksymalnie 20-25 g soli na każde 100 ml roztworu.

## WYKONANIE ĆWICZENIA

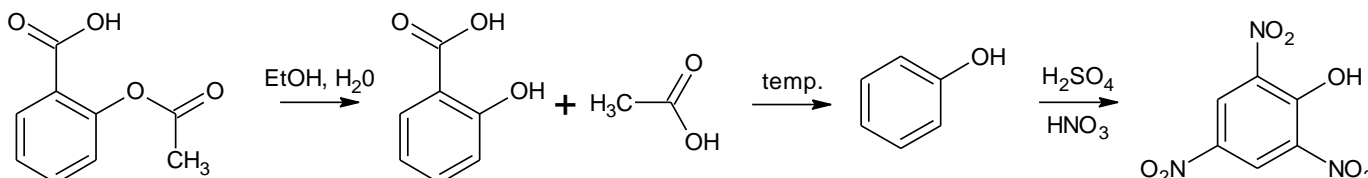
### ĆWICZENIE 1. Synteza wybranych barwników syntetycznych

**Cel:** Zapoznanie się z metodologią otrzymywania wybranych barwników chemicznych i poznanie ich właściwości fizykochemicznych.

#### A. Synteza kwasu pikrynowego

##### Odczynniki:

- aspiryna 2g
- alkohol etylowy 20 ml
- $\text{H}_2\text{SO}_4$  stęż. 16 ml
- $\text{HNO}_3$  55% 8 ml



W zlewce o pojemności 50 ml umieścić 2 g aspiryny. Dodać 20 ml wody i dokładnie wymieszać za pomocą mieszadła magnetycznego przez 10 minut (zaobserwować powstanie zawiesiny). Dodać 20 ml alkoholu etylowego i kontynuować mieszanie przez kolejne 10 minut. Po tym czasie odsączyć powstałą zawiesinę z użyciem lejku Buchnera. Przesącz zagęścić na czaszy, a do pozostałej w kolbie destylacyjnej zawiesiny dodać 16 ml stężonego kwasu siarkowego (2). Mieszaninę reakcyjną ogrzewać na łaźni wodnej przez 15 minut. Po tym czasie wkropić 8 ml 55% kwasu azotowego, jednocześnie chłodząc kolbę lodem (1). Dodać 20 ml wody. Otrzymany produkt odsączyć na lejku Buchnera, a następnie przekrystalizować z etanolu.

Temp. topnienia: 122°C.

#### Uwagi:

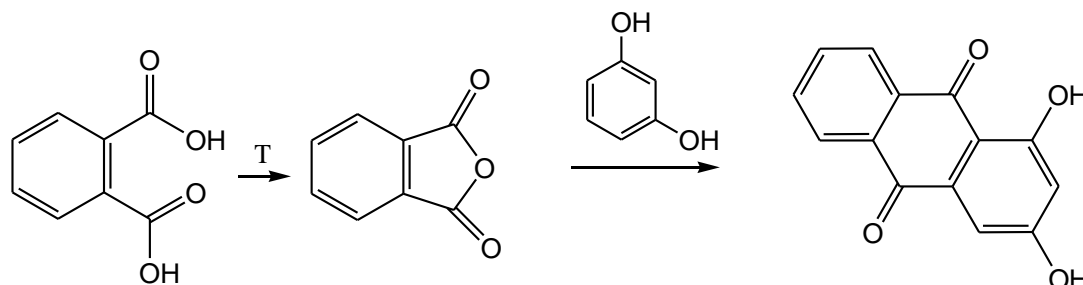
(1) Mieszanina reakcyjna może się burzyć. Etap przeprowadzać powoli i ostrożnie.

(2) Ze względu na pracę ze stężonymi kwasami używać okularów ochronnych, rękawiczek i innych środków ochrony indywidualnej.

## B. Synteza chinizaryny

### Odczynniki:

- kwas ftalowy 8,3 g
- rezorcyna 5,5 g
- H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> stęż. 10 ml
- NaCl



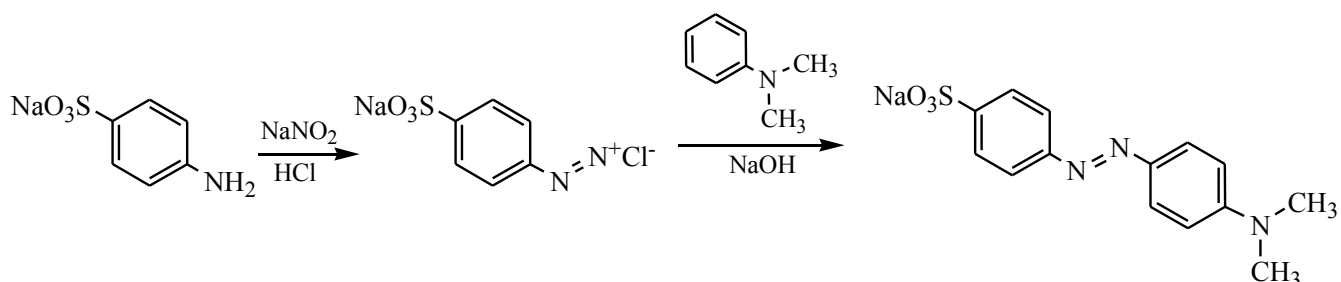
W kolbie o pojemności 100 ml umieścić 8,3 g kwasu ftalowego i 5,5 g rezorcyny. Dodać 10 ml stężonego kwasu siarkowego (VI) (1). Ogrzewać całość ostrożnie pod chłodnicą zwrotną tylko do rozpuszczenia substratów, przy czym zaobserwować powstanie zawiesiny oraz zmianę barwy na kolor czerwony. Mieszaninę reakcyjną bardzo ostrożnie i powoli wylać do 30 ml wody. Barwnik wysolić nasyconym roztworem chlorku sodu. Powstały osad odsączyć na lejku Buchnera i przekrystalizować z wody.

**Uwagi:** (1) Ze względu na pracę ze stężonymi kwasami używać okularów ochronnych, rękawiczek i innych środków ochrony indywidualnej.

### C. Synteza oranżu metylowego (heliantyny)

#### Odczynniki:

- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  2,7 g
- kwas sulfanilowy 9,7 g
- $\text{NaNO}_2$  3,5 g
- $\text{NaCl}$
- $\text{HCl}_{\text{stęż.}}$  9 ml
- dimetyloanilina 6,3 ml
- $\text{NaOH}$  7 g



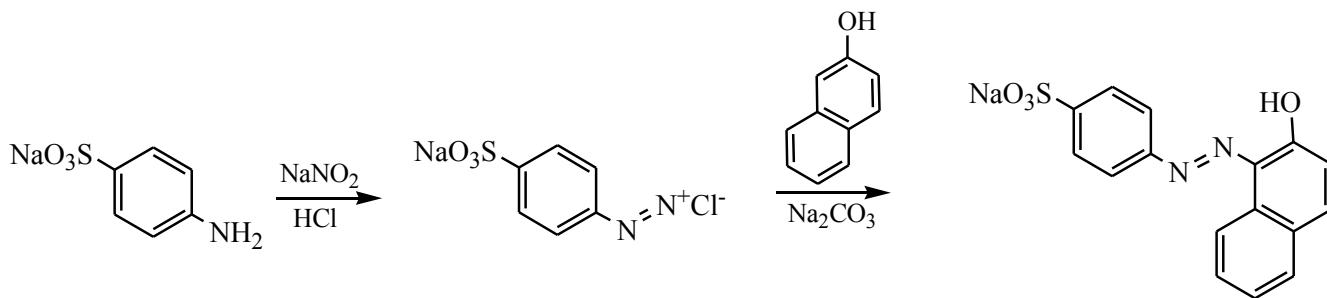
W zlewce rozpuścić 2,7 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  w 50 ml wody, następnie dodać 9,7 g kwasu sulfanilowego i ogrzewać zawartość zlewki w celu rozpuszczenia kwasu. Jeżeli uzyskany roztwór ma odczyn kwaśny, zobojętnić go kilkoma kroplami 5%-owego roztworu  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Roztwór oziębć do temperatury pokojowej i mieszając wkropić powoli roztwór 3,5g  $\text{NaNO}_2$  w 200 ml wody. Następnie dodać 25g lodu i wkraplać w temperaturze  $3-5^\circ\text{C}$ , ciągle mieszając 9 ml stężonego  $\text{HCl}$  w 20 ml wody. Do tak otrzymanego roztworu wprowadzić, stale mieszając, 6,3 ml dimetyloaniliny w 10 ml rozcieńzonego  $\text{HCl}$  (1:1). Pozostawić na 10 min często mieszając. Następnie w 5-minutowych odstępach czasu dodać 14 i 6 ml roztworu  $\text{NaOH}$  (7 g zasady rozpuścić w 20 ml wody). Po 30 minutach wysolic sól sodową heliantyny poprzez dodanie ok 15 g  $\text{NaCl}$ , mieszać do jej całkowitego rozpuszczenia. Osad odsączyć na lejku Buchnera i przekrystalizować z wody. Otrzymuje się około 15 g soli sodowej heliantyny w postaci pomarańczowych płatków.

### D. Synteza oranżu $\beta$ -naftolowego

#### Odczynniki:

- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1,8 g
- kwas sulfanilowy 5,2 g
- $\text{NaNO}_2$  2,1 g
- $\text{NaCl}$
- $\text{HCl}$
- $\beta$ -naftol 4,3 g
- $\text{NaOH}$  13%



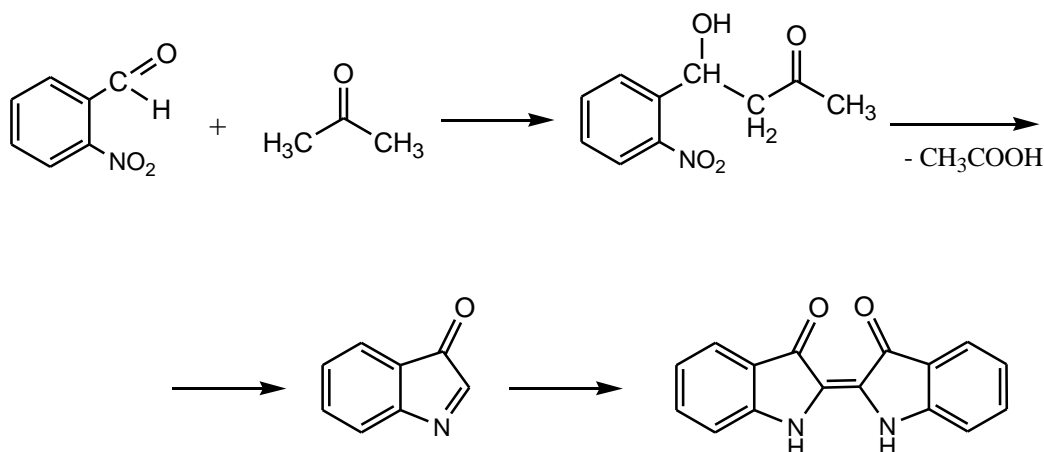


W zlewce rozpuścić 1,8 g bezwodnego  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  w 50 ml wody, następnie dodać 5,2 g kwasu sulfanilowego i ogrzewać zawartość zlewki w celu rozpuszczenia kwasu. Roztwór oziębić do temperatury pokojowej po czym, mieszając mieszadłem magnetycznym wkropić powoli 20 ml rozcieńczonego  $\text{HCl}$  (1:1). Mieszaninę ochłodzić do temperatury  $3-5^\circ\text{C}$ . Wytrąca się drobnokrystaliczna zawiesina kwasu sulfanilowego, do której następnie wkropić powoli ciągle mieszając oziębiony roztwór 2,1 g  $\text{NaNO}_2$  w 10 ml wody. Cały czas utrzymywać temperaturę w zakresie  $0-5^\circ\text{C}$ . Pod koniec reakcji sprawdzić obecność nadmiaru  $\text{HNO}_2$  za pomocą papierka jodskrobiowego (papierek przyjmuje zabarwienie niebieskawe) Zawartość zlewki wylać powoli i stale mieszając do ochłodzonego ( $0-5^\circ\text{C}$ ) roztworu naftolu (4,3 g  $\beta$ -naftolu rozpuścić w 10 ml 13%-owego roztworu  $\text{NaOH}$  + 7 g bezwodnego  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  rozpuszczonego w 60 ml wody). Utrzymywać temperaturę  $0-5^\circ\text{C}$ . Po upływie 1 godziny ogrzać zawartość zlewki w celu rozpuszczenia osadu, przesączyć przez ogrzany lejek szklany. Do przesączu dodać 30 g  $\text{NaCl}$  i ogrzać ponownie w celu rozpuszczenia soli kuchennej. Pozostawić roztwór do krystalizacji w temperaturze pokojowej. Kryształy odsączyć na lejku Buchnera i wysuszyć na powietrzu. Wydajność około 7,5-9,5 g

## E. Synteza indygo

### Odczynniki:

- aldehyd *o*-nitrobenzoesowy 1,5 g
- aceton 4,5 ml
- wodorotlenek sodu 1N roztwór
- etanol



W kolbie stożkowej rozpuścić 1,5 g aldehydu *o*-nitrobenzoesowego w 4,5 ml acetonu i dodać 4 ml wody. Do klarownego roztworu (pod wyciągiem), mieszając mieszadłem magnetycznym, dodać następnie kroplami 1N roztwór wodorotlenku sodu, do alkalicznego odczynu. Mieszanina rozgrzewa się i staje się ciemnobrązowa. Po ochłodzeniu odsączyć na lejku Buchnera wykrystalizowany barwnik, przemyć etanolem. Otrzymuje się około 0,65 g (70% wydajności) związku.

Bardzo czysty preparat ma piękny czerwono-fioletowy połysk.

## Piśmiennictwo

1. Encyklopedia PWN
2. Leo M.L. Nollet, Handbook of Food Analysis, Second Edition, Volume 1: Physical Characterization and Nutrient Analysis, Marcel Dekker, Inc., USA 2004.
3. P. Kafarski, P. Wieczorek, skrypt: „Ćwiczenia laboratoryjne z chemii bioorganicznej” 1997.
4. Cygański, Metody spektroskopowe w chemii analitycznej, WNT, Warszawa 1997.
5. Z. Marczenko, M. Balcerzak, Spektrofotometryczne metody w analizie nieorganicznej, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1998.
6. Z.S. Szmaj, T. Lipiec, Chemia analityczna z elementami analizy instrumentalnej, Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1996.
7. I. Stiepanow „Podstawy chemii i technologii barwników organicznych” WNT, W-wa 1980.
8. Arendt, A.M. Kołodziejczyk, T. Sokołowska: Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej, Wyd. PG, Gdańsk 1980).
9. Skrypt Wojciecha Czajkowskiego „Laboratorium z technologii barwników”, Wyd. PŁ, Łódź 1993.
10. Ćwiczenia z chemii organicznej cz.1. Preparatyka organiczna. Urszula Wrzeciono. Poznań 1991.