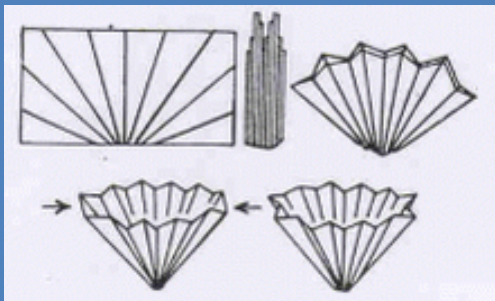
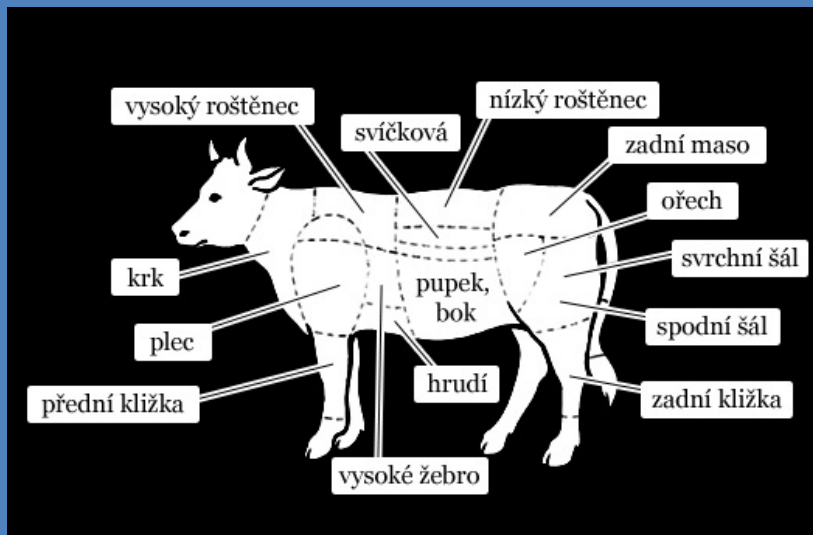
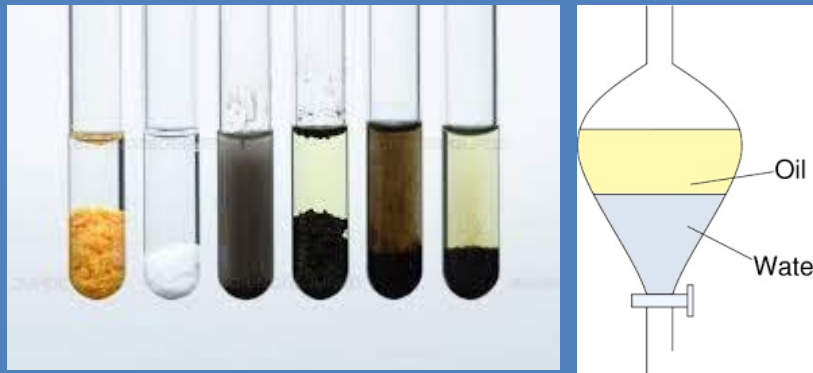


Repetitorium chemie III.

(úvod do dělicích /separačních/ metod)

s *mnoha barevnými* obrazy
a praktickými příklady z každodenní praxe
(2023)



porcování ≠ dělení



Když něco porcovali a někdo upadl, rozporcovali ho také.

Univerzitní etnografické muzeum v Oslu

Inuitské pověsti očima Árona z Hůrky (1822-1869), Argo 2016

Konečný cíl separačních: izolace chemicky čistého individua

Srážení

Krystalizace

Filtrace

Centrifugace

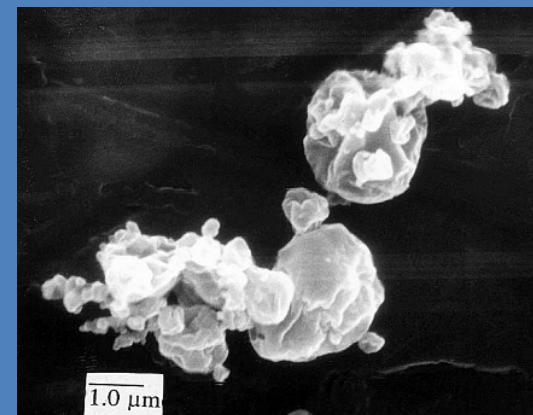
Adsorpce/desorpce

Destilace/sublimace

Extrakce (vytřepávání)

Chromatografie

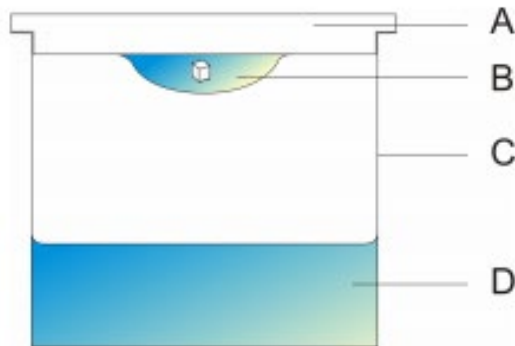
Elektroforéza



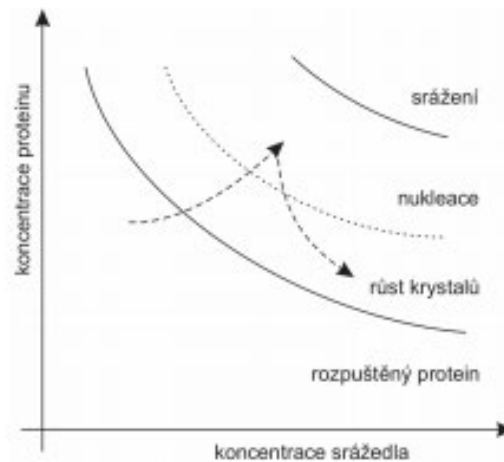
*sírán měďnatý (nahore vlevo)
oxalát vápenatý (dole vlevo)*

*ovalbumin (nahore vpravo)
chlorid sodný (dole vpravo)*

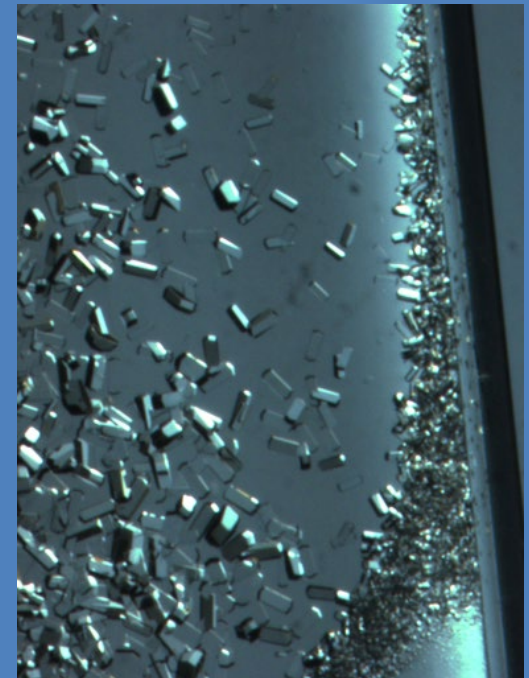
Krystalizace proteinů – určení terciární (prostorové) struktury



Obrázek 1: Znázornění uspořádání visící kapky: A – víčko, B – kapka, C – rezervoár, D – matečný roztok



Obrázek 2: Fázový diagram. Šipky ukazují ideální průběh krystalizačního experimentu.



Experimentální uspořádání metodou visící kapky se skládá za rezervoáru a víčka. V rezervoáru je roztok pufru, srážedla a aditiv. Kapka se umísťuje na víčko a obsahuje protein a roztok z rezervoáru (zředěný).

Roztok v rezervoáru je mnohem koncentrovanější, než v kapce a proto dochází k vypařování vody z kapky (jediné těkavé látky). Tím se zvyšuje koncentrace roztoku v kapce a molekuly proteinu se dostanou blíže k sobě i srážedlu.

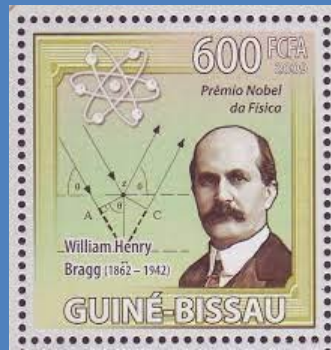
V kapce začínají vznikat nukleační jádra nebo začíná precipitace sraženiny.



Krystalizace proteinů – určení terciární (prostorové) struktury

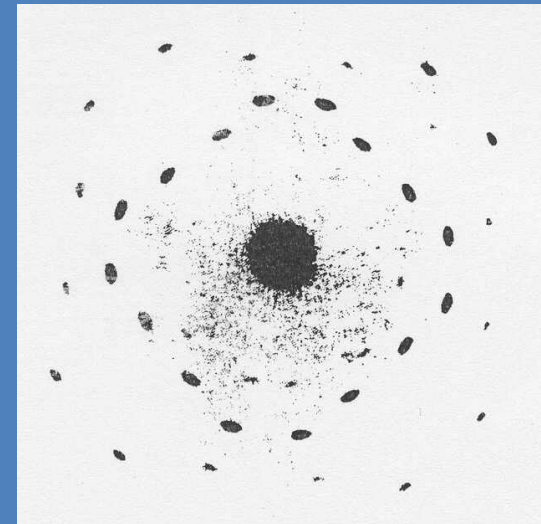
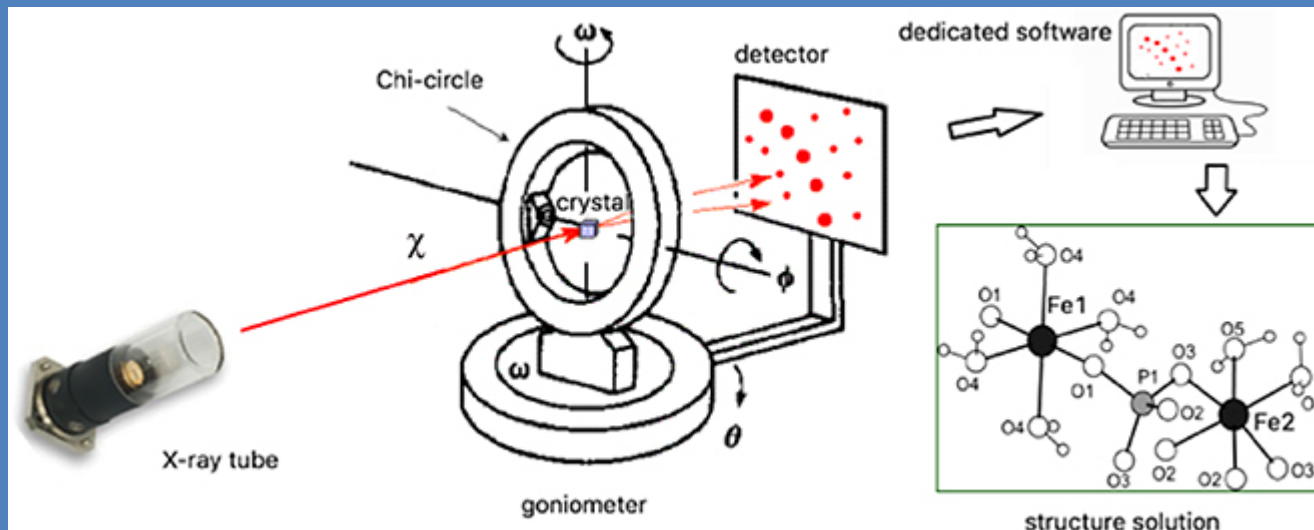
RTG strukturní analýza: Max von Laue, Walter Friedrich a Paul Knipping (1912) ozářili krystal modré skalice svazkem RTG a zjistili, že rozptýlená energie se od krystalu šíří pouze v určitých směrech, zatímco v jiných vyhasíná.

Roku 1959 se poprvé podařilo analyzovat prostorovou strukturu u molekuly hemoglobinu.



V RTG difrakčním obrazci je zakódována informace o vnitřní struktuře (William L. Bragg)

Další techniky: **NMR**, **SEM**, **TEM** a **FRET** – Fluorescence (Förster) resonance energy transfer





RTG-difraktometr

Srážení, krystalizace (v chemii)

Princip: oddělení izolované látky ve formě pevné fáze z kapalné.

- Sráží se ze zředěných roztoků
- Sráží se z horkých roztoků
- Sráží se z roztoků s pH na hranici kvantitativního srážení
- Sráží se pomalým přidavkem srážedla za intensivního míchání
- Sraženina se před vážením řádně vysuší, popř. žihá



síran měďnatý



led

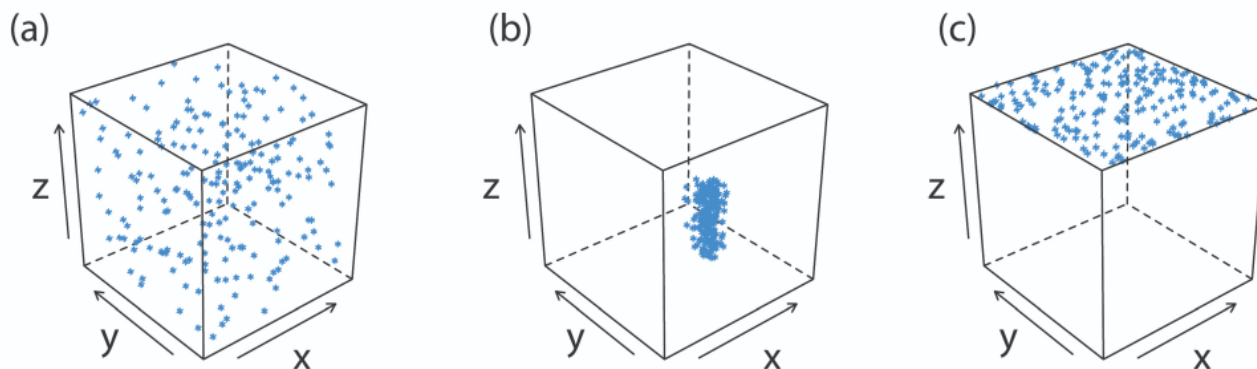


dvojchroman sodný

Srážení, krystalizace

Vlastnosti sraženin

- Sraženiny dělíme na krystalické a amorfnní (případně koloidní sraženiny)
- Amorfnní sraženiny jsou složeny z drobnějších částic a mají větší povrch
- Pro gravimetrická stanovení jsou vhodnější sraženiny krystalické
- Čistota sraženin je omezena spolusrážením a indukovaným srážením
- Příčinou spolusrážení bývá adsorpce, okluze, inkluze a tvorba směsných krystalů
- **Adsorpce** = zachycení částic v silovém poli na povrchu tuhé fáze
- **Okluze** = uzavírání cizích iontů uvnitř sraženiny
- **Inkluze** = prostorově specifická interakce, vstup iontů do kanálků a dutin sraženiny



A) – **inkluze** (hmotnost vysrážené látky je vyšší, než by měla být stechiometricky, pomůže rekrystalizace / přesrážení)

B) – **okluze** (lze ji zmírnit ponecháním vysráženého precipitátů po nějakou dobu s roztokem supernatantu; někdy se označuje jako „zrání“ sraženiny)

C) – **adsorpce** (lze ji zmírnit promýváním sraženiny)



Figure 8.2.58.2.5 shows the result of preparing PbCrO_4 from $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ by the direct addition of KCrO_4 (Beaker A) and by homogenous precipitation (Beaker B).

In Beaker B, heating a solution of 0.1 M $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$, 0.1 M $\text{Cr}(\text{NO}_3)_3$, and 0.1 M KBrO_3 slowly oxidizes Cr^{3+} to CrO_4^{2-} , precipitating PbCrO_4

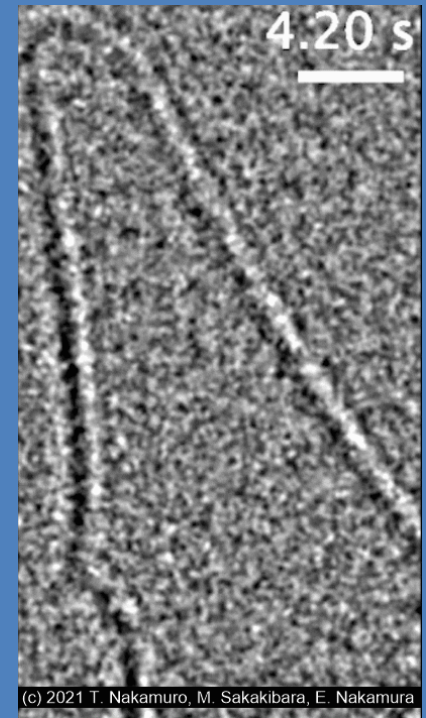
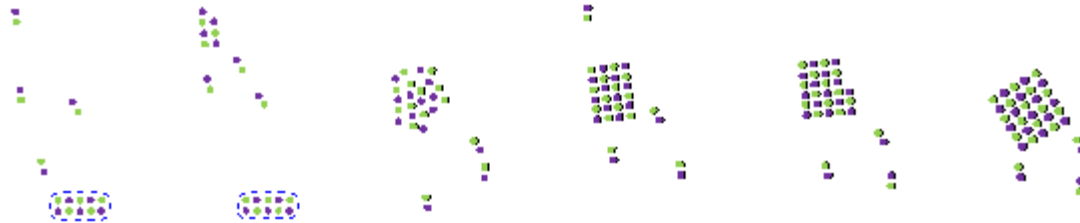
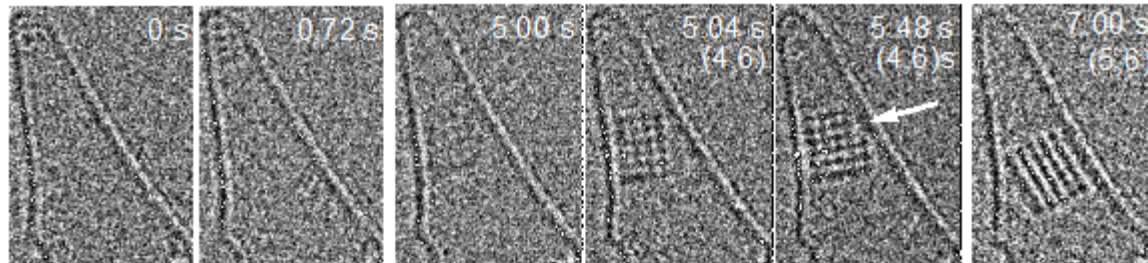
Both beakers contain the same amount of PbCrO_4 . Because the direct addition of KCrO_4 leads to rapid precipitation and the formation of smaller particles, the precipitate remains less settled than the precipitate prepared homogeneously. Note, as well, the difference in the color of the two precipitates.

[https://chem.libretexts.org/Under_Construction/Purgatory/Book%3A_Analytical_Chemistry_2.0_\(Harvey\)/08%3A_Gravimetric_Methods/8.2%3A_Precipitation_Gravimetry](https://chem.libretexts.org/Under_Construction/Purgatory/Book%3A_Analytical_Chemistry_2.0_(Harvey)/08%3A_Gravimetric_Methods/8.2%3A_Precipitation_Gravimetry)

Hezké video růstu krystalů k vidění na atomové úrovni:

https://www.u-tokyo.ac.jp/focus/en/press/z0508_00161.html

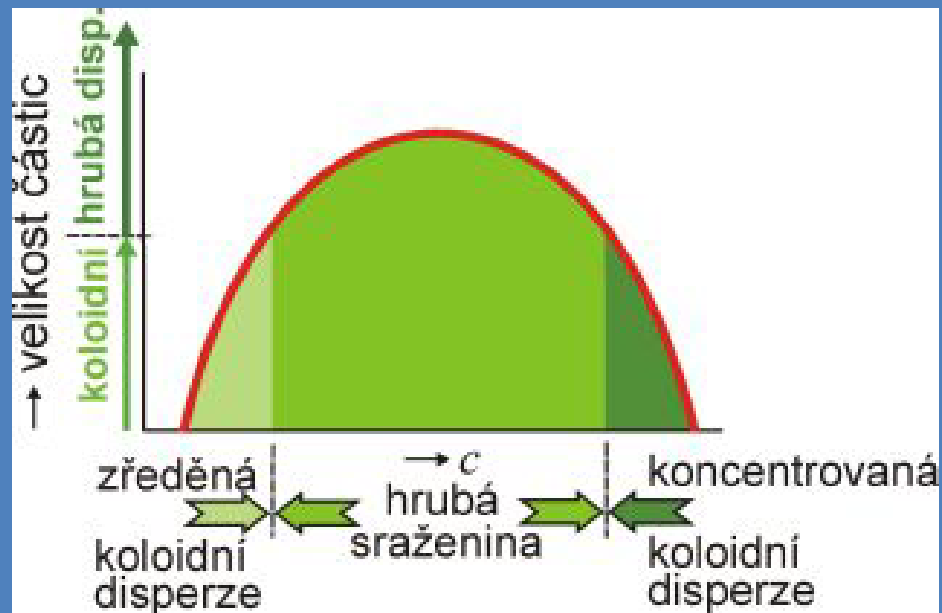
<https://www.u-tokyo.ac.jp/content/400152887.gif>



Two novel techniques, atomic-resolution real-time video and conical carbon nanotube confinement, allow researchers to view never-before-seen details about crystal formation. The observations confirm theoretical predictions about how salt crystals form and could inform general theories about the way in which crystal formation produces different ordered structures from an otherwise disordered chemical mixture. (January 22, 2021)

Srážecí reakce: von Weimarnův srážecí „zákon“

„Nerozpustná látka vznikající podvojným rozkladem se vylučuje ve formě koloidní disperze, byly-li výchozí látky smíšeny ve velmi malých nebo ve velmi značných koncentracích. Ve **středním koncentračním oboru** vzniká **hrubozrnná sraženina**“.

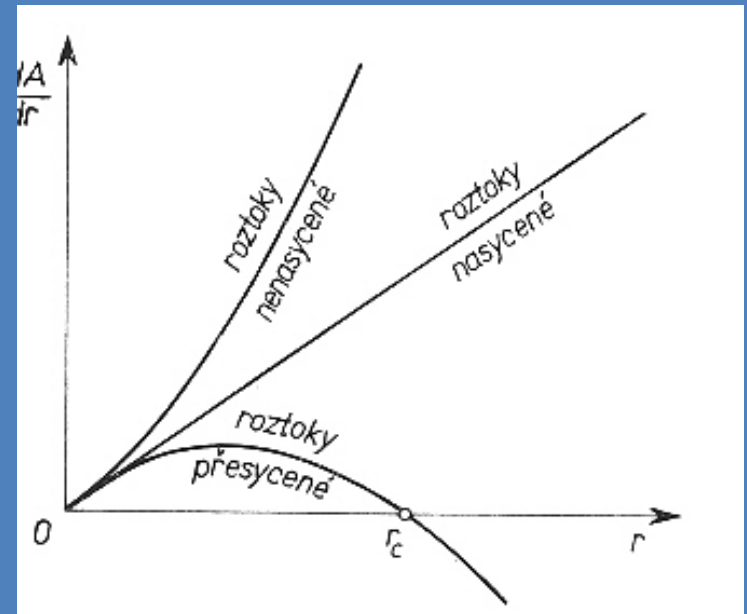


Petr Petrovich (von) Wei(y)marn Russian chemist born in St. Petersburg known for his groundwork in colloid science. In 1906 he stated the von Weymarn law.

Vznik zárodku (nuklea) je podmíněn náhodným setkáním více částic rozpuštěné látky, ale spojení těchto částic je bržděno snahou systému o vyrovnaní koncentrace v celém objemu (II. věta termodynamiky o vzrůstu entropie). Vznik stabilního zárodku je podmíněn snížením volné energie, která je funkcí objemu a povrchu zárodku. **V roztocích nenasycených nebo nasycených** znamená vznik zárodku značné zvýšení volné energie, takže jakékoliv seskupení částic rozpuštěné látky se ihned rozpadá.

V **přesyceném roztoku** má funkce volné energie parabolický průběh a pokud poloměr zárodku překročí určitou kritickou hodnotu, stává se termodynamicky stabilní a jeho další růst je doprovázen snižováním volné energie (viz obrázek).

Čím větší je přesycení nebo podchlazení roztoku, tím menší je kritický rozměr zárodků a je tedy pravděpodobnější jejich spontánní vznik. Další krystalizace rozpuštěné látky je provázána zmenšením její koncentrace v roztoku a proces nukleace je tím tedy zpožděn.



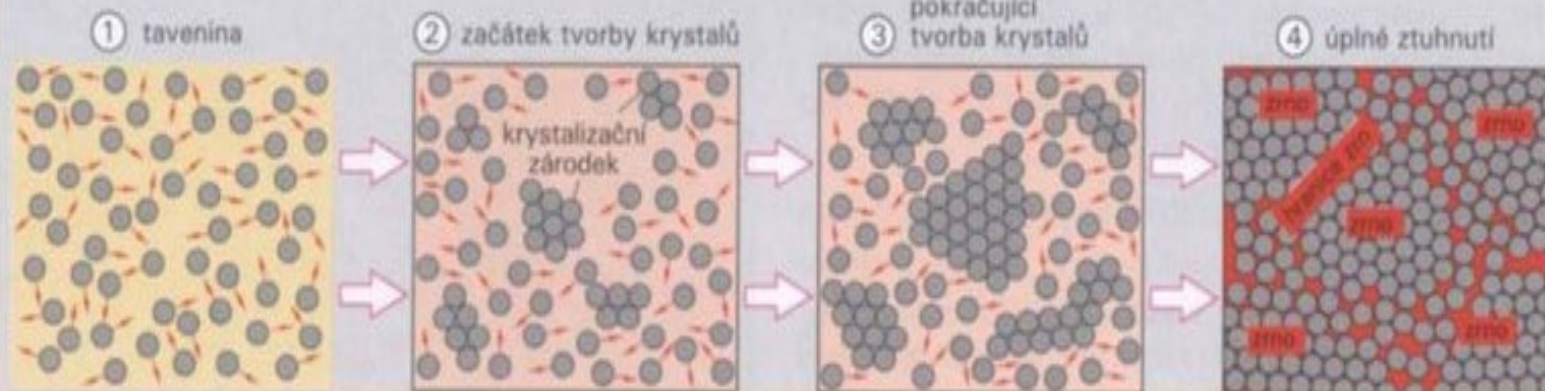
Nejběžnější způsoby vyvolání nukleace (krystalizace)

Aby roztok krystaloval, musí být přesycený!

- odpařování rozpouštědla (rozpustnost látky musí být > 10 mg/ml)
- ochlazení roztoku (rozpustnost látky musí být 10 -100 mg/ml)
- přidání antisolventu (vysrážení produktu) (rozpustnost API musí být 1-10 mg/ml)
- změna pH
- přidání látky, která chemickou reakcí vytvoří žádaný produkt (tzv. reakční krystalizace)
- lyofilizace (příprava jak krystalické, tak amorfni látky)
- sublimace
- ochlazování taveniny
- rekrytalizace z jiného rozpouštědla
- zahřívání (při enantropii)
- STŮL nebo DVEŘE (mechanická indukce)



Procesy v oblasti atomů



Koloidy a nanočástice

Koloid je označení pro disperzní soustavu obsahující částice, které svou velikostí spadají do rozmezí 1 nm až 1000 nm.

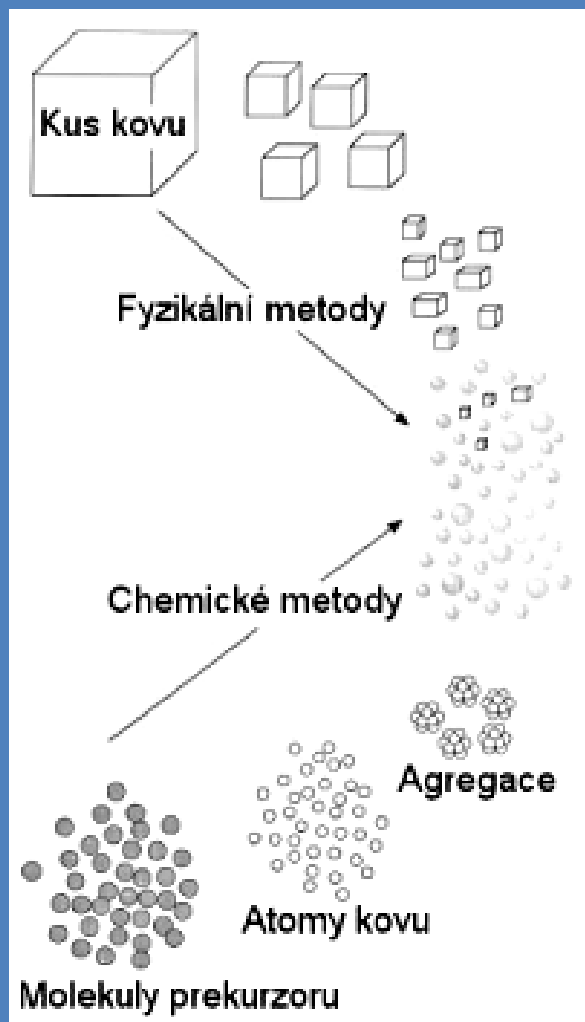
Koloidy jsou viditelné v ultramikroskopu nebo elektronovém mikroskopu, nikoliv však ve světelném mikroskopu.

Částice koloidu jsou často barevné, tvoří průhledné disperzní systémy a v bočním světle opaleskují (tzv. Tyndallův efekt).

Procházejí filtračním papírem (ale nikoliv už všemi membránami).

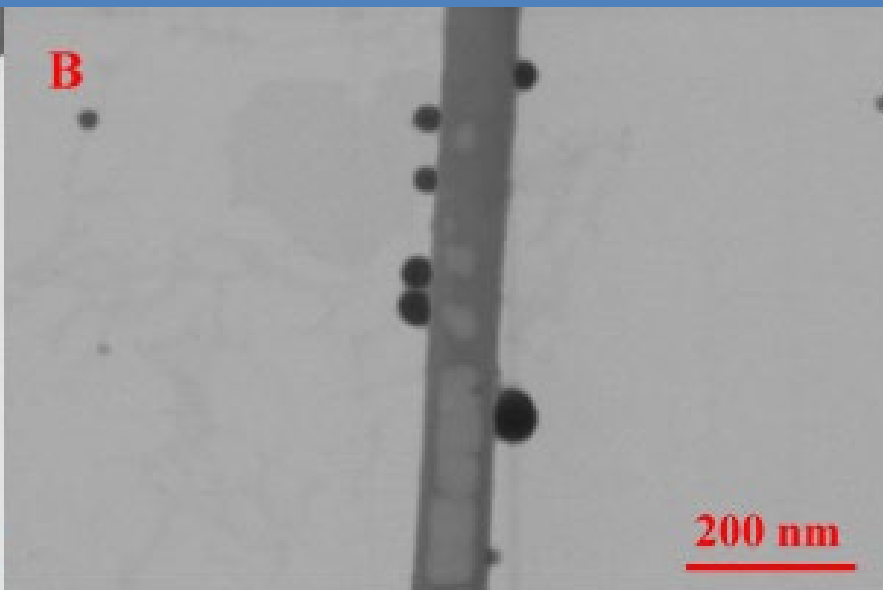
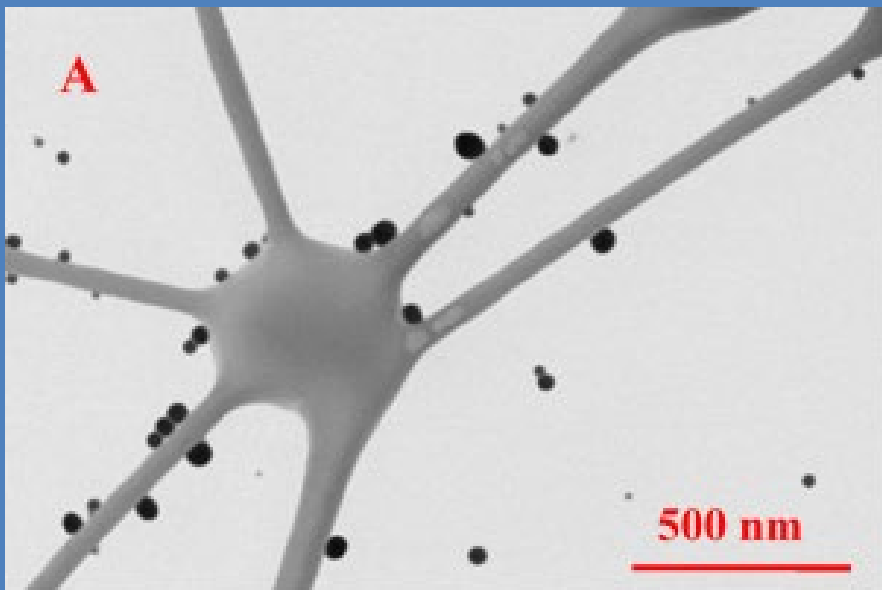
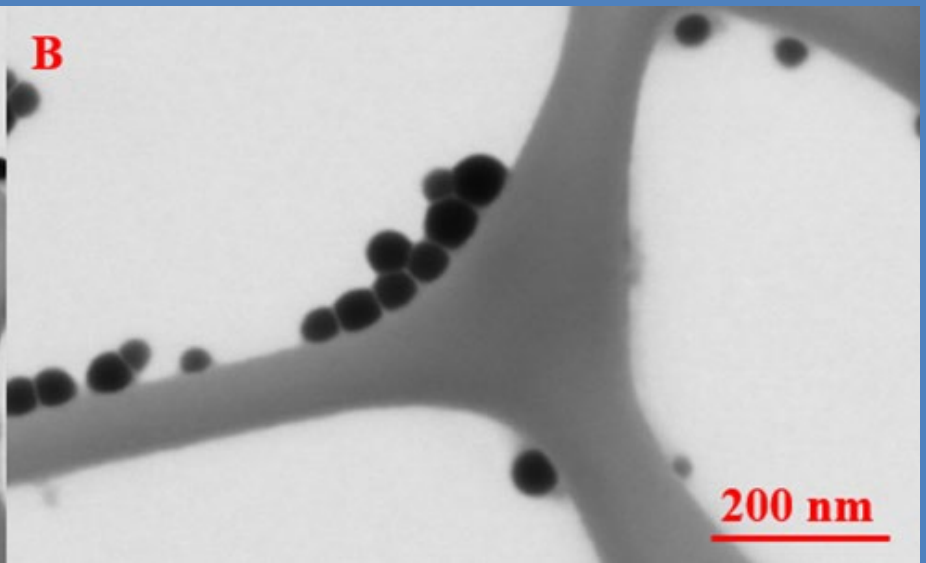
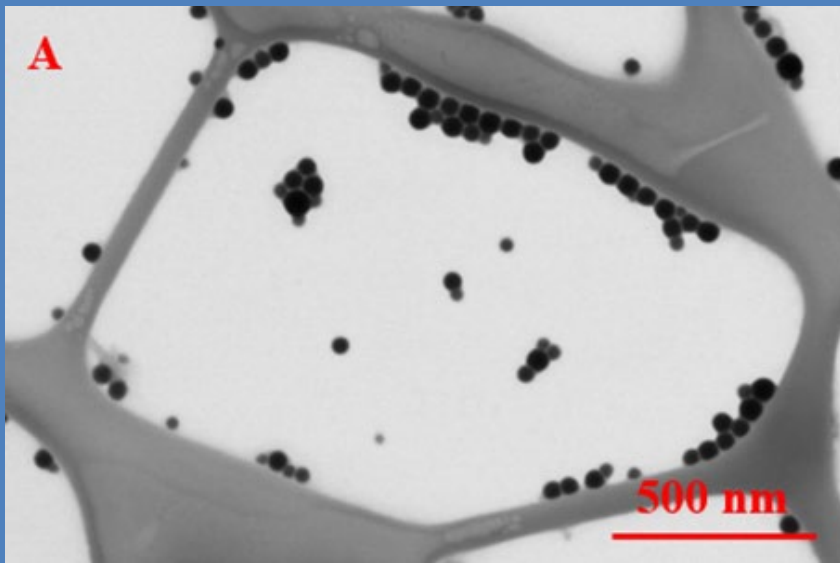
Tvoří gelů (či emulze; hrubé disperze je tvoří jen výjimečně).

Základní způsoby přípravy nanočástic



Chemické metody přípravy nanočástic:

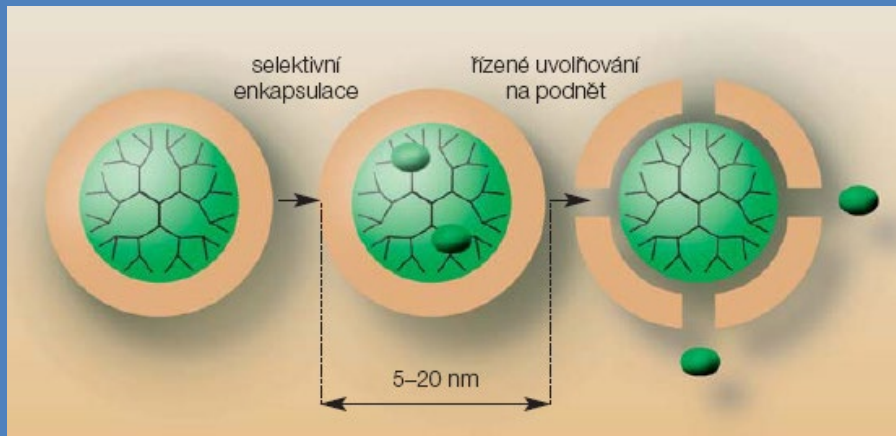
- Redukce solí přechodných kovů v roztoku;** vznikají při ní prakticky monodisperzní nanočástice. Klasický příklad je redukce tetrachlorozlatitanu citrátem sodným, kterým byly připraveny nanočástice o průměru asi 20 nm používané pro histologické aplikace.
- Odstranění ligandů z organokovových sloučenin;** Například redukce některých organických sloučenin platiny ($\text{Pt}(\text{dba})_2$) a palladia ($\text{Pd}(\text{dba})_2$) umožňuje připravit nanočástice těchto kovů o velikosti několika nanometrů.



Příklady nanočástic selenu snímané elektronovým mikroskopem

Příklady koloidů/nanočástic

Poháry a jim podobné artefakty se vyráběly v období Římské říše. Jev, který nás zajímá, spočívá v neobvyklých barvách poháru. Je-li pozorován v odraženém světle, např. denním, je zelený (viz obrázek 1 vlevo). Je-li však zdroj světla umístěn dovnitř poháru, pohár je červený (viz obrázek 1 vpravo). Chemická analýza pohárů ukázala, že sklo obsahuje 73 % SiO_2 , 14 % Na_2O a 7 % CaO , tedy složení podobné moderním sklům. Sklo pohárů však obsahuje malé množství zlata (cca 40 ppm) a stříbra (cca 300 ppm). Tyto kovy se ve skle nacházejí ve formě **nanokrystalů o rozměru cca 70 nm**. Nanokrystaly jsou slitinou zlata a stříbra v poměru 3:7. Není známo, jakou technologii výroby těchto pohárů a podobných artefaktů římské skláři používali.

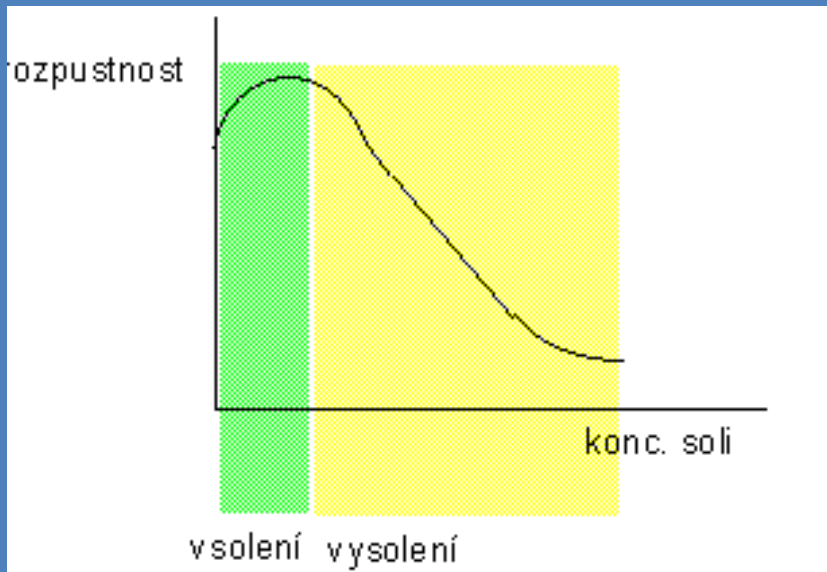


Specifické uvolňování léčiva z nanočástic

Lykurgovy poháry

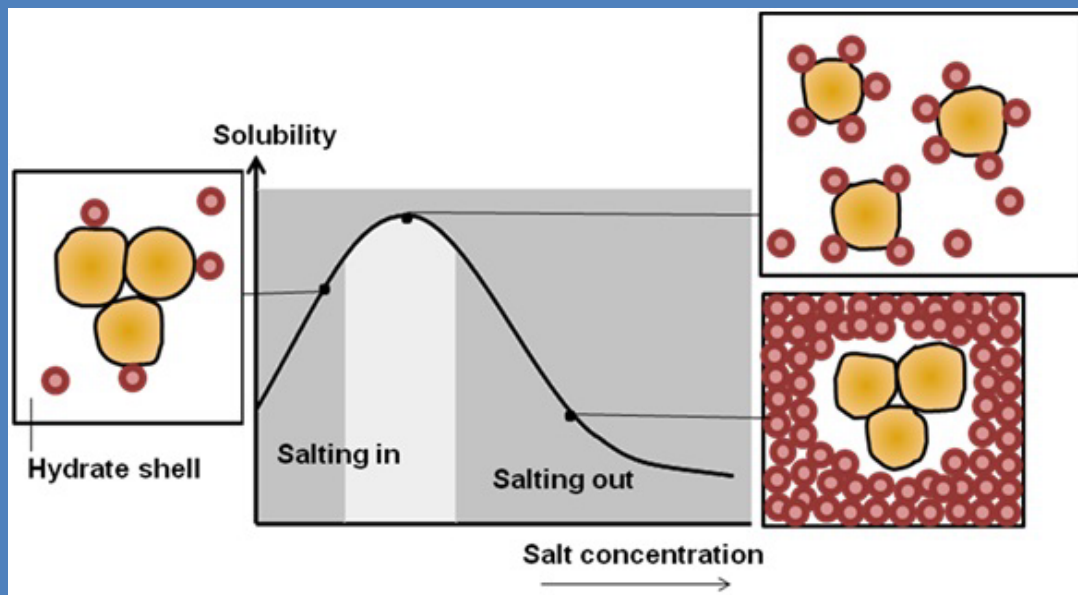
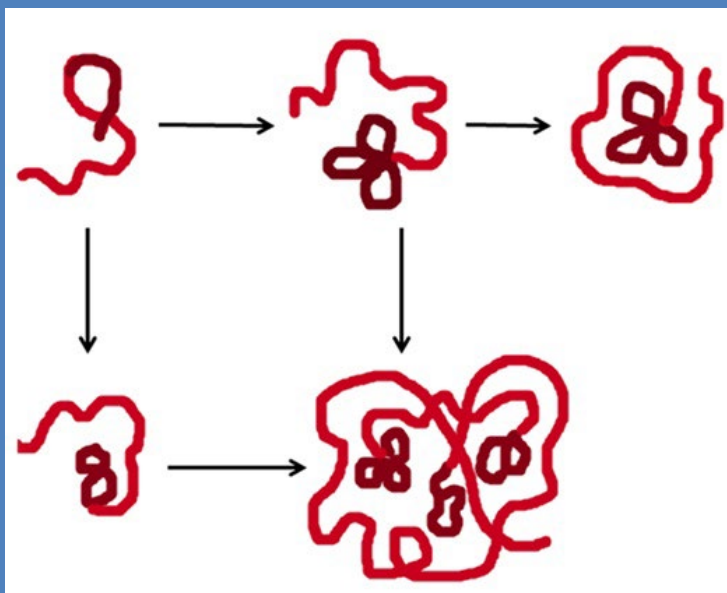
Srážení v biologii

- Příklad: srážení („vysolování“) bílkovin síranem amonným
- Sráží se vypočteným přídavkem (pevné) soli



Pokles rozpustnosti bílkoviny způsobený přidavkem většího množství solí (síran amonný). Tento pokles je způsoben odstraněním vody ze solvatačního obalu makromolekuly.

Struktura bílkovin v roztoku a vysolování



Při biosyntéze se bílkoviny ve vodném prostředí skládají do nativní formy procesem zvaným „folding“; hydrofobní části molekuly zůstávají uvnitř.

Při **vysolování** dochází nárůstem koncentrace soli v roztoku k **omezení kontaktu povrchu makromolekuly s vodou**.

Prvním badatelem, který se začal systematicky zabývat **vlivem solí na bílkoviny**, byl slavný pražský rodák, **Němec Franz Hofmeister (1850–1922)**. Hofmeister působil koncem 19. století na německé části pražské univerzity, kde se v roce 1885 stal řádným profesorem a později i děkanem Lékařské fakulty.



V říjnu 2010 byla na budově 1. lékařské fakulty UK, kde Franz Hofmeister prováděl své experimenty s vysolováním bílkovin, odhalena tato dvojjazyčná pamětní deska.

Filtrace

Filtrace za atmosférického tlaku

Papírové filtry - obyčejný,

skládaný (**francouzský**)



filtrace rychlá

filtrace pomalá

modrá

zelená

červená

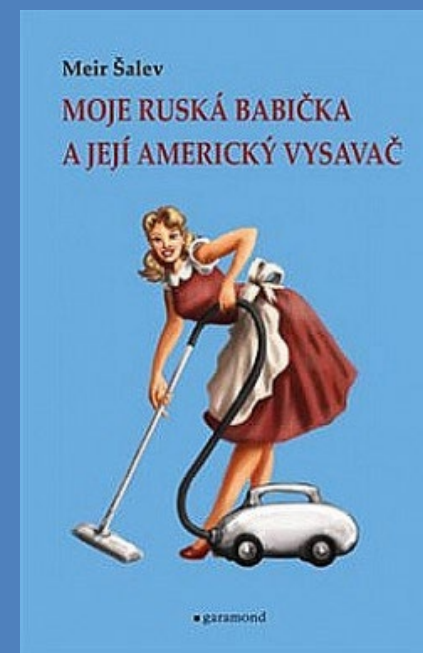
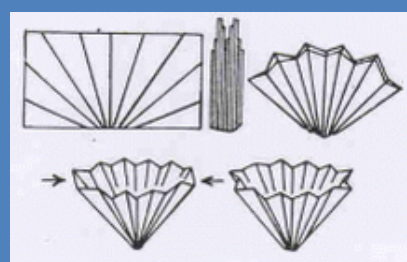
žlutá

bílá

černá



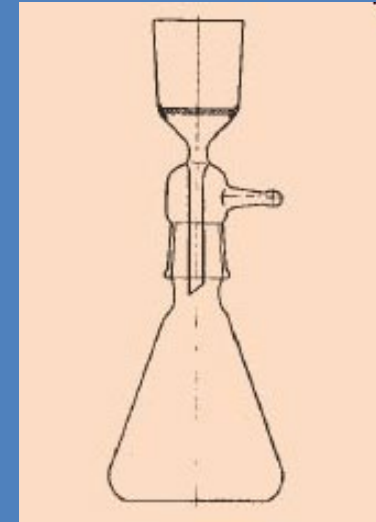
Obyčejné nálevky
a francouzský filtr
(úplně vpravo)



Filtrace

Filtrace za sníženého tlaku

Büchnerova nálevka odsávačka



V roce 1897 uveřejnil Büchner výsledky svého dlouholetého výzkumu alkoholického kvašení bez kvasinkových buněk, přičemž zjistil, že příčinou kvašení je neživá chemická látka-enzym nazvaný zymáza. Tento první objevený enzym, který Büchner izoloval z kvasinek, vyvolává alkoholické kvašení cukrů i bez přítomnosti živých buněk. Tento objev se stal základem nového samostatného vědního oboru-biochemie.

Filtrace

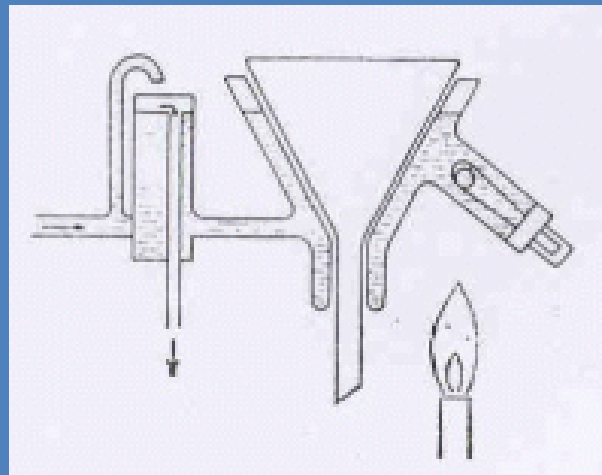
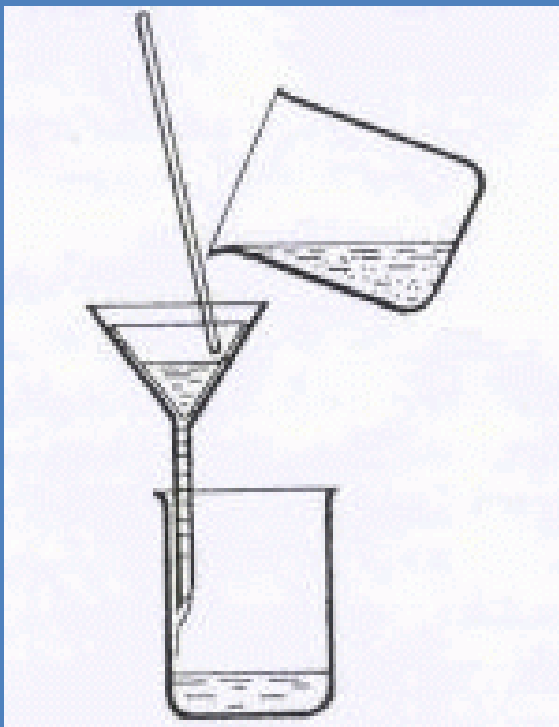
Filtrace za sníženého tlaku

Odsávačka

Frita



Označení	velikost pórů	příklady použití
S0	150 – 250 [μm]	rozptyl plynů v kapalinách
S1	90 – 160	hrubé sraženiny
S2	40 – 90	hrubé krystaly
S3	15 – 40	jemnější sraženiny a krystaly
S4	5 – 15	zpětné ventily pro rtuť
S5	pod 5	filtrace větších mikroorganismů



Ještě jednou filtrace a filtrace za horka
a filtrace v průmyslovém měřítku



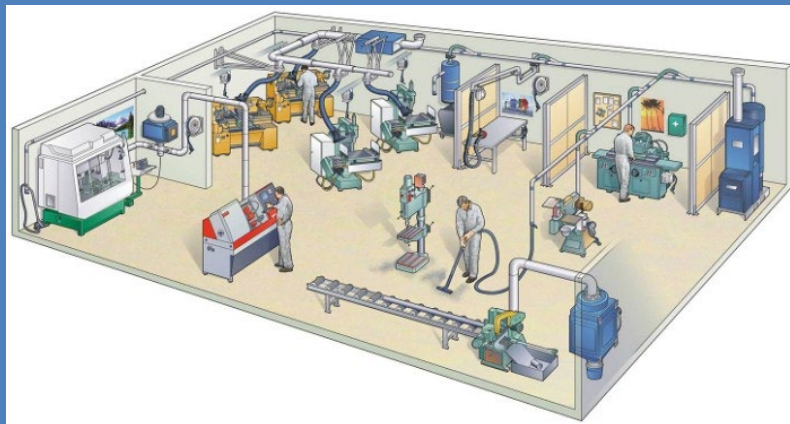
Filtrace v průmyslovém měřítku



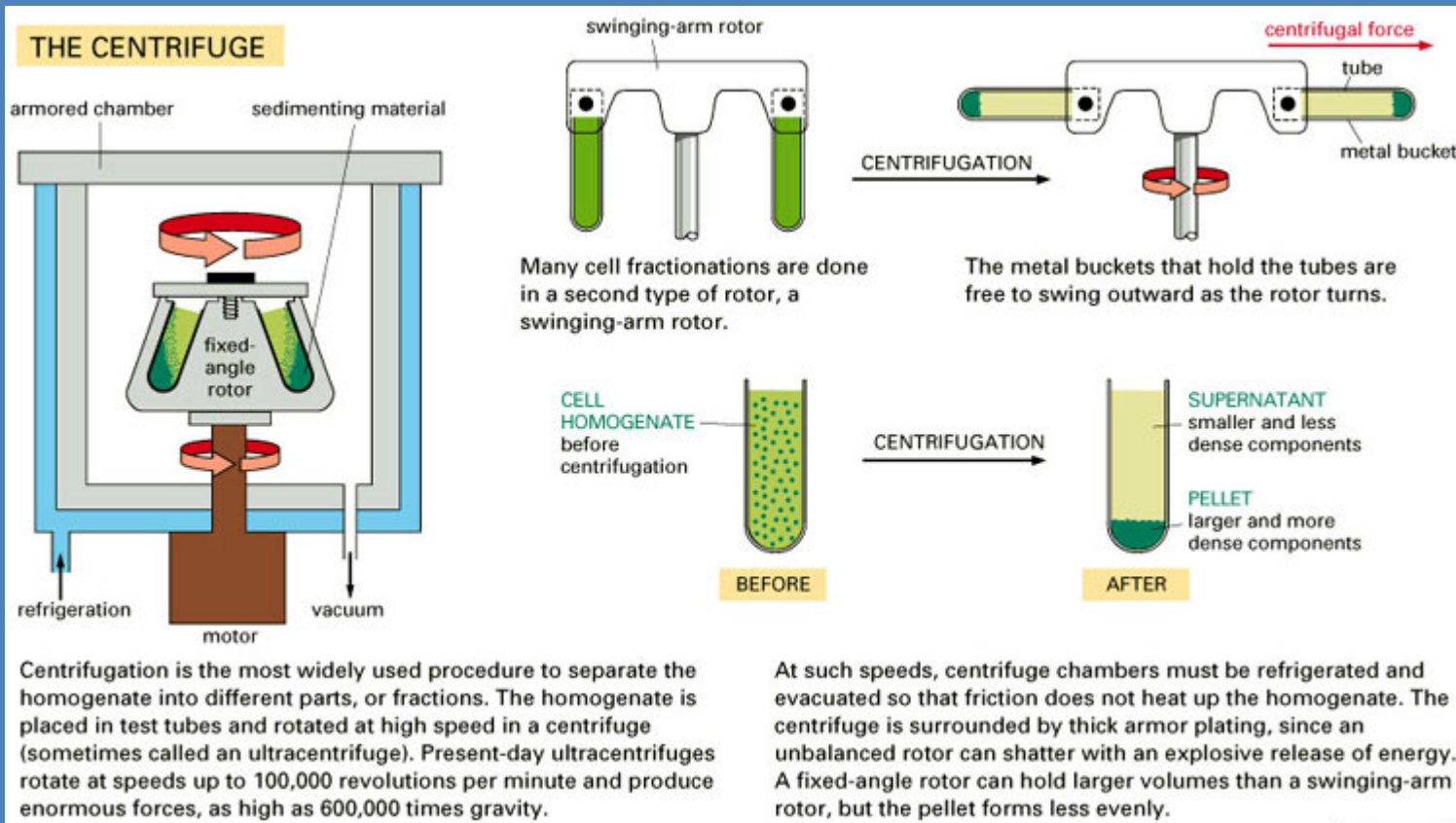
Filtrační vložky CJC řady B a BLA velikosti 15/25 a 27/27 pro CJC OFF-LINE obtokovou filtraci lubrikačních, hydraulických, turbínových, převodových, honovacích a válcovacích olejů

Kontinuální filtrace čírené vody v papírenském průmyslu - Aqua Global s.r.o. (aquaglobal.cz)

Filtrace vzduchu v dílně a doma **uprostřed: nízkoobjemový aktivní vzorkovač** pro odběry vzorků pro měření kvality ovzduší



Centrifugace



Odstředování (centrifugace) je postup, který využívá odstředivé síly pro dělení látek různé hustoty, zrychluje rovněž proces sedimentace těchto částic.

Centrifugace

Otáčky rotoru za minutu (rpm):

Do 10 000 rpm	běžná centrifugace	chlazení
Nad 20 000 rpm	ultracentrifugace	chlazení + vakuum

Relativní centrifugační síla (násobky g):

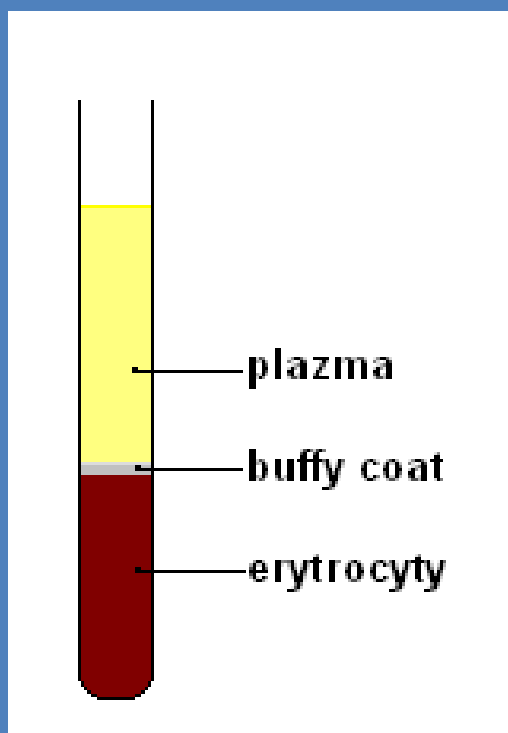
- $R = 1,12 \cdot n^2 \cdot r \cdot 10^{-5}$,
- je-li frekvence otáček uváděna v $[\text{min}^{-1}]$ a vzdálenost r v $[\text{cm}]$,

Rotory: **úhlové** x **výkyvné**

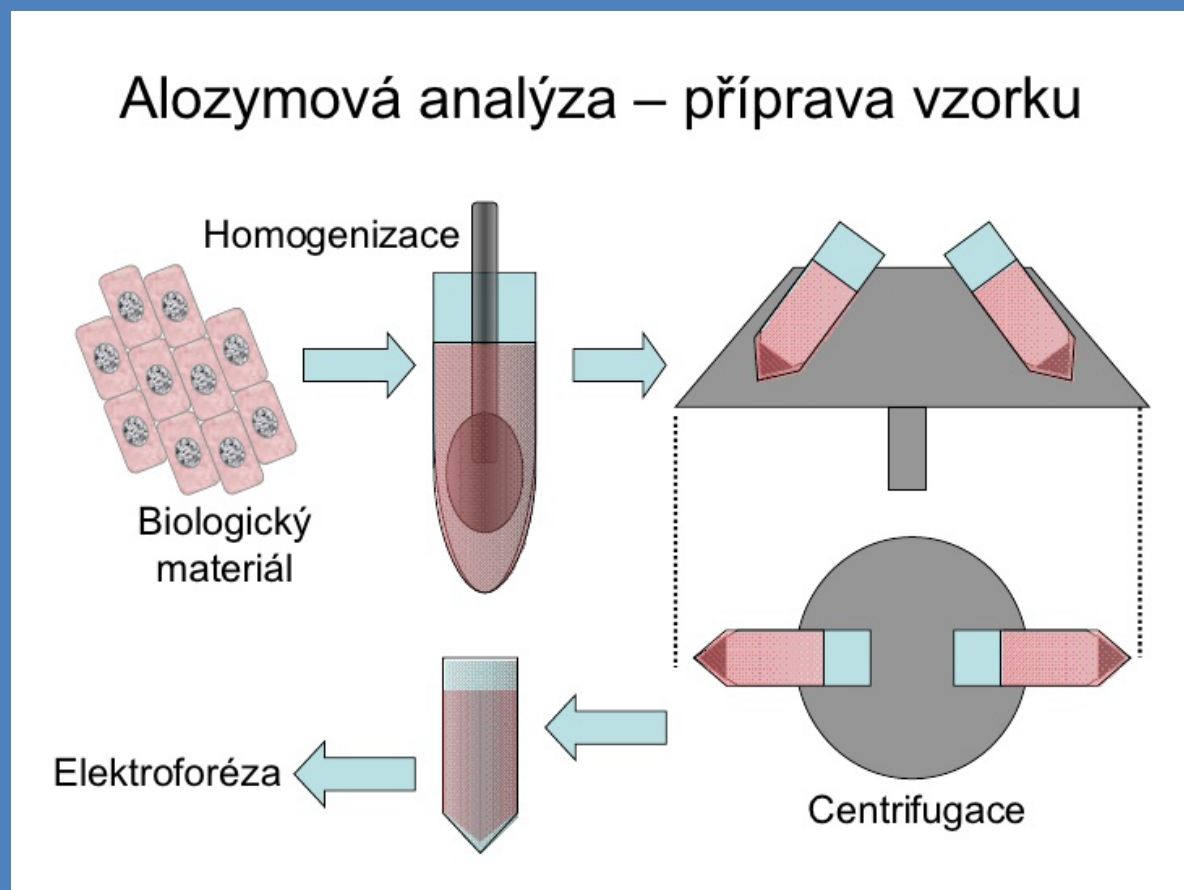
Využití centrifugace

- dělení směsí kapalin,
 - odstranění sraženin,
 - izolaci nebo odstranění buněk a subcelulárních částic,
 - k frakcionaci makromolekul podle hustoty
-
- Při *sedimentaci v hustotním gradientu* (izopyknické sedimentaci) se kyveta naplní kapalinou (koncentrovaný roztok sacharózy nebo CsCl), jejíž hustota roste směrem ke dnu kyvety (u dna kyvety je hustota větší než hustota kterékoliv složky směsi). Na povrch této kapaliny se dávkuje dělená směs složek různé hustoty. Pohyb sedimentujících částic se pak zastaví v místě, v němž má kapalina v kyvetě stejnou hustotu jako sedimentující částice - složky dělené směsi různé hustoty tedy vytvářejí oddělené zóny v různých částech kyvety.

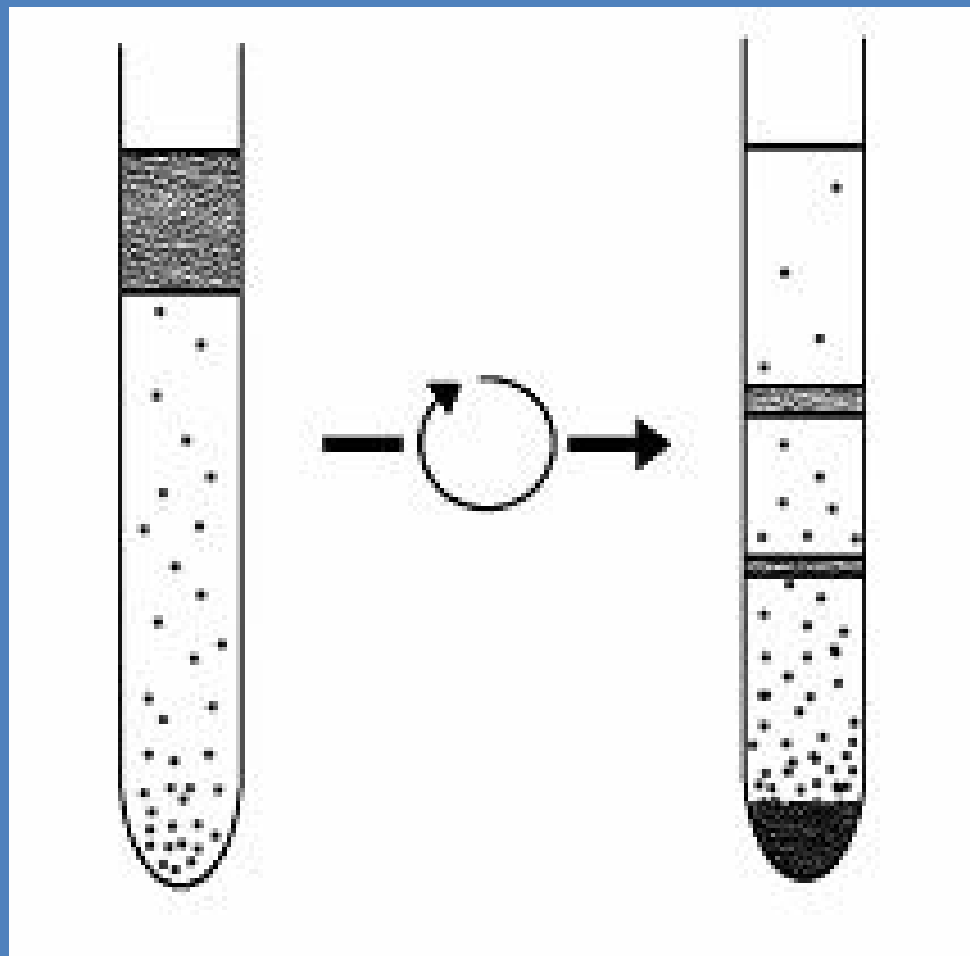
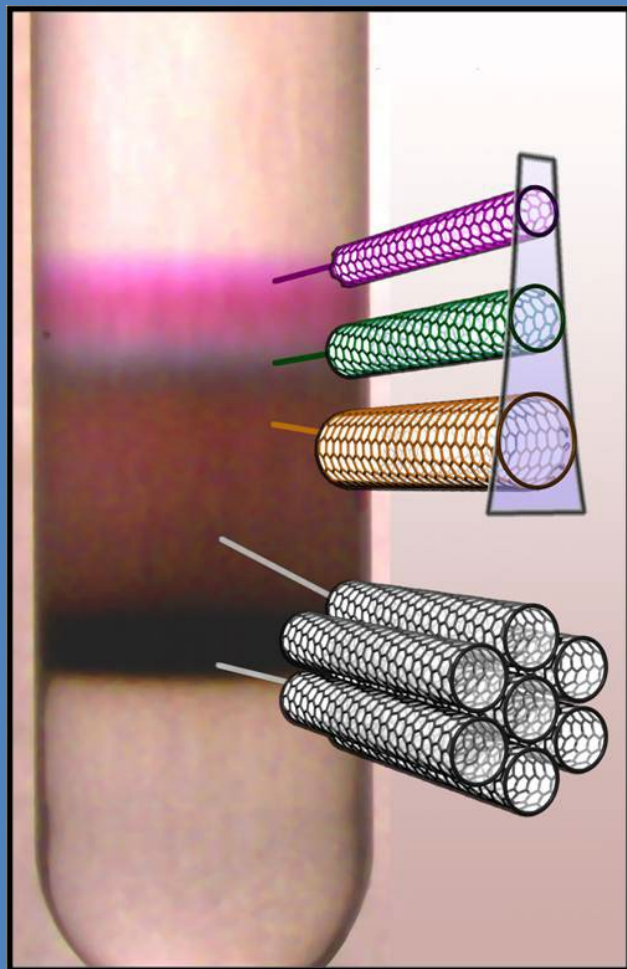
Využití klasické centrifugace



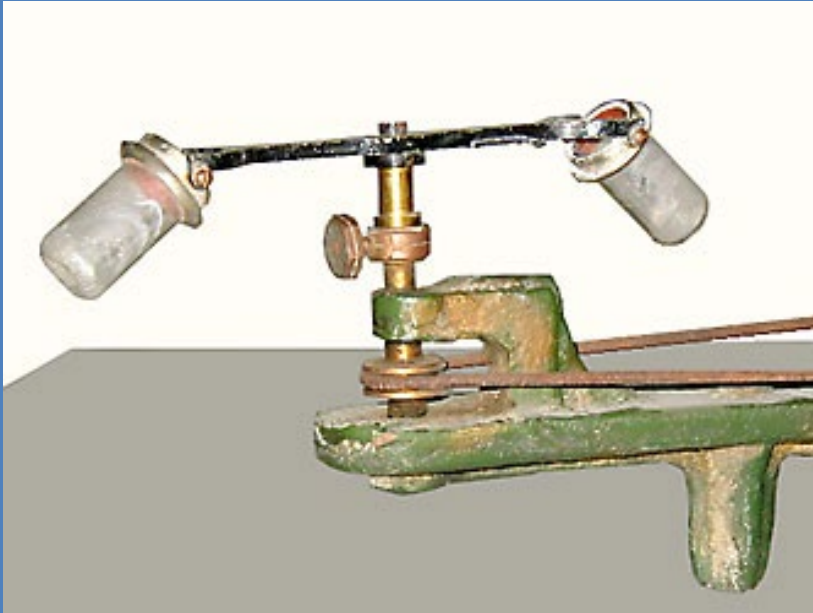
Stanovení hematokritu
(podílu erytrocytů v krvi)



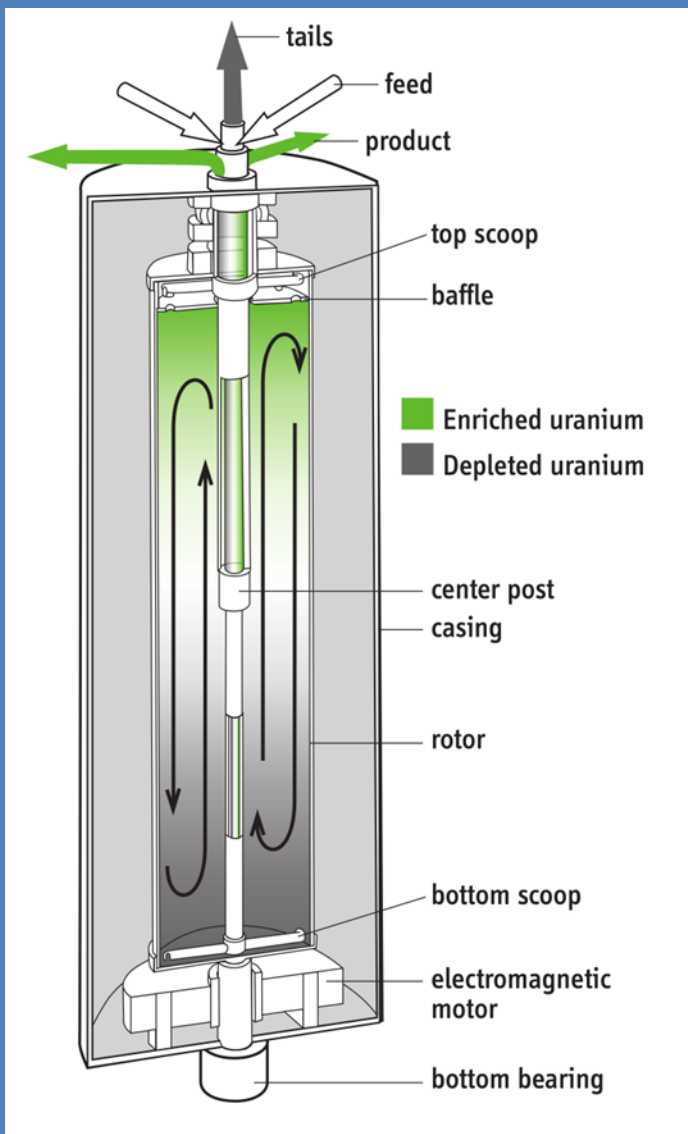
Příklady dělení látek v hustotním gradientu



Centrifugace: rotory **výkyvné** a **úhlové**



Využití centrifugace při obohacování uranu



*Plynová centrifuga na separaci obohaceného plynného hexafluoridu uranu (UF_6) – izotopy uranu 235 vs. 238
(vlevo princip, nahoře reálné obohacovače)*

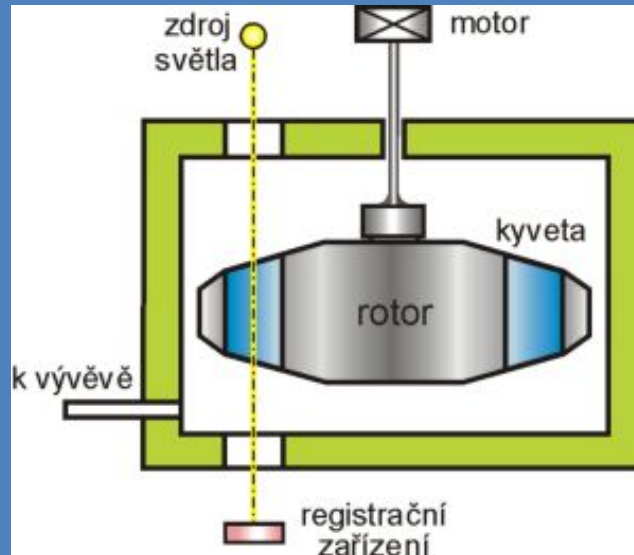
Centrifuga stolní (popř. mikrocentrifuga) a klasická velkoobjemová



Ultracentrifugace

Theodor Svedberg

1926 Nobelova cena za objev ultracentrifugy (tehdy dosahovala 80 000 rpm)



*Svedbergova
sedimentační konstanta
charakterizuje rychlost
sedimentace v
gravitačním poli a je
nepřímo úměrná
hmotnosti částice*

$$1 S \equiv 10^{-13} \text{ sec}$$

Teorie ultracentrifugace

Rychlost sedimentace částice závisí na její hmotnosti. Vlivem gravitačního (centrifugačního) pole se rychlost pohybu částic zvyšuje, dokud nejsou na ně působící síly v rovnováze.

Sedimentační rychlost je definována jako dráha molekuly ve směru odstředivého zrychlení za časovou jednotku:

$$dx/dt = s \cdot w^2 \cdot x$$

kde:

w - úhlová rychlost,

x - vzdálenost od osy otáčení,

s - sedimentační koeficient, který je látkovou **konstantou makromolekuly**, hodnoty sedimentačního koeficientu se často uvádí v jednotkách zvaných Svedberg (**S**), hodnoty jsou tabelovány s korekcí pro teplotu 20 °C a rozpouštědlo, jehož hustota a viskozita odpovídá čisté vodě.

Sedimentační konstanta v praxi

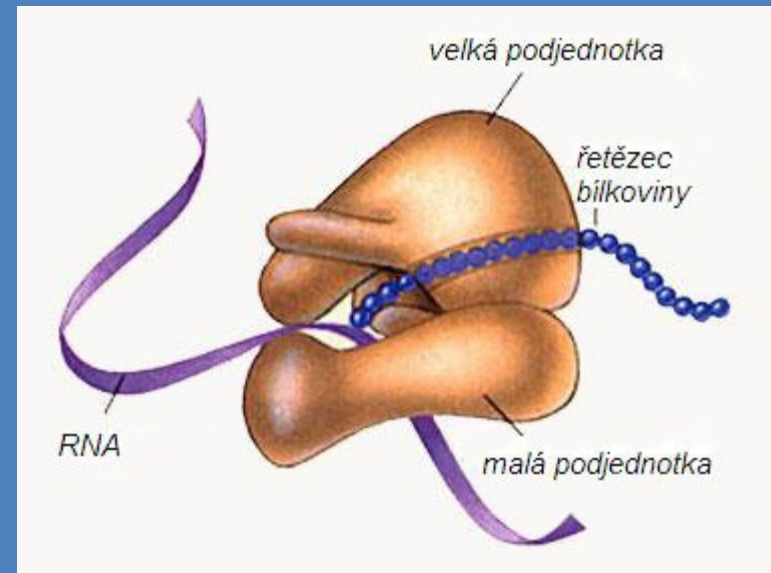
Prokaryotní ribozóm (70 S)
Velká podjednotka (50 S)
Malá podjednotka (30 S)

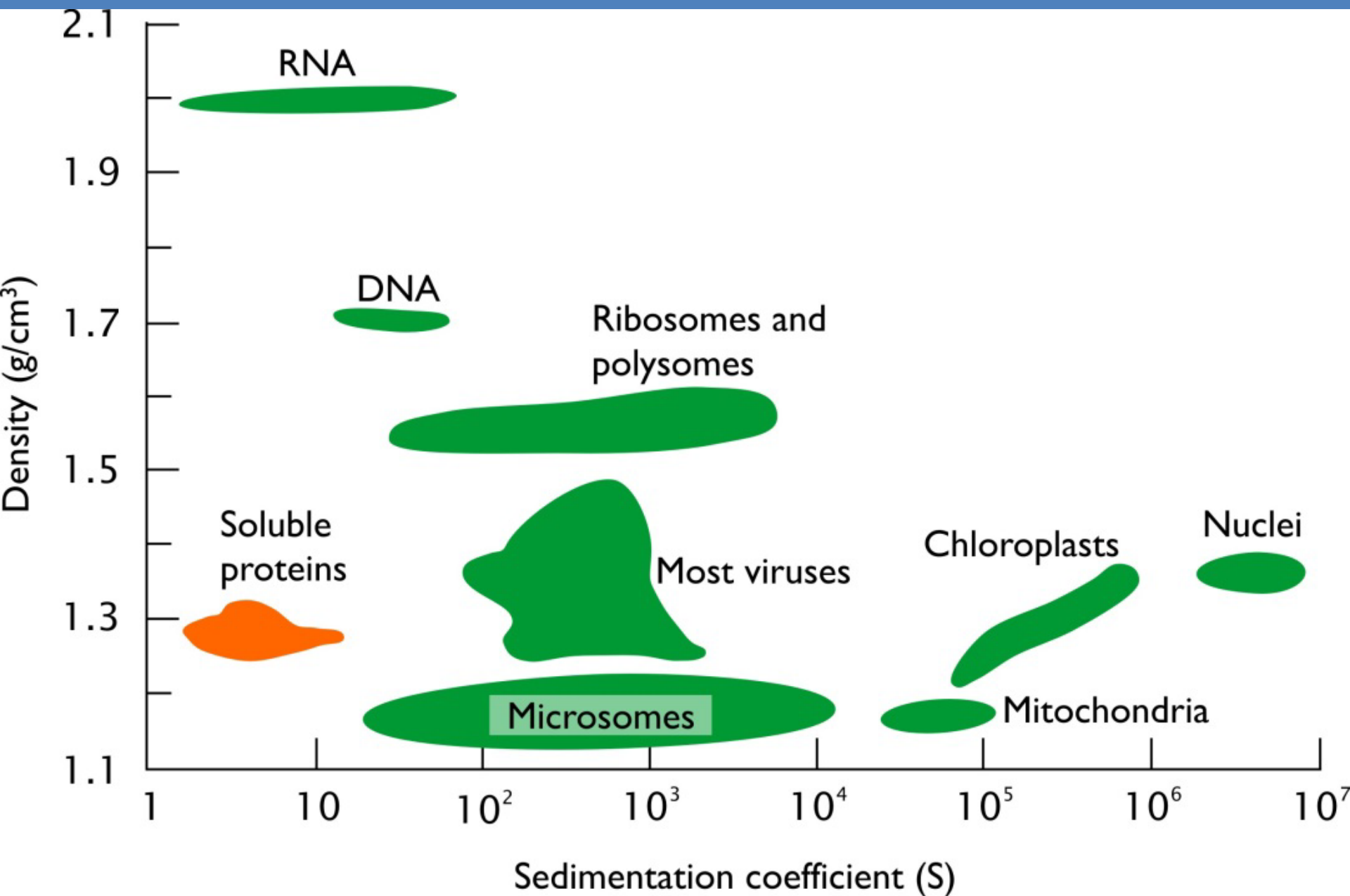
Eukaryotní ribozóm (80 S)
Velká podjednotka (60 S)
Malá podjednotka (40 S)



Theodor Svedberg
(1884 – 1971)

Nobelova cena 1926 za objev ultracentrifugace





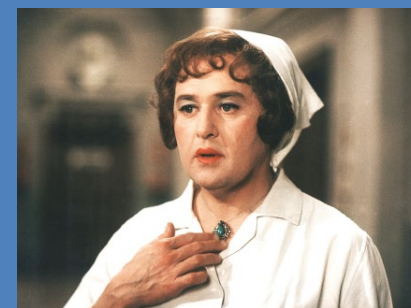




teplotek-ug.ru

TEPLOTEK-UG.RU

ГРУППА КОМПАНИЙ КОМПЛЕКТ-ЮГ



*Ve filmu Šest medvědů
s Cibulkou vyráběl
rozbitá vejce z celých
cvičený op...*

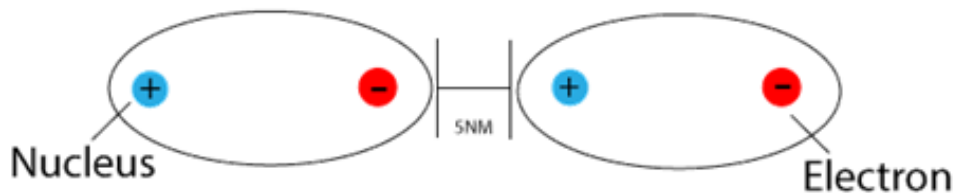
Центрифуга для яиц (п/автомат, автомат = centrifuga **na vejce**)

Rovnováha na fázovém rozhraní: **adsorpce**

Základy teorie adsorpce

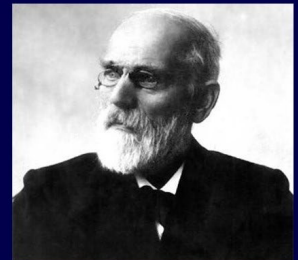
- Při adsorpci molekul dochází k jejich **reverzibilnímu** zachycení v silovém poli na povrchu tuhé fáze (**x chemisorpce** – nevratný proces)
- Při adsorpci probíhají na povrchu tuhé fáze specifické interakce založené na **van der Waalsových silách**
- Energie těchto interakcí je velmi malá, ale rychlost je vysoká
- Většinou se na povrchu adsorbentu vytváří monomolekulární vrstva adsorbátu
- Rozhodující význam pro adsorpci má velikost a kvalita povrchu adsorbentu

van der Waals Forces



JHOANNES VAN DER WAALS

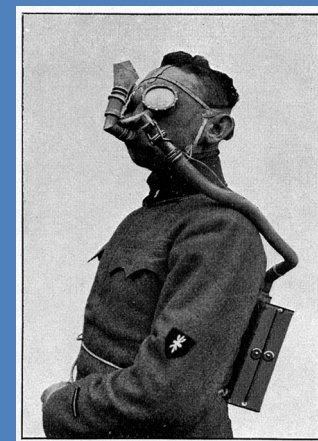
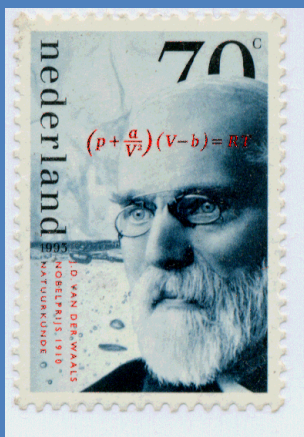
Fue un físico holandés nacido en Leiden (Holanda meridional) el 23 de noviembre de 1837 y fallecido en Ámsterdam el 8 de marzo de 1923. es conocido por la ecuación del estado de los gases reales (**ecuación de Van der Waals**) que permite una mayor aproximación a la realidad física que la ecuación de los **gases ideales**, al tener en cuenta las fuerzas de interacción existentes entre las moléculas; tal aportación le supuso la concesión, en 1910, del Premio Nobel de Física.



Adsorpce/desorpce

Aktivní uhlí: práškové, zrněné, granulované, peletované

Jodové číslo je měřítkem pro účinnost aktivního uhlí. To znamená, že aktivní uhlí s vysokým jodovým číslem, může adsorbovat více znečišťujících látek než jiné s nižším jodovým číslem.



Adsorpční izotermy (Langmuirova, Freundlichova)

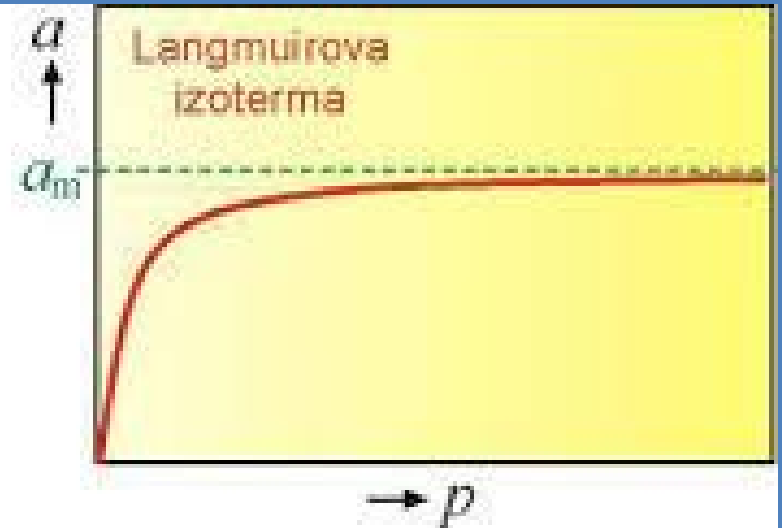
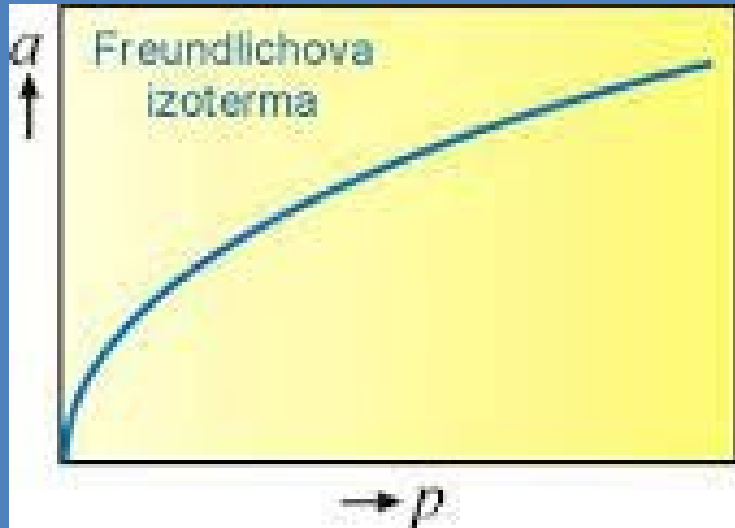
PŘEDPOKLADY (Langmuirova)

- molekuly se na sorbent váží v jedné vrstvě
- jednotlivá adsorpční místa jsou energeticky rovnocenná
- V rovnováze se rychlost adsorpce rovná rychlosti desorpce

PŘEDPOKLADY (Freundlichova)

- Vazebná místa nemusejí být energeticky rovnocenná

Langmuirova adsorpční izoterma



$$c_s = k \cdot z \cdot c_M / (1 + k \cdot c_M)$$

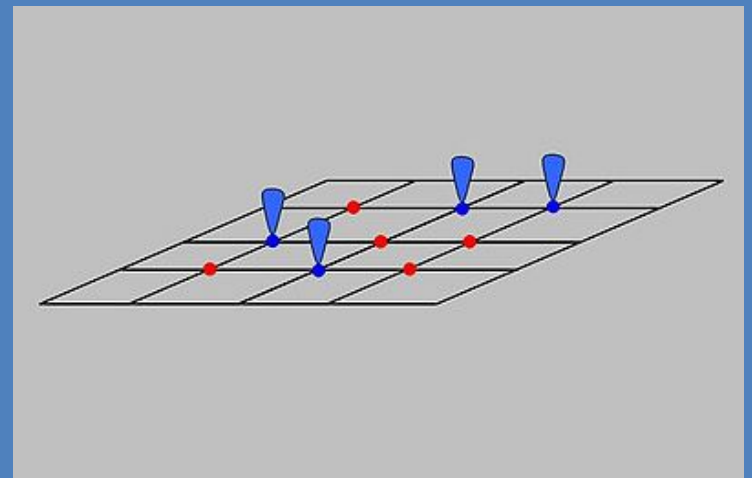
c_s ... adsorbované množství látky

c_M ... koncentrace látky v roztoku

k ... adsorpční koeficient

z ... počet volných aktivních center na povrchu adsorbentu

Teorie: na povrchu jediná vrstva molekul, **volná** adsorpční místa



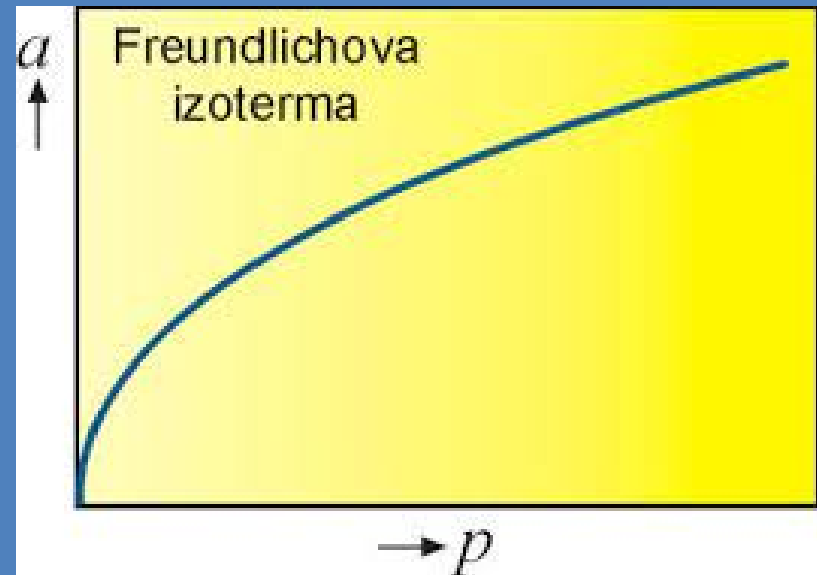
Freundlichova adsorpční izoterma

Závislost množství adsorbované látky na koncentraci téže látky v okolním prostředí vyjadřuje adsorpční izoterma

$$c_s = k \cdot c_M^{1/n}$$

k, n ... konstanty

(28. ledna 1880
v Charlottenburg -
30. března 1941
v Minneapolis)



- Freundlichova izoterma je nejčastěji empiricky získanou závislostí
- Při adsorpci z plynného prostředí lze koncentraci nahradit parciálními tlaky
- Hlavní využití nalézá adsorpce v chromatografických metodách

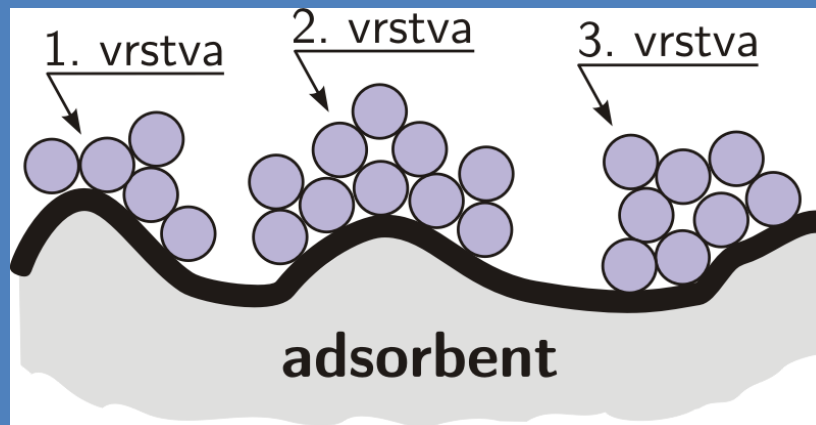
Izoterma „BET“

$$a = a_m \cdot \frac{C \cdot p_{\text{rel}}}{(1 - p_{\text{rel}}) \cdot [1 + (C - 1) \cdot (p_{\text{rel}})]}$$

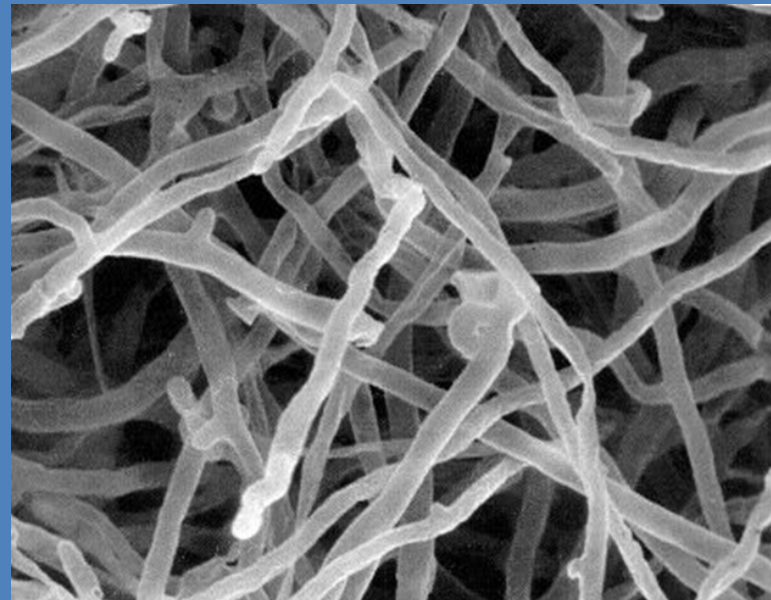
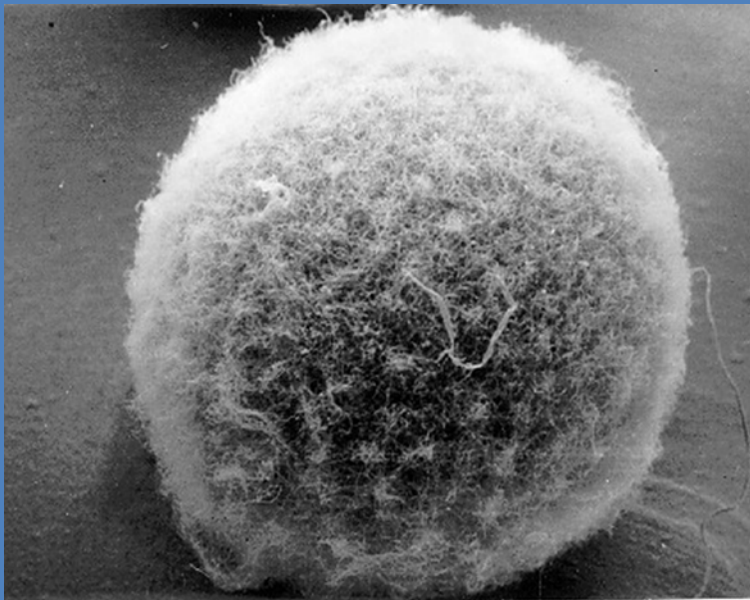
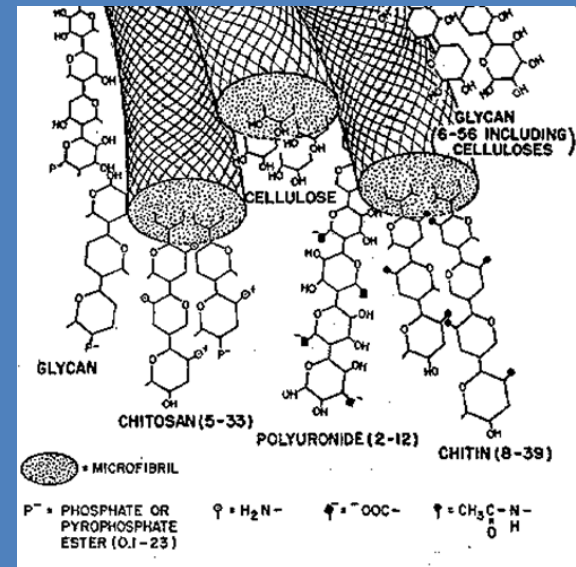
kde a je adsorbované množství, p_{rel} je relativní tlak, tj. p/p^s - poměr rovnovážného tlaku k tenzi nasycené páry [adsorbátu](#) při dané teplotě, a_m je množství plynu naadsorbované na jednotkové hmotnosti [adsorbentu](#) v případě, že by povrch byl pokryt úplnou monomolekulární vrstvou (na rozdíl od Langmuirovy izotermy zde nemá význam maximální mezní hodnoty adsorpce). Konstanta C je dána vztahem $C = \exp\left(-\frac{q_a - q_k}{RT}\right)$ (níže) kde q_a je adsorpční teplo a q_k je kondenzační teplo. Jestliže $C > 1$, proběhne napřed adsorpce v první vrstvě a pak teprve dochází k adsorpci v druhé a dalších vrstvách a izoterma má průběh podle obr. 1a. Jestliže je $C < 1$, nevytváří se monomolekulární film, ale vícevrstvé ostrůvky.

$$C = \exp\left(-\frac{q_a - q_k}{RT}\right)$$

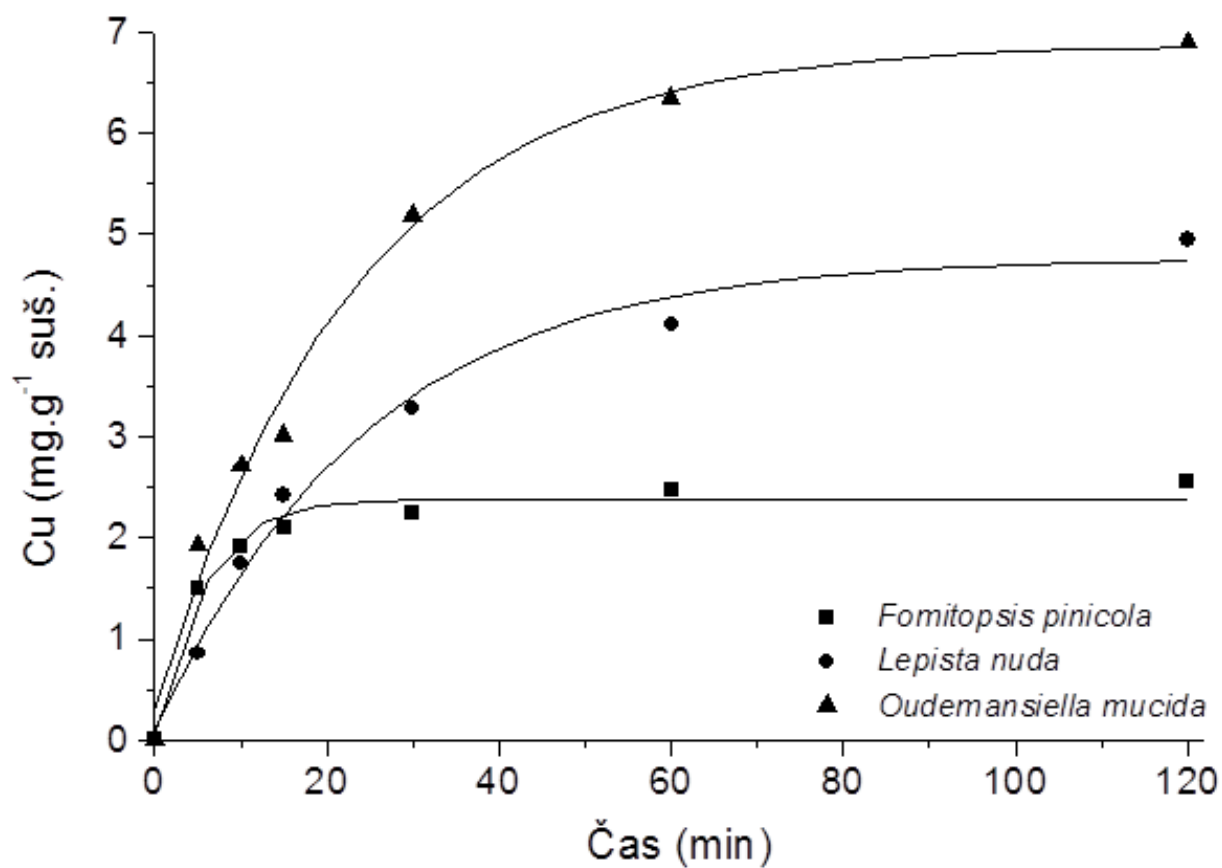
Brunauer, Emmet, Teller

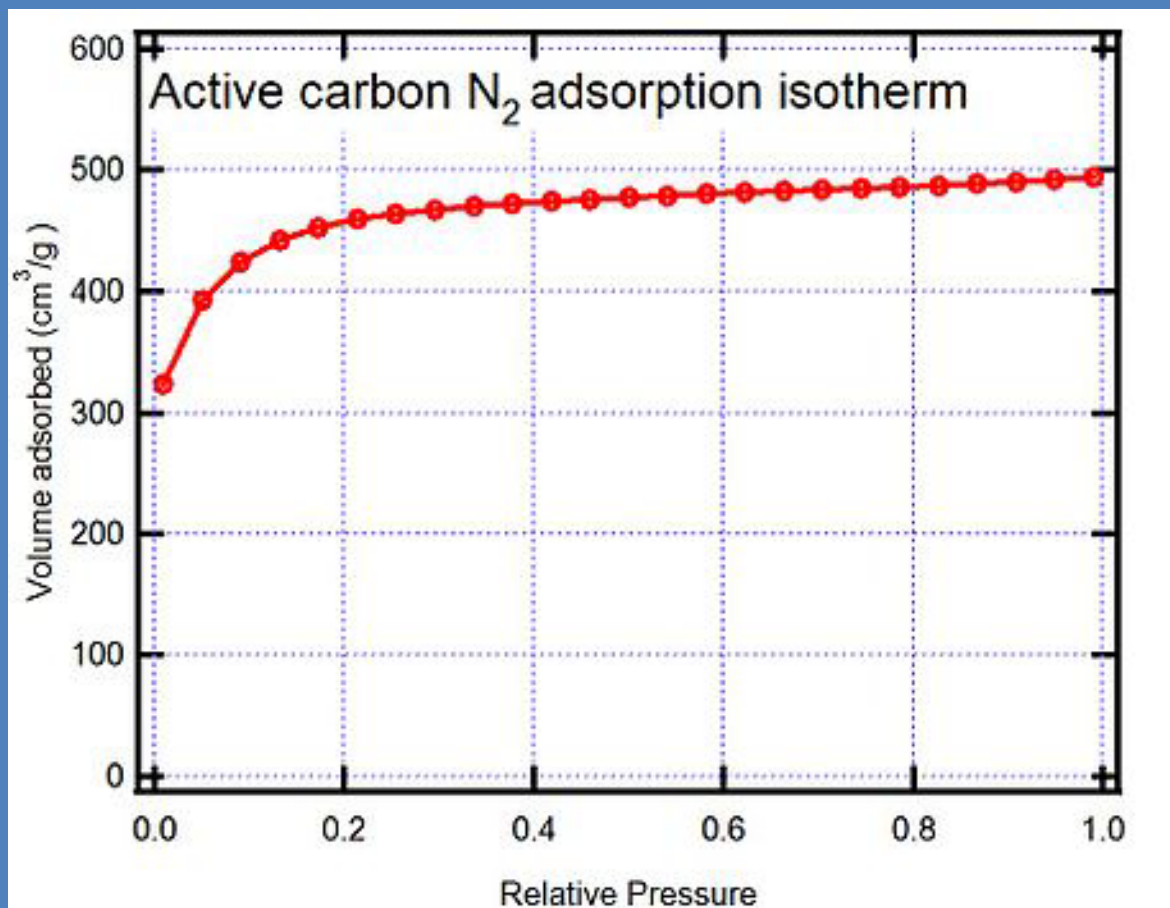


Biosorpce: sorpce na povrch biologického materiálu



Příklad biosorpce: sorpce mědi na pelety hub





Sorpce dusíku na aktivní uhlí jako závislost na relativním tlaku

Applications	powdered Silcarbon		granular Silcarbon				pelletized Silcarbon				impregnated Silcarbon	
	TH90	CW20	K48S	K835	K814	C46	SIL15	SIL40	SC40	SC44	AG03	J42
Air cleaning						●		●	●			
Aquarium water			●				●					
Biogas									●			●
Catalyst support	●									●		
Condensate deoiling			●									
Dechlorination/Deozonezation				●	●							
Decolorizing		●										
Edible oil	●											
Electroplating	●				●		●					
Food industry	●	●										
Glycerin			●									
Pharmaceuticals	●	●										
Potable water	●			●	●		●				●	
Solvent recovery						●			●	●		
Sugar refining		●										
Tobacco filters							●					
Waste Water	●	●		●	●		●					
Water treatment	●			●	●		●					

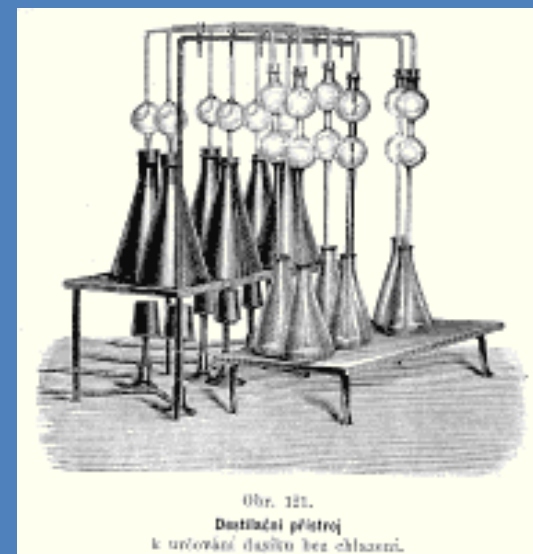
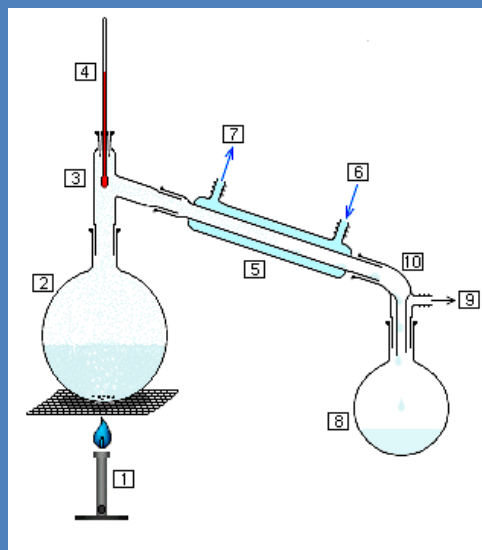
http://www.silcarbon.eu/2014/cms/upload/downloads/PulverForm_Eng.pdf

Destilace

Destilace za sníženého tlaku

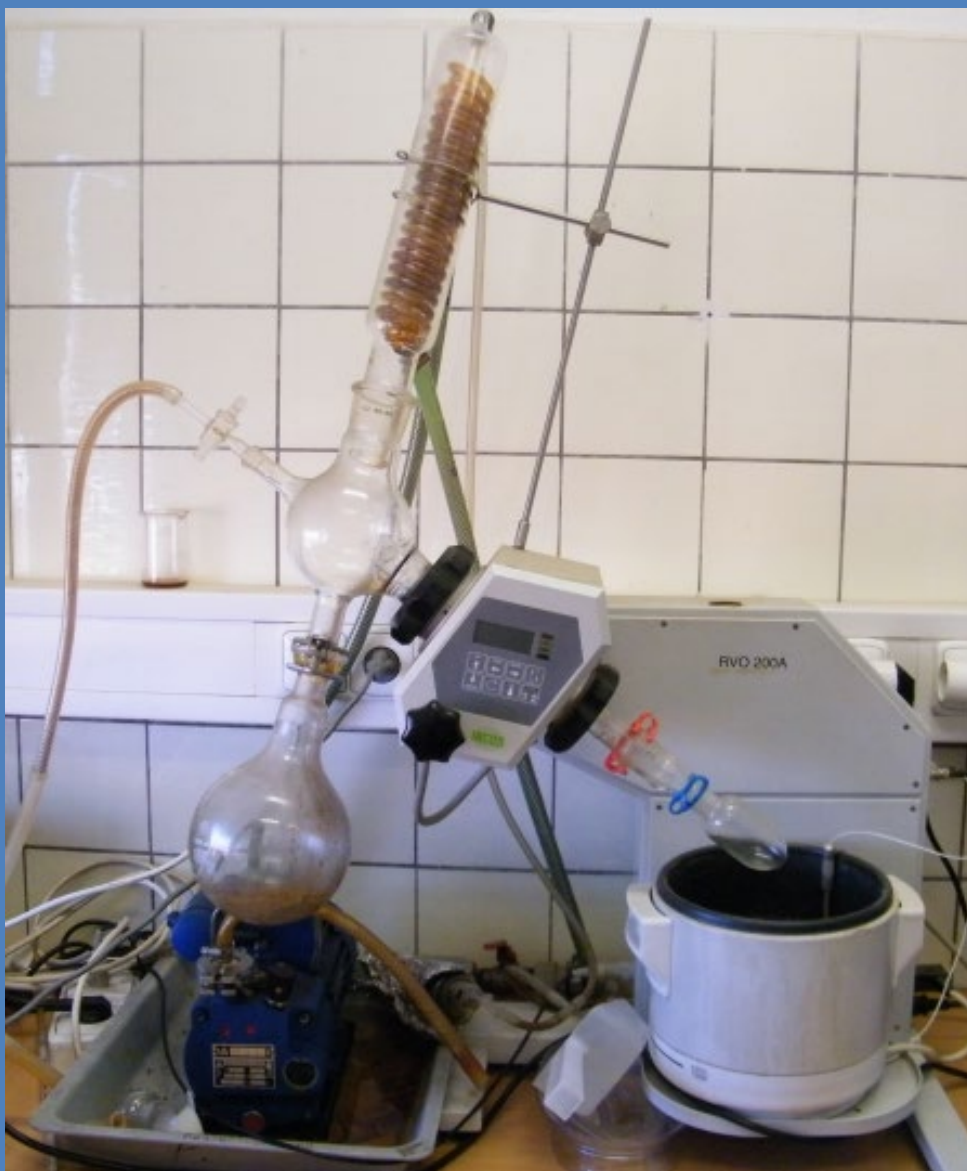
(snížením tlaku nad hladinou destilované látky se sníží teplota varu)

Zpravidla se používá „rotační vakuová odparka“



Obr. 121.
Destilační přístroj
k určování hustoty bez chlazení.

Laboratorní rotační vakuová odparka



Možnost nastavení :

Teploty

Otáček

Vakua

Součásti:

Chladič

Rotující část

Sběrač destilátu

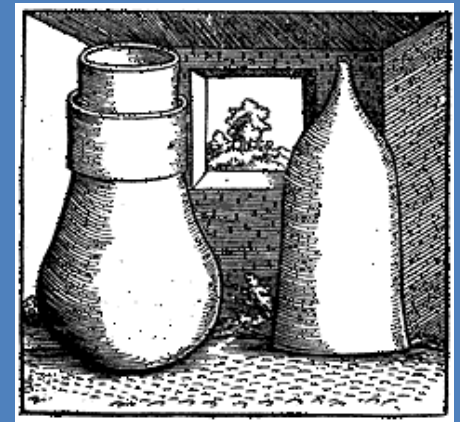
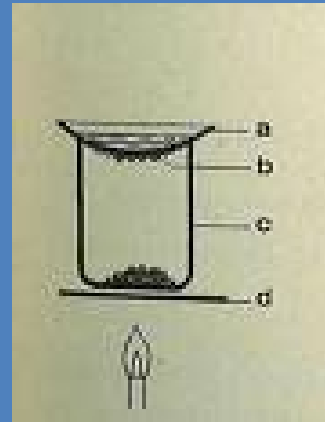
Vodní chlazení

Olejová pumpa

Sublimace

Sublimace

Praktické využití v biologii
je zřídka



Mrázová sublimace
(Lyofilizace)

Praktické využití v biologii je běžné

Extrakce (vytřepávání)

Rozdělovací koeficient

$$P_{ow} = c_o / c_w$$

c_o koncentrace látky v organickém rozpouštědle

c_w koncentrace látky ve vodě

V biologii (toxikologii) je důležitý rozdělovací koeficient mezi *n*-oktanol a vodu (často se uvádí ve formě „log P_{ow} “)

Příklady rozdělovacích koeficientů oktanol/voda

Látka	$\log P_{ow}$	Látka	$\log P_{ow}$
Di-n-octyl phtalate	9,2	Acetic acid	-0,30
DDT	5,7	Acetonitrile	-0,34
Fluoranthene	5,5	Pyridoxine	-0,50
Diclofenac	4,4	Riboflavine	-1,21
Ipubrofen	3,5	Salicylic acid	-1,22
Cocaine	3,01	Tetracycline	-1,3
Benzene	2,1	Leucine	-1,55
Penicillin V	2,09	Amoxycillin	-1,77
Atropine	1,89	Ascorbic acid	-2,15
Benzocaine	1,89	Glucose	-3,3
Vanilin	1,19		
Doxorubicin	0,65		
Fluconazole	0,50		
Caffeine	0,07		

Hodnoty P_{ow} poskytují dobrý odhad toho, jak
je látka distribuována v buňce mezi lipofilní
biomembránou a vodným cytosolem.

Základní rozdělení extrakce (převod látky z pevné či kapalné matrice do roztoku):

Pevná látka – kapalina

Macerace – výluh za studena v klidu

Digesce – výluh horkým rozpouštědlem v klidu

Perkolace – výluh v protiproudčním uspořádání

Kontinuální extrakce – viz soxhlet

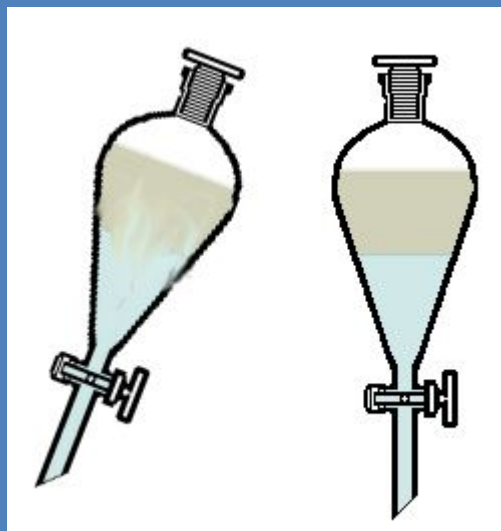
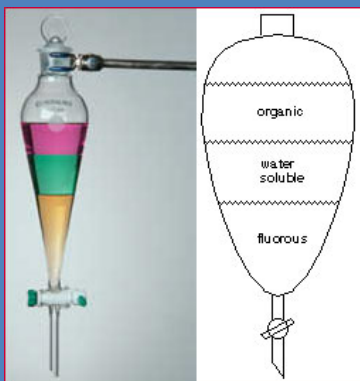
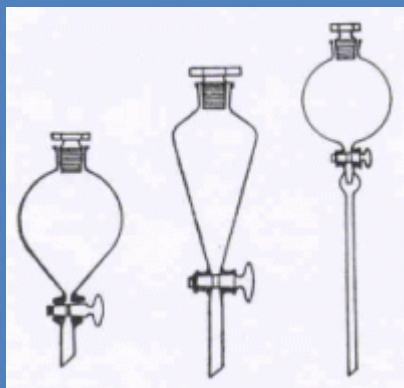
Kapalina – kapalina

Vytřepávání – extrakce v dělicích nálevkách

Perforace – kontinuální extrakce kapalin

Extrakce (vytřepávání)

Prakticky se provádí v dělicích nálevkách

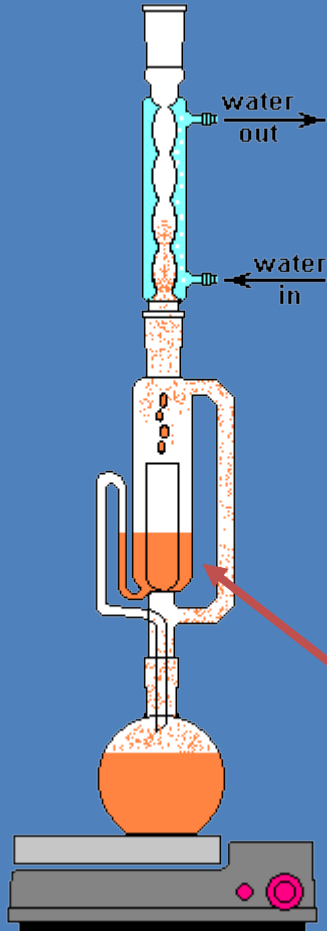


Pravidlo: „podobné rozpouští podobné“

Rozpouštědla se navzájem nemísí (nerozpouští)

Polarita (relativní permitivita ϵ_r)

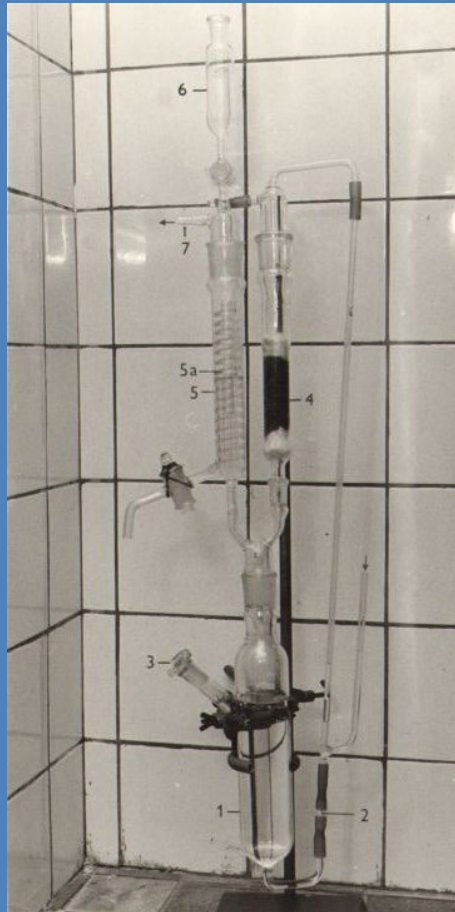
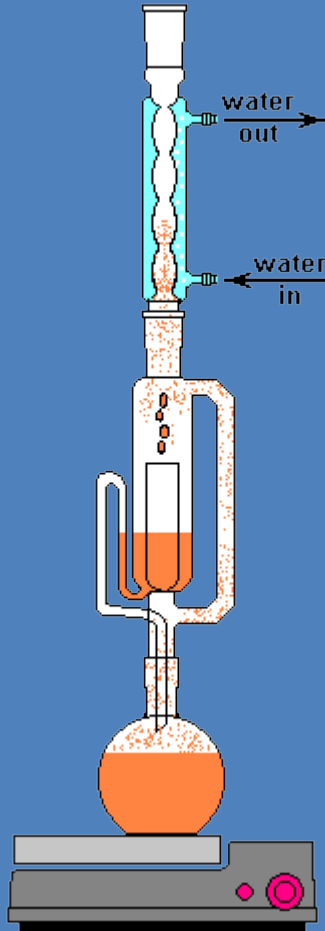
Soxhletův extraktor a kontinuální kultivace mikroorganismů



Rozpouštědlo ve spodní baňce se zahříváním odpařuje a kondenzuje uvnitř chladiče. Odtud kape na **extrakční patronu** a postupně zaplňuje soxhlet. Po dosažení hladiny přepadu rozpouštědlo odteče do spodní baňky a soxhlet se plní znovu. Všechny tyto věci probíhají samy, stačí jednoduše počkat dost dlouho a pak rovnou sebrat hotový extrakt, z kterého dále izolujeme požadované látky.

Extrakční patrona, plněná pevným materiálem

Soxhletův extraktor a kontinuální kultivace mikroorganismů



Perkolace:

chemicky vyluhování látek, zvláště rostlinných, za studena

Fig. 1 Cultivation unit of a percolation apparatus. The apparatus contains:
1 reservoir with percolation solution 2 capillary tube 3 outlet for sampling of the percolation solution 4 soil sample 5 adsorption column with NaOH solution and (5a) glass spiral tube ensuring CO₂ retention 6 vessel for dosing NaOH and 7 vacuum pump outlet

Soxhletův extraktor a kontinuální kultivace mikroorganismů

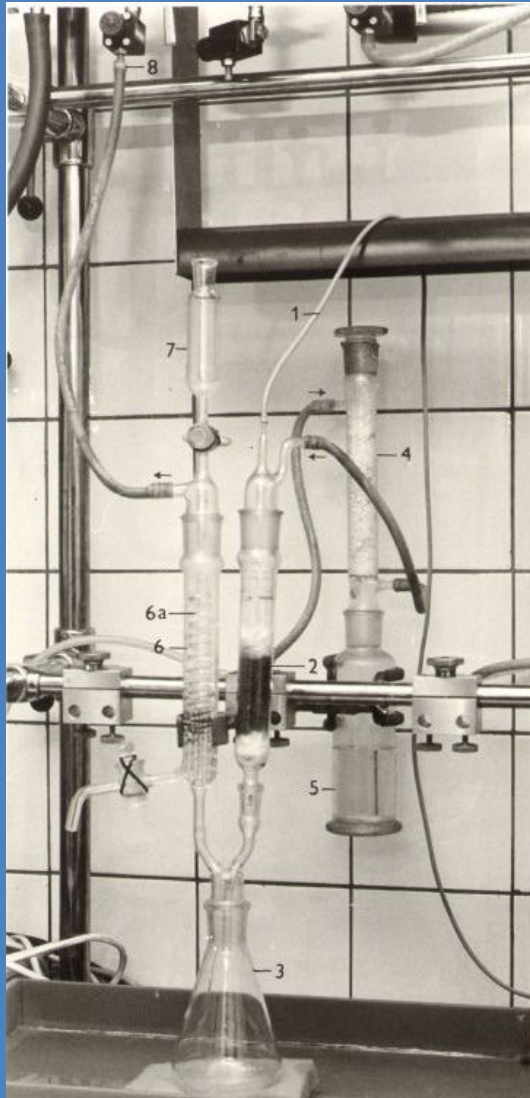


Fig. 2 Heterocontinuous cultivation. The apparatus contains:

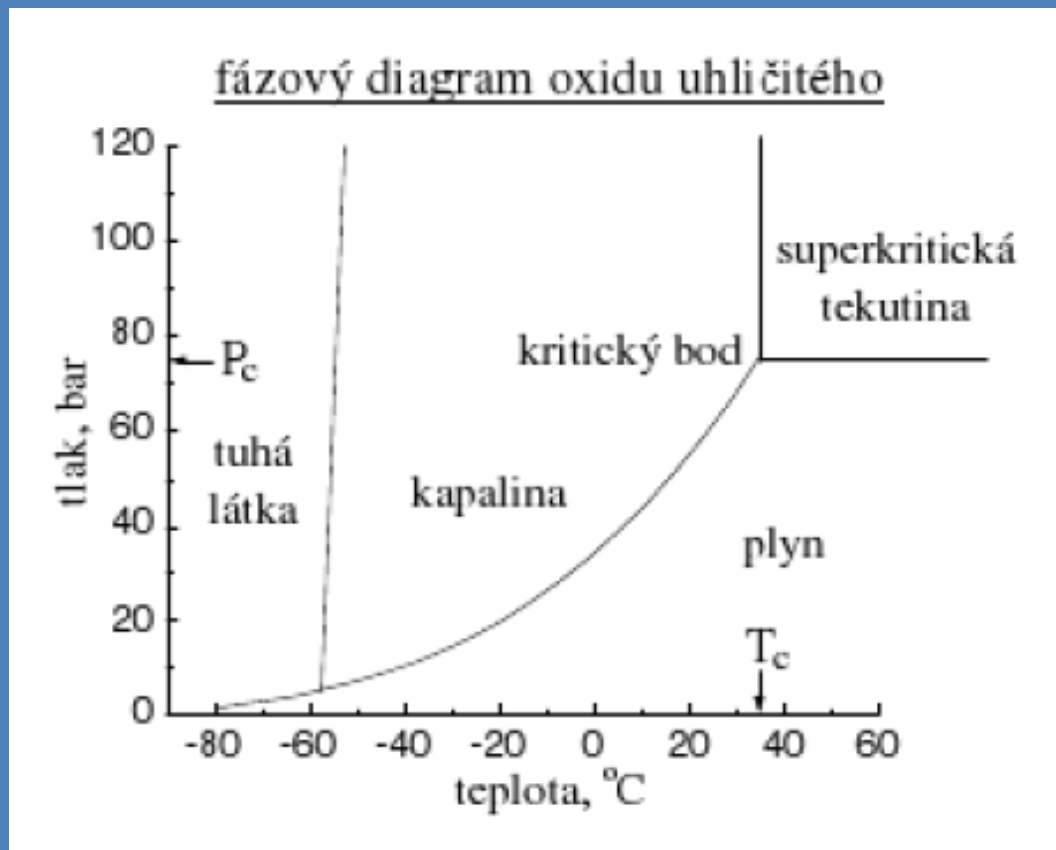
1 inlet for sterile substrate solution 2 soil sample 3 vessel for eluate collection 4 column with caustic soda 5 bubble-through vessel with NaOH solution 6 adsorption column with NaOH solution and (6a) glass spiral tube ensuring CO₂ retention 7 vessel for dosing NaOH and 8 vacuum pump outlet

SFE – superkritická fluidní extrakce

Superkritická extrakce je založena na rozpustnosti dané složky v rozpouštědlu v superkritickém stavu. Tekutina v **superkritickém stavu** (Supercritical Fluid - SCF) je velmi mobilní - schopnost rozpouštění se přibližuje **kapalným** rozpouštědlům, zatímco penetrace do pevné matrice je usnadněna transportními vlastnostmi blížícími se **plynu**.

Nejčastěji se k SFE používá k extrakci **oxid uhličitý** (CO_2)

SFE – superkritická fluidní extrakce



pozn. trojný bod CO₂ leží u tlaku 5,2 atm a teploty – 57 °C. Za tlaku 1 atm přechází CO₂ přímo z pevného skupenství do plynného (sublimuje), za atmosférického tlaku tedy oxid uhličitý neexistuje v kapalném skupenství

SFE – superkritická fluidní extrakce



kritická teplota $T_c = 35\text{ }^{\circ}\text{C}$, kritický tlak $p_c = 75\text{ bar}$

Instrumentálně snadno dosažitelné

Netoxický, nehořlavý, snadno se čistí

Nepolární – v případě extrakce polárních látek nutno přidávat aditiva

SFE – superkritická fluidní extrakce

příklady použití v potravinářství:

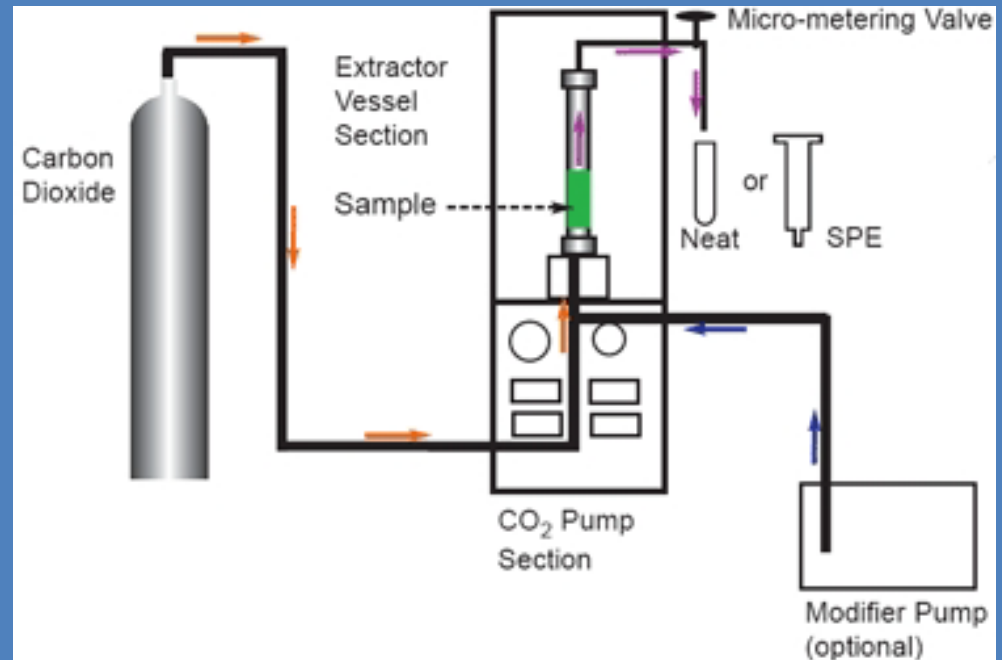
extrakce esenciálních olejů,
odstraňování tuků z ořechů,
odstraňuje

se i tuk z bramborových lupínků,
díky použití oxidu uhličitého se
obsah tuku sníží o polovinu bez
ztráty chuti

extrakce kofeinu

ostatní

extrakce pesticidů a insekticidů,
terpenů, alkaloidů, lipidů



Chromatografie

Podstatou je rozdělování složek **směsi** dávkovaného vzorku mezi dvěma fázemi

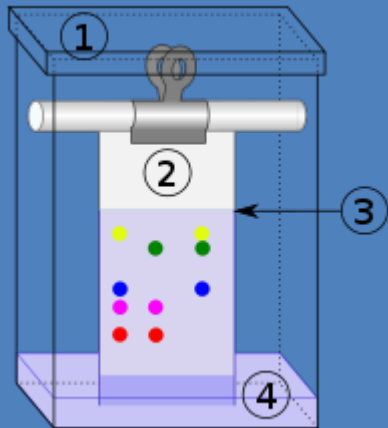
Stacionární fáze je nepohyblivá (papír, silikagel, modifikovaná celulóza, polymerní částice)

Mobilní fáze je pohyblivá (**kapalina** – voda, pufr, organická rozpouštědla, **plyn**)

Různé složky vzorku se **více či méně ochotně** poutají ke stacionární fázi

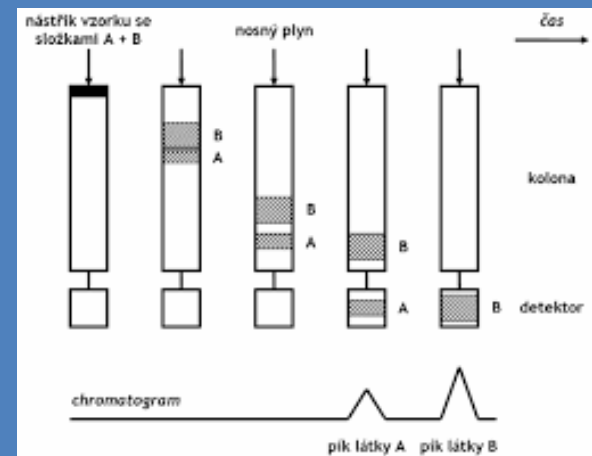
Složky, které se poutají více, se pohybují pomaleji, složky, které se poutají méně, se pohybují rychleji

Historická metoda, avšak v současné době je dovedena téměř k dokonalosti



Planární uspořádání (TLC, PC)

Kolonové uspořádání (LC, GC)
(HPLC a další)



Tento materiál je určen pouze pro výuku studentů.

This presentation has been scheduled for educational purposes only.

Pokud má někdo dojem, že použité obrázky (jiné než moje vlastní) jsou kryty copyrightem, necht' mi dá vědět.

If somebody believes, that pictures or figures in this presentation are covered by copyright, please let me know.

Jiří Gabriel (gabriel@biomed.cas.cz)