



Uniwersytet Wrocławski

Wydział Chemii

Chemia Produktów Naturalnych

Metody laboratoryjne. Specjalizacja: chemia biologiczna

rok akademicki 2007/2008

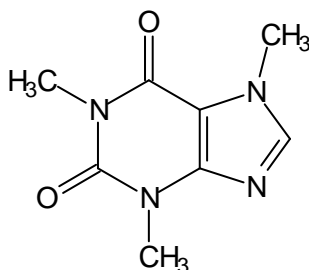
1 Spis treści

1	Spis treści.....	ii
2	Izolowanie substancji z produktów naturalnych i identyfikacja produktu metodami organicznej analizy jakościowej	3
2.1	Izolacja kofeiny z liści herbaty; metoda 1	3
2.2	Izolacja kofeiny z liści herbaty; metoda 2	5
2.3	Izolacja kofeiny z liści herbaty w skali pół-mikro; metoda 3.....	7
2.4	Izolacja kofeiny z palonych nasion kawy	9
2.5	Izolacja kofeiny z kawy lub herbaty za pomocą ekstrakcji ciągłej	11
2.6	Uwagi do ekstrakcji kofeiny z produktów naturalnych.....	13
2.7	Identyfikacja kofeiny za pomocą przeprowadzenia jej w pochodną krystaliczną – salicylan kofeiny	14
2.8	Izolacja piperyny z pieprzu czarnego	15
2.9	Izolacja eugenolu i acetyloeugenolu z goździków przyprawowych metodą destylacji z parą wodną.....	17
2.10	Izolacja aldehydu cynamonowego z cynamonu metodą destylacji z parą wodną.....	20
2.11	Izolacja cholesterolu z żółtka jaja kurzego	22
2.12	Izolacja nikotyny z liści tytoniu w postaci jej soli z kwasem pikrynowym	24
2.13	Izolacja limonenu	26
2.14	Wydzielanie teobrominy z kakao	27
2.15	Wydzielanie karotenoidów z pasty pomidorowej	29
2.16	Wydzielanie trimirystyny z gałki muszkatołowej	31
2.17	Wydzielanie taksyn z igieł cisu pospolitego.....	32

2 Izolowanie substancji z produktów naturalnych i identyfikacja produktu metodami organicznej analizy jakościowej

2.1 Izolacja kofeiny z liści herbaty; metoda 1

[1-3]



Kofeina

Materiały:

- czarna herbata – 50 g
- węglan wapnia – 25 g
- chlorek metylenu – 180 ml
- toluen – 25 ml
- eter naftowy 40-60°C – 45 ml
- siarczan magnezu

Do zlewki Erlenmeyera o pojemności 750 - 1000 ml wsypujemy 50 g drobno zmielonej czarnej herbaty a następnie wlewamy 500 ml wody. Wprowadzamy 25 g sproszkowanego węglanu wapnia i całość ogrzewamy do wrzenia na płaszczu grzejnym. Zawiesinę utrzymujemy w stanie łagodnego wrzenia, sporadycznie mieszając, przez około 20 minut.

Następnie wodny roztwór kofeiny odsączamy na gorąco, pod zmniejszonym ciśnieniem przez lejek Büchnera, na którym umieszczamy kolejno sącdek z bibuły twardej i średniej przysypane około 0.5 - 1 cm warstwą celitu lub żelu krzemionkowego Kieselgel 40. Po przesączeniu całości roztworu pozostały na lejku osad przemywamy dwukrotnie około 50 ml porcjami wrzącej wody.

Po ostygnięciu przesącza wodnego, do temperatury pokojowej, przenosimy go do rozdzielacza o pojemności 1000 ml i ekstrahujemy czterokrotnie 30 ml porcjami chlorku metylenu. Należy uważać przy tym, by nie wstrząsać rozdzielaczem zbyt gwałtownie, co może doprowadzić do powstania trudno rozdzielającej się emulsji.

Połączone ekstrakt chlorku metylenu suszymy bezwodnym siarczanem magnezu do uzyskania klarownej warstwy organicznej. Odsączamy następnie przez sączek karbowany (zwilżonym uprzednio chlorkiem metylenu) do kolbki okrągłodennej o pojemności 250 ml. Siarczan magnezu przemywamy około 20 ml chlorku metylenu, który dołączamy do ekstraktów. Całość zatężamy na wyparce rotacyjnej, zaopatrzonej w pompkę wodną, do około 10 – 15 ml, a następnie przenosimy do kolbki o pojemności 100 ml, płucząc poprzednie naczynie trzykrotnie 10 ml porcjami chlorku metylenu. Z tak uzyskanego roztworu usuwamy całkowicie chlorek metylenu na wyparce rotacyjnej.

Suchą pozostałość rozpuszcza się na gorąco (pod chłodnicą zwrotną) w około 17 – 20 ml wrzącego toluenu. Następnie przez chłodnicę wlewamy ostrożnie 25 – 30 ml eteru naftowego (frakcja 40-60°C) i pozostawiamy do ostygnięcia. Zimny roztwór wstawiamy do lodówki. Wydzielone kryształy odsączmy pod zmniejszonym ciśnieniem na małym lejku Büchnera (lub lejku ze spiekem G3-G4) i przemywamy zimnym eterem naftowym. Suszymy na powietrzu. Można zamiast toluenu użyć acetonu (jak najmniejszą ilość).

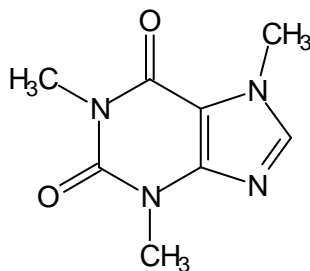
Alternatywna metoda krystalizacji polega na rozpuszczeniu kofeiny we wrzącym 2-propanolu i wytrąceniu jej, po ostygnięciu roztworu do temperatury pokojowej, analogiczną, jak użytego 2-propanolu, ilością heksanu. Odsączone kryształy przemywamy na lejku mieszaniną 1:1 heksan-eter etylowy. Mierzmy temperaturę topnienia i liczymy wydajność procesu. Literaturowa temperatura topnienia kofeiny wynosi: 236.0-237.5°C [4], 232-236°C (>99%) [5].

Literatura:

1. C. F. Wilcox, Jr., *Experimental Organic Chemistry, A small-Scale Approach*, Macmillan Publishing Company, New York 1989.
2. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, *Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach*, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988.
3. T. Onami, H. Kanazawa, A Simple Method for Isolation of Caffeine from Black Tea Leaves, *Journal of Chemical Education*, 1996, **73** (6), 556-557.
4. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, Eds., *The Merck Index*, 11th ed., Merck Raway, NJ 1989, p.248.
5. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.270.

2.2 Izolacja kofeiny z liści herbaty; metoda 2

[1-3]



Kofeina

Materiały:

- czarna herbata – 25 g
- 0.2 M NaOH – 60 ml
- chlorek metylenu – 300 ml
- 2-propanol – 10 ml
- heksan – 21 ml
- eter etylowy – 11 ml
- siarczan magnezu

Do zlewki Erlenmeyera ze szlifem o pojemności 500 ml wsypujemy 25 g zmielonej czarnej herbaty a następnie wlewamy 190 ml chlorku metylenu i powoli 60 ml 0.2 M NaOH. Erlenmeyerkę zamykamy korkiem i mieszamy w rękach (około 200 rpm) przez 10 minut. **UWAGA:** NIE WOLNO WYTRZĄSAĆ, GDYŻ DOPROWADZI TO DO POWSTANIA TRUDNO ROZDZIELAJĄCEJ SIĘ EMULSJI.

Uzyskaną zawiesinę sącymy pod zmniejszonym ciśnieniem przez lejek Büchnera, na którym umieszczamy kolejno sącdek z bibuły twardej i średniej przysypane około 0.5 - 1 cm warstwą celitu lub żelu krzemionkowego Kieselgel 40. Po przesączeniu całości roztworu pozostały na lejku osad przemywamy dwukrotnie około 25 ml porcjami chlorku metylenu. Uzyskany przesącz przenosimy ostrożnie do rozdzielacza o pojemności 500 ml płuczając jednokrotnie pustą kolbę Erlenmeyera 10 ml chlorku metylenu i oddzielamy warstwę wodną od organicznej. Warstwę organiczną przenosimy do zlewki Erlenmeyera ze szlifem o pojemności 500 ml i suszymy bezwodnym siarczanem magnezu. do uzyskania klarownej warstwy organicznej. Odsączamy następnie przez sącdek karbowany (zwilżonym uprzednio chlorkiem metylenu) do kolbki okrągłodennej o pojemności 500 ml. Siarczan magnezu przemywamy około 20 ml chlorku metylenu, który dołączamy do ekstraktów. Całość zatężamy na wyparce rotacyjnej, zaopatrzonej w pompkę wodną, do około 10 ml, a następnie przenosimy do kolbki o pojemności 50 ml, płuczając poprzednie

naczynie 10 ml porcją chlorku metylenu. Z tak uzyskanego roztworu usuwamy całkowicie chlorek metylenu na wyparce rotacyjnej, a następnie płuczemy jeszcze dwukrotnie kolbę o pojemności 500 ml 10 ml porcjami chlorku metylenu, które wlewamy do kolbki o pojemności 50 ml. Z całości ponownie usuwamy chlorek metylenu na wyparce rotacyjnej. Po ochłodzeniu kolby osad przemywamy dwukrotnie 6 ml porcjami mieszaniny 1:1 heksan-eter etylowy. Roztwór po przemyciu usuwamy za pomocą pipety Pasteura.

Suchą pozostałość rozpuszcza się na gorąco (pod chłodnicą zwrotną) w około 10 ml wrzącego 2-propanolu. Po całkowitym rozpuszczeniu roztwór pozostawiamy do ostygnięcia. Do ochłodzonego do temperatury pokojowej roztworu wlewamy taką samą porcję jak użytego 2-propanolu heksanu, celem strącenia kryształów kofeiny. Po 10 – 15 minutach wydzielone kryształy odsączmy pod zmniejszonym ciśnieniem na małym lejku Büchnera (lub lejku ze spiekim G3-G4) i przemywamy około 10 ml mieszaniny heksan-eter etylowy 1:1. Suszymy na powietrzu.

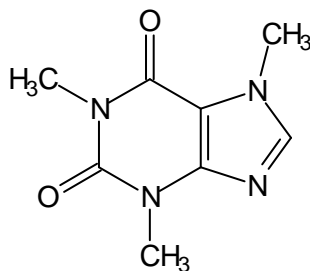
Spodziewana wydajność bezbarwnych drobnych igieł kryształów kofeiny waha się w granicach 250-375 (417.5) mg, t.t.=235.5-237.0°C [1]. Temperatura topnienia literaturowa: 236.0-237.5°C [4], 232-236°C (>99%) [5].

Literatura:

1. T. Onami, H. Kanazawa, A Simple Method for Isolation of Caffeine from Black Tea Leaves, *Journal of Chemical Education*, 1996, **73** (6), 556-557.
2. C. F. Wilcox, Jr., *Experimental Organic Chemistry, A small-Scale Approach*, Macmillan Publishing Company, New York 1989.
3. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, *Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach*, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988.
4. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, Eds., *The Merck Index*, 11th ed., Merck Raway, NJ 1989, p.248.
5. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.270.

2.3 Izolacja kofeiny z liści herbaty w skali pół-mikro; metoda 3

[1]



Kofeina

Materiały:

- czarna herbata – 2 g
- 0.2 M NaOH – 5 ml
- chlorek metylenu – 40 ml
- 2-propanol – 1 ml
- heksan – 2 ml
- eter etylowy – 1 ml
- siarczan magnezu

Do zlewki Erlenmeyera ze szlifem o pojemności 50 ml wsypujemy 2 g zmielonej czarnej herbaty a następnie wlewamy 15 ml chlorku metylenu i powoli 5 ml 0.2 M NaOH. Erlenmeyerkę zamykamy korkiem i mieszamy w rękach (około 200 rpm) przez 7 minut. **UWAGA:** NIE WOLNO WYTRZĄSAĆ, GDYŻ DOPROWADZI TO DO POWSANIA TRUDNO ROZDZIELAJĄCEJ SIĘ EMULSJI.

Odpipetowaną warstwę organiczną sączymy pod zmniejszonym ciśnieniem przez mały lejek Büchnera, na którym umieszczamy kolejno sączek z bibuły twardej i średniej przysypane około 0.5 - 1 cm warstwą celitu lub żelu krzemionkowego Kieselgel 40. Po przesączeniu całości roztworu pozostały na lejku osad przemywamy dwukrotnie około 7 ml porcjami chlorku metylenu. Warstwę organiczną suszymy małą ilością bezwodnego siarczanu magnezu. do uzyskania klarownej warstwy organicznej. Odsączamy na sączku karbowanym (zwilżonym uprzednio chlorkiem metylenu) do kolbki okrągłodennej o pojemności 50 ml. Siarczan magnezu przemywamy około 5 ml chlorku metylenu, który dołączamy do ekstraktów. Całość rozpuszczalnika należy oddestylować na wyparce rotacyjnej, zaopatrzonej w pompkę wodną do sucha (temperatura łaźni 25-30°C). Po ochłodzeniu kolby kryształ przemywamy dwukrotnie 0.5 ml porcjami mieszaniny 1:1 heksan-eter etylowy. Roztwór po przemyciu usuwamy za pomocą pipety Pasteura.

Suchą pozostałość rozpuszcza się w 1 ml chlorku metylenu i przenosi do uprzednio zważonej (waga analityczna lub półanalityczna) małej probówki (15 mm × 75 mm). Kolbkę płuczemy dwoma porcjami chlorku metylenu po 0.5 ml, które kolejno dołączamy do roztworu kofeiny w probówce. Po odparowaniu z probówki chlorku metylenu do sucha (łaźnia wodna o temperaturze 60°C, pod wyciągiem) utworzone kryształy rozpuszczamy we wrzącym 2-propanolu (około 0.8 ml), i chłodzimy do temperatury pokojowej. Następnie dodajemy identyczną jak 2-propanolu porcję heksanu, i po 5 minutach oddzielamy kryształy kofeiny przez dekantację. Przemywamy 1 ml mieszaniny 1:1 heksan-eter etylowy, dekantujemy i suszymy w probówce. Całość ważymy.

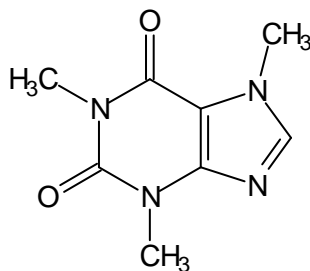
Spodziewana wydajność bezbarwnych drobnych igieł kryształów kofeiny waha się w granicach 20-30 (33.4) mg, t.t.=235.5-237.0°C [1]. Temperatura topnienia literaturowa: 236.0-237.5°C [2], 232-236°C (>99%) [3].

Literatura:

1. T. Onami, H. Kanazawa, A Simple Method for Isolation of Caffeine from Black Tea Leaves, *Journal of Chemical Education*, 1996, **73** (6), 556-557.
2. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, Eds., *The Merck Index*, 11th ed., Merck Raway, NJ 1989, p.248.
3. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.270.

2.4 Izolacja kofeiny z palonych nasion kawy

[1-3]



Kofeina

Materiały:

- mielona kawa – 35 g
- węglan wapnia – 10 g
- chlorek metylenu – 160 ml
- toluen – 15 ml
- eter naftowy 40-60°C – 30 ml
- siarczan magnezu

Do kolby okrągłodennej o pojemności 500 ml zawierającej 35 g zmielonej kawy i 10 g sypkiego węglanu wapnia wlewamy 150 ml wody i całość dokładnie mieszamy. Kolbę zaopatrujemy w chłodnicę zwrotną i ogrzewamy do wrzenia nad płaszczem grzejnym. Zawiesinę utrzymujemy w stanie łagodnego wrzenia przez 20 minut sporadycznie mieszając.

Następnie wodny roztwór kofeiny odsączamy na gorąco, pod zmniejszonym ciśnieniem przez lejek Büchnera, na którym umieszczamy kolejno sącdek z bibuły twardej i średniej. Po przesączeniu całości roztworu pozostały na lejku osad przemywamy dwukrotnie około 25 ml porcjami wrzącej wody.

Po ostygnięciu przesącza wodnego, do temperatury pokojowej, przenosimy go do rozdzielacza o pojemności 500 ml i ekstrahujemy trzykrotnie 40 ml porcjami chlorku metylenu. Należy uważać przy tym, by nie wstrząsać rozdzielaczem zbyt gwałtownie, co może doprowadzić do powstania trudno rozdzielającej się emulsji. Każdorazowo po łagodnym wytrząsaniu odstawiamy rozdzielacz na 5 – 10 minut i zlewamy warstwę organiczną razem z nie rozdzieloną jeszcze emulsją do osobnego rozdzielacza o pojemności 250 ml. Po zebraniu warstwy organicznej i emulsji w nowym rozdzielaczu dodajemy do niego 10 – 15 g bezwodnego siarczanu magnezu i mieszamy ruchem wirowym. Powinno nastąpić dokładne rozdzielenie warstwy organicznej i wodnej. Po rozdzieleniu warstwę wodną ekstrahujemy jednokrotnie 10 ml chlorku metylenu, który po

rozdzieleniu dołączmy do warstwy organicznej. Połączone warstwy organiczne suszymy w kolbie Erlenmeyera z korkiem (250 ml) bezwodnym siarczanem magnezu do uzyskania klarownej warstwy organicznej. Odsączamy następnie od środka suszącego na sączku karbowanym (zwilżonym uprzednio chlorkiem metylenu) do kolbki okrągłodennej o pojemności 250 ml. Siarczan magnezu przemywamy około 15 ml chlorku metylenu, który dołączamy do ekstraktów. Całość zatężamy na wyparce rotacyjnej, zaopatrzonej w pompkę wodną, do około 10 ml, a następnie przenosimy do kolbki o pojemności 50 ml, płucząc poprzednie naczynie trzykrotnie 5 ml porcjami chlorku metylenu. Z tak uzyskanego roztworu usuwamy całkowicie chlorek metylenu na wyparce rotacyjnej.

Suchą pozostałość rozpuszcza się na gorąco (pod chłodnicą zwrotną) w jak najmniejszej ilości wrzącego toluenu (około 10 ml). Następnie przez chłodnicę wlewamy ostrożnie eteru naftowego (frakcja 40-60°C), tak by przy wrzącym roztworze powstało lekkie trwałe zmętnienie i pozostawiamy do ostygnięcia. Zimny roztwór wstawiamy do lodówki. Wydzielone kryształy odsączmy pod zmniejszonym ciśnieniem na małym lejku Büchnera (lub lejku ze spiekem G3-G4) i przemywamy zimnym eterem naftowym. Suszymy na powietrzu. Można zamiast toluenu użyć acetonu (około 6 ml).

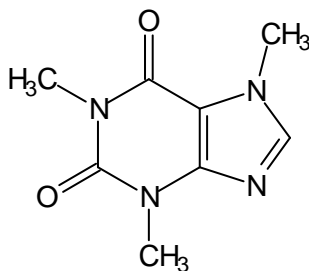
Alternatywna metoda krystalizacji polega na rozpuszczeniu kofeiny we wrzącym 2-propanolu i wytrąceniu jej, po ostygnięciu roztworu do temperatury pokojowej, analogiczną, jak użytego 2-propanolu, ilością heksanu. Odsączone kryształy przemywamy na lejku mieszaniną 1:1 heksan-eter etylowy. Mierzmy temperaturę topnienia i liczymy wydajność procesu. Literaturowa temperatura topnienia kofeiny wynosi: 236.0-237.5°C [4], 232-236°C (>99%) [5].

Literatura:

1. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988.
2. C. F. Wilcox, Jr., Experimental Organic Chemistry, A small-Scale Approach, Macmillan Publishing Company, New York 1989.
3. T. Onami, H. Kanazawa, A Simple Method for Isolation of Caffeine from Black Tea Leaves, *Journal of Chemical Education*, 1996, **73** (6), 556-557.
4. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, Eds., The Merck Index, 11th ed., Merck Raway, NJ 1989, p.248.
5. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.270.

2.5 Izolacja kofeiny z kawy lub herbaty za pomocą ekstrakcji ciągłej

[1-4]



Kofeina

Materiały:

- mielona kawa – 16 g
- etanol – 150 ml
- tlenek wapnia – 7.5 g
- chlorek metylenu – 230 ml
- toluen – 15 ml
- eter naftowy 40-60°C – 25 ml
- siarczan magnezu

Do gilzy ekstrakcyjnej aparatu Soxhleta o pojemności 130 ml należy wsypać 16 g zmielonych palonych ziaren kawy. Gilzę umieszczamy w aparacie, zakładamy chłodnicę zwrotną a jako rezerwuuar używamy kolby okrągłodennej zawierającej 150 ml etanolu i kilka kamyczków wrzennych. Kolbę ogrzewamy na płaszczu grzejnym do wrzenia w ciągu 2 godzin. Lewarowanie aparatu Soxhleta powinno zachodzić co 15 minut. Studzimy roztwór i dodajemy go do 75 ml 10 % (w/v) roztworu tlenku wapnia w kolbie okrągłodennej o pojemności 500 ml. Uzyskany roztwór odparowujemy na łaźni wodnej lub wyparce do momentu otrzymania brązowej pasty. Dodajemy około 250 ml wody i doprowadzamy do wrzenia w ciągu 30 minut. Następnie odsączamy na gorąco, pod zmniejszonym ciśnieniem przez lejek Büchnera, na którym umieszczamy kolejno sącdek z bibuły twardej i średniej. Po przesączeniu pozostały na lejku osad przemywamy trzykrotnie około 50 ml porcjami wrzącej wody, dodajemy do przesączów 15 ml 0.1 M kwasu siarkowego (0.8 ml stężonego kwasu siarkowego) (sprawdzić odczyn).

Po ostygnięciu przesącza do temperatury pokojowej, przenosimy go do rozdzielacza o pojemności 1000 ml i ekstrahujemy czterokrotnie 30 ml porcjami chlorku metylenu, które wraz z ewentualnym osadem i emulsją wlewamy do zlewki Erlenmeyera z bezwodnym siarczanem magnezu. Po wysuszeniu i zaadsorbowaniu osadów na siarczanie magnezu chlorek metylenu przenosimy do osobnego rozdzielacza o pojemności

250 ml płuczac siarczan magnezy dwa razy 15 ml chlorku metylenu.. Po zebraniu całej żółtej warstwy organicznej w nowym rozdzielniku dodajemy do niego 15 ml 0.1 M NaOH i łagodnie wytrząsamy. Należy uważać przy tym, by nie wstrząsać rozdzielnikiem zbyt gwałtownie, co może doprowadzić do powstania trudno rozdzielającej się emulsji. To powinno wystarczyć do pozbycia się żółtego zabarwienia warstwy organicznej. Jeśli warstwa ta dalej jest zabarwiona należy operację powtórzyć z nową porcją 0.1 M NaOH zachowując poprzednią. Po pozbyciu się żółtej barwy oddzielamy warstwę organiczną, a pozostałe zasadowe roztwory wodne ekstrahujemy dwukrotnie 10 ml porcjami chlorku metylenu. Połączone ekstrakty suszymy bezwodnym siarczanem magnezu do uzyskania klarownej warstwy organicznej. Odsączamy następnie od środka suszącego na sączku karbowanym (zwilżonym uprzednio chlorkiem metylenu) do kolbki okrągłodennej o pojemności 500 ml. Siarczan magnezu przemywamy dwa razy 15 ml chlorku metylenu, który dołączamy do ekstraktów. Całość zatężamy na wyparce rotacyjnej, zaopatrzonej w pompkę wodną, do około 10 ml, a następnie przenosimy do kolbki o pojemności 100 ml, płuczac poprzednie naczynie trzykrotnie 10 ml porcjami chlorku metylenu. Z tak uzyskanego roztworu usuwamy całkowicie chlorek metylenu na wyparce rotacyjnej.

Suchą pozostałość rozpuszcza się na gorąco (pod chłodnicą zwrotną) w jak najmniejszej ilości wrzącego toluenu. Następnie przez chłodnicę wlewamy ostrożnie eteru naftowego (frakcja 40-60°C), by powstało lekkie zmętnienie. Pozostawiamy do ostygnięcia i wstawiamy do lodówki. Wydzielone kryształy odsączmy pod zmniejszonym ciśnieniem na małym lejku Büchnera (lub lejku ze spiekami G3), przemywamy eterem naftowym i suszymy na powietrzu. Zamiast toluenu można użyć acetonu.

Alternatywna metoda krystalizacji polega na rozpuszczeniu kofeiny we wrzącym 2-propanolu i wytrąceniu jej, po ostygnięciu roztworu do temperatury pokojowej, analogiczną, jak użytego 2-propanolu, ilością heksanu. Odsączone kryształy przemywamy na lejku mieszaniną 1:1 heksan-eter etylowy. Mierzmy temperaturę topnienia i liczymy wydajność procesu. Literaturowa temperatura topnienia kofeiny wynosi: 236.0-237.5°C [5], 232-236°C (>99%) [6].

Literatura:

1. D. J. Adam, J. Mainwaring, M. N. Quigley, Soxhlet Extraction of Caffeine from Beverage Plants, *Journal of Chemical Education*, 1996, **73** (12), 1171-1171.
2. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988.
3. C. F. Wilcox, Jr., Experimental Organic Chemistry, A small-Scale Approach, Macmillan Publishing Company, New York 1989.

4. T. Onami, H. Kanazawa, A Simple Method for Isolation of Caffeine from Black Tea Leaves, *Journal of Chemical Education*, 1996, **73** (6), 556-557.
5. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, Eds., *The Merck Index*, 11th ed., Merck Raway, NJ 1989, p.248.
6. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.270.

2.6 Uwagi do ekstrakcji kofeiny z produktów naturalnych

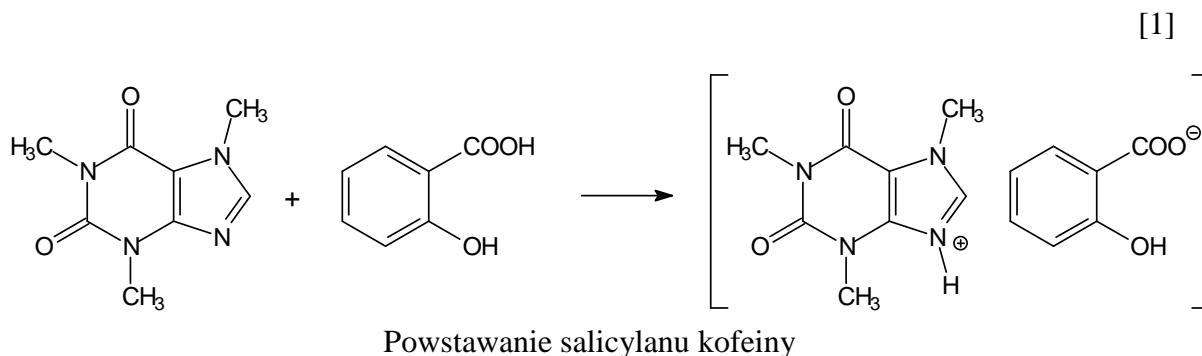
Wszelkie operacje z chlorkiem metylenu przeprowadzamy pod wyciągiem. Należy unikać wdychania par chlorku metylenu.

Cały odzyskany na wyparkach chlorek metylenu zbieramy do specjalnej butelki dostarczonej przez prowadzącego.

Podczas ekstrakcji zasadowych roztworów wodnych kofeiny chlorkiem metylenu dochodzi często, przy zbyt energicznym wstrząsaniu, do powstawania emulsji. Jeśli chcemy pozbyć się małej ilości emulsji należy warstwę organiczną i emulsję przesączyć przez lejek szklany z grubą nóżką wypełnioną bezwodnym chlorkiem magnezu zwilżonym chlorkiem metylenu. Po przesączeniu powinniśmy otrzymać pozbawioną wody warstwę organiczną. Siarczan magnezu należy po przesączeniu przemyć chlorkiem metylenu, a ten dołączyć do warstwy organicznej.

Inna metoda to zbieranie warstwy organicznej z ekstrakcji razem z emulsją w naczyniu z bezwodnym chlorkiem magnezu w takiej ilości by pozbyć się całej zawartej w emulsji wody. Również w tym przypadku konieczne jest po oddzieleniu warstwy organicznej przemyć środka suszącego dodatkową porcją lub porcjami chlorku metylenu w celu ilościowego przeniesienia kofeiny.

2.7 Identyfikacja kofeiny za pomocą przeprowadzenia jej w pochodną krystaliczną – salicylan kofeiny



Materiały:

- kofeina – 50 mg
- kwas salicylowy – 37 mg
- chlorek metylenu – 40 ml
- toluen – 4 ml
- eter naftowy frakcja 60-90°C – 1.5 ml

Do małej zlewki Erlenmeyera o pojemności 10 ml, lub szerokiej probówki wsypujemy 50 mg kofeiny i 37 mg kwasu salicylowego, a następnie dodajemy 4 ml toluenu. Całość rozpuszczamy na gorąco w łaźni wodnej zabezpieczając wlot probówki przed wilgocią zwitkiem waty. Po rozpuszczeniu się substancji dodajemy około 1 ml eteru naftowego (frakcja 60-90°C) i pozwalamy miksturze ostygnąć. Jeśli po ostygnięciu nie wypadną kryształki salicylanu kofeiny konieczne może być ochłodzenie naczynia w łaźni lodowej i dodanie paru dodatkowych kropli eteru naftowego. Kryształy salicylanu kofeiny sączymy na małym lejku Büchnera i przemywamy kilkoma kroplami ochłodzonego eteru naftowego. Suszymy na powietrzu.

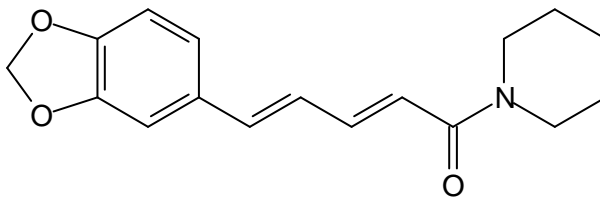
Temperatura topnienia literaturowa dla kofeiny: 236.0-237.5°C [2], 232-236°C (>99%) [3]; dla salicylanu kofeiny: 137°C [1]

Literatura:

1. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988.
2. S. Budavari, M. J. O'Neil, A. Smith, P. E. Heckelman, Eds., The Merck Index, 11th ed., Merck Raway, NJ 1989, p.248.
3. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.270.

2.8 Izolacja piperyny z pieprzu czarnego

[1-2]



Piperyna

Materiały:

- zmielony czarny pieprz – 20 g (jedno opakowanie)
- chlorek metylenu – 110 ml
- eter etylowy – 65 ml
- aceton – 15 ml
- heksan – 10 ml

Do kolby okrągłodennej o pojemności 100 ml zawierającej 20 g zmielonego czarnego pieprzu i kamyczek wrzenny wlewamy 40 ml chlorku metylenu, zakładamy chłodnicę zwrotną i ogrzewamy do wrzenia nad płaszczem grzejnym przez 20 – 40 minut. Ekstrakt pozostawiamy do ochłodzenia pod chłodnicą zwrotną na 10 minut, po czym chłodzimy w łaźni z zimną wodą przez 5 – 10 minut. Zawiesinę odsączamy pod zmniejszonym ciśnieniem przez mały lejek Büchnera, na którym umieszczamy kolejno dwa sączki z bibuły twardej i jeden ze średniej. Po przesączeniu całości roztworu pozostały na lejku osad przemywamy trzykrotnie około 10 ml porcjami chlorku metylenu. Zachowujemy kilka kropli przesącza do analizy TLC.

Przesącz przynosimy do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml płucząc kolbę ssawkową dwoma 10 ml porcjami chlorku metylenu. Zebrane ekstrakty zatężamy na wyparce rotacyjnej, zaopatrzonej w pompkę wodną i łapacz kropel, do osiągnięcia konsystencji gęstego oleju (temperatura łaźni wodnej 45-50°).

UWAGA: PRZY ZBYT DŁUGIM OGRZEWANIU NA ŁAŹNI WODNEJ POD ZMNIJSZONYM CIŚNIENIEM PIPERYNA MOŻE SUBLIMOWAĆ DO WNĘTRZA WYPARKI.

Uzyskany olej należy przenieść pipetą pasteurowską od kolby okrągłodennej 50 ml rozpuszczając go w 5 ml chlorku metylenu. Większą kolbę płuczemy trzy razy 5 ml chlorku metylenu. Ponownie odpędzamy na wyparce rotacyjnej do konsystencji gęstego oleju, chłodzimy w lodzie, dodajemy 12 ml eteru etylowego i mieszamy bagietką, ciągle chłodząc, przez 3-4 minuty. Podczas tych zabiegów może wypaść osad piperyny. Eter odpędzamy na wyparce. Proces tritracji eterem powtarzamy raz jeszcze. Następnie,

chłodząc w łaźni lodowej, dodajemy do osadu w kolbie kolejną porcję 12 ml eteru etylowego, intensywnie mieszamy do momentu wypadnięcia piperyny a następnie zamkniętą kolbę wstawiamy do zamrażarki lub łaźni lód/sól na 20 – 30 minut sporadycznie mieszając. Po upływie tego czasu odsączamy kryształy na małym lejku Büchnera lub lejku ze spiekem G3-G4, i przemywamy dwukrotnie 5 ml porcjami schłodzonego w zamrażalniku eteru etylowego. Suszymy na powietrzu.

Rekrystalizację piperyny należy przeprowadzić z jak najmniejszej ilości wrzącej mieszaniny 3:2 aceton-heksan w kolbie 50 ml pod chłodnicą zwrotną. Po całkowitym rozpuszczeniu osadu odstawiamy płaszcz grzejny i pozwalamy ostygnąć mieszaninie przez 15 minut. Powinny w tym czasie pojawić się pierwsze kryształy piperyny. Następnie wstawiamy kolbę do łaźni lodowej, na co najmniej 30 minut. Po całkowitej krystalizacji sączymy kryształy na małym lejku Büchnera lub szklanym ze spiekem G3-G4 i przemywamy dwoma 5 ml porcjami schłodzonego eteru etylowego. Suszymy na powietrzu.

Inna metoda krystalizacji to rozpuszczenie na gorąco surowej piperyny w 7 ml etanolu (ilość dla 0.6 g produktu ekstrakcji) ochłodzeniu i dodaniu 7 – 14 ml heksanu a następnie na odstawieniu do zamrażarki lub łaźni lód/sól na okres co najmniej godziny. Dalej postępujemy jak poprzednio.

Aby uzyskać dobrą temperaturę topnienia może być potrzebna dwu- trzykrotna krystalizacja.

Wydajność procesu około 2 %. Literaturowa temperatura topnienia piperyny wynosi: 130.0-132.5°C [3], 128-130°C (purum >97%) [4].

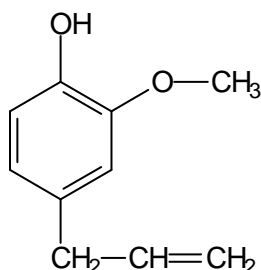
Wykonujemy chromatografię cienkowarstwową stosując płytki do chromatografii cienkowarstwowej Kieselgel 60 firmy Merck a jako medium rozwijające roztwór 3:2 aceton-heksan. Na płytkę наносimy kroplę pozostawionego surowego ekstraktu piperyny, kroplę roztworu uzyskanej po krystalizacji piperyny w chlorku metylenu i krople tak samo przygotowanego standardu (otrzymanego od prowadzącego). Po rozwinięciu płytki, dokładnie ją suszymy i oglądamy pod lampą UV.

Literatura:

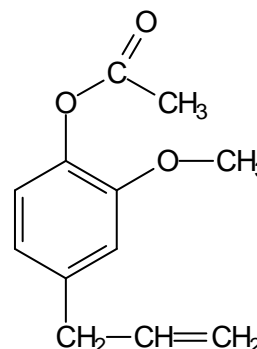
1. W. E. Epstein, D. F. Netz, J. L. Seidel, Isolation of Piperine from Black Pepper, *Journal of Chemical Education*, 1993, **70** (7), 598-599.
2. Przepis własny M. Dyba.
3. R. C. Weast, Ed, CRC Book of Chemistry and Physics, 58th ed., CRC Press, West Beach, FL 1978.
4. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.1085.

2.9 Izolacja eugenolu i acetyloeugenolu z goździków przyprawowych metodą destylacji z parą wodną

[1]



Eugenol



Acetyloeugenol

Materiały:

- goździki przyprawowe – 35 g
- chloroform lub chlorek metylenu – 200 ml
- heksan – 10 ml
- 5 % NaOH – 90 ml
- siarczan magnezu

Składamy aparaturę do destylacji z parą wodną dodatkowo montując na podnośniku płaszcz grzejny pod kolbą destylacyjną. Do kolby destylacyjnej wprowadzamy 35 g dokładnie pokruszonych w moździerzu goździków i wlewamy 100 ml wody. Prowadzimy destylację z parą wodną, ogrzewając dodatkowo kolbę destylacyjną, w ciągu 1½ godziny.

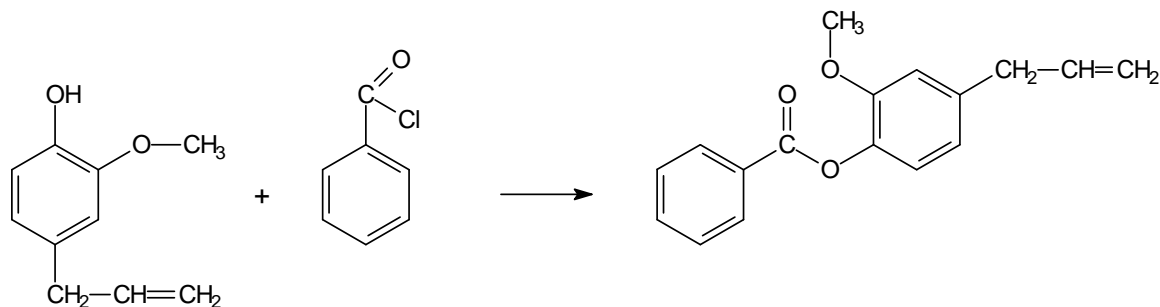
W otrzymanym destylacie uzyskujemy olejek goździkowy, który jest częściowo rozpuszczony w warstwie wodnej. Destylat ekstrahuje się trzema 30 ml porcjami chloroformu. Kilka kropeł połączonych ekstraktów pozostawiamy do analizy TLC.

Aby oddzielić eugenol od acetyloeugenolu warstwę organiczną ekstrahujemy trzykrotnie 30 ml 5 % NaOH. Warstwę organiczną, zawierającą głównie acetyloeugenol, suszy się bezwodnym siarczanem magnezu, filtruje i oddestylowuje rozpuszczalnik. **UWAGA:** należy zachować kilka kropeł wysuszonego roztworu w celu wykonania TLC. Ważymy otrzymany acetyloeugenol (0.2 – 2.3 g).

Zasadowe ekstrakty wodne zakwasza się kwasem solnym do pH 1 i ekstrahuje trzykrotnie 30 ml chloroformu. Warstwę organiczną suszy się bezwodnym siarczanem magnezu, filtruje i oddestylowuje rozpuszczalnik. **UWAGA:** należy zachować kilka kropeł wysuszonego roztworu w celu wykonania TLC. Ważymy otrzymany eugenol (2 – 3 g).

Wykonujemy chromatografię cienkowarstwową stosując płytki do chromatografii cienkowarstwowej Kieselgel 60 firmy Merck a jako medium rozwijające roztwór 3:4 chloroform-heksan. Na płytkę наносimy kroplę pierwotnego ekstraktu, ekstraktu eugenolu i acetyloeuugenolu. Po rozwinięciu płytki, dokładnie ją suszymy i wywołujemy jodem.

Wykonujemy pochodną krystaliczną eugenolu – benzoiloeuugenol [2, 3]



Materiały:

- eugenol – 1 ml
- chlorek benzoilu – 0.75 ml
- pirydyna – 3 ml
- etanol – 50 ml

Wlewamy do probówki 1 ml surowego eugenolu i dodajemy 3 ml pirydyny. Dodajemy ostrożnie 0.75 ml chlorku benzoilu i po ustaniu samorzutnej reakcji ogrzewamy w łaźni wodnej (95°C) przez 10 minut. Studzimy i wlewamy do 10 ml wody w małej 50 ml Erlenmeyerce, naczynie płuczemy małą ilością wody, którą dołączamy do głównej części roztworu, mieszamy i ostrożnie zlewamy wodę znad żółtego oleju. Wlewamy kolejną porcję około 20 ml wody i dokładnie mieszamy w niej olej bagietką, a następnie po chwili wodę dekantujemy. Rozcieranie oleju z wodą powtarzamy aż do wytrącenia się osadu.

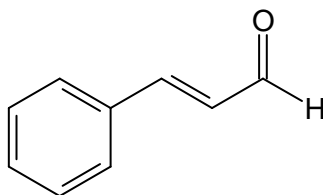
Zestawiony żółtawy osad przemywamy w kolbie, dokładnie mieszając, zimnym etanolem (10 ml), który następnie delikatnie dekantujemy. Przemywania etanolem powtarzamy aż do uzyskania bezbarwnego osadu i bezbarwnej warstwy alkoholowej (2 – 3 razy). Po zdekantowaniu ostatniej porcji etanolu dodajemy 3-5 ml etanolu i rozpuszczamy pozostały osad na gorąco, chłodzimy i odstawiamy do lodu lub zamrażarki. Po około 10 minutach pocieramy ścianki bagietką powodując krystalizację. Osad sącymy na gęstym małym sączku pod zmniejszonym ciśnieniem (zalecany G4 – MO4), przemywamy dwukrotnie zimnym etanolem i suszymy na powietrzu. Otrzymujemy bezbarwne drobne kryształki topiące się w 68-69°C. Literaturowa temperatura topnienia pochodnej wynosi: 69.0-70.0°C [3].

Literatura:

1. M. S. Ntamila and A. Hassanali, Isolation of Oil of Clove and Separation of Eugenol and Acetyl Eugenol, An instructive experiment for beginning chemistry undergraduates, *Journal of Chemical Education*, 1976, **53** (4), 263.
2. Z. Jerzmanowska, Analiza Jakościowa Związków Organicznych, Podręcznik Dla Studentów Farmacji i Chemii, wydanie IV poprawione, Państwowe Zakłady Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1967, p.154.
3. przepis własny M. Dyba
4. M. Windholz, S. Budavari, R. F. Blumetti, E. S. Otterbein, Eds., The Merck Index, 10th ed., Merck & CO., INC., Raway, NJ 1983, p.568.

2.10 Izolacja aldehydu cynamonowego z cynamonu metodą destylacji z parą wodną

[1]



Aldehyd cynamonowy

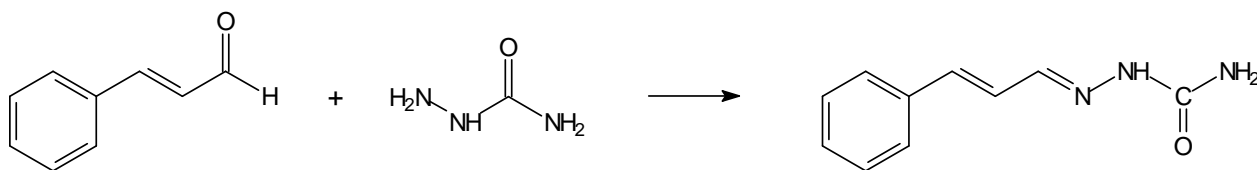
Materiały:

- zmielony cynamon – 20 g
- chlorek metylenu – 120 ml
- siarczan magnezu

Podczas destylacji z parą wodną zawiesiny cynamon-woda następuje obfite pienienie się, uniemożliwiające przeprowadzenie destylacji. Aby temu zapobiec konieczna jest wstępna obróbka zawiesiny cynamonu w wodzie.

20 g cynamonu umieszczamy w kolbie destylacyjnej, aparatury do destylacji z parą wodną, zawierającej 100 ml wody. Kolbę podłączamy do dobrej pompki wodnej, pamiętając o płuczce zabezpieczającej, stosując odpowiednią „nasadkę do odbierania gazów” zaopatrzoną w szlif. Pozwalamy by zawiesina w kolbie zapieniła się, a następnie, kiedy piana podejdzie do szyi kolby wyłączamy pompkę i czekamy aż piana opadnie. Proces włączania / wyłączania pompki wodnej powtarzamy do momentu ustania pienienia się zawiesiny. Na tak przygotowanym materiale prowadzimy destylację z parą wodną w ciągu 1 – 1½ godziny. Ochłodzony destylat wysalamy i ekstrahujemy chlorkiem metylenu, czterema porcjami po 30 ml. Zebraną warstwę organiczną suszymy bezwodnym siarczanem magnezu i sączymy do kolby okrągłodennej o pojemności 250 ml, do której dodajemy mały czysty kamyczek wrzenny. Montujemy zestaw do destylacji prostej i odpędzamy chlorek metylenu na łaźni wodnej o temperaturze około 60°C (można stosować wyparkę rotacyjną, co zdecydowanie przyspiesza proces). Surowy aldehyd cynamonowy można dalej oczyścić przez destylację pod zmniejszonym ciśnieniem.

Wykonujemy pochodną krystaliczną aldehydu cynamonowego – semikarbazon aldehydu cynamonowego [2]



Materiały:

- olejek cynamonowy – 1 ml
- chlorowodorek semikarbazydu – 1 g
- bezwodny octan sodu – 1.5 g
- etanol – 20 ml

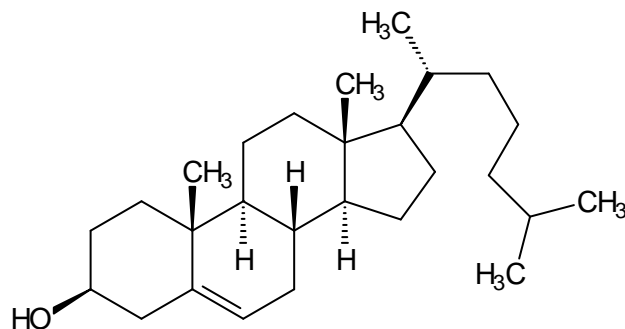
W szerokiej probówce rozpuszcza się 1 ml aldehydu w 10 ml etanolu, po czym dodaje wody do lekkiego zmętnienia, które z kolei usuwa się kilkoma kroplami etanolu. Dodaje się 1 g chlorowodoru semikarbazydu i 1.5 g octanu sodu. Wszystko dokładnie mieszamy i ogrzewamy na wrzącej łaźni wodnej przez 5 minut. Studzimy w lodzie, pocieramy ścianki probówki bagietką. Wydzielone kryształy semikarbazonu odsączamy i rekrystalizujemy z minimalnej ilości wrzącego etanolu lub mieszaniny etanol/woda. Suszymy na powietrzu i oznaczamy temperaturę topnienia.. Literaturowa temperatura topnienia pochodnej wynosi: 215.0°C [3].

Literatura:

1. D. F. Taber and A. J. Weiss, Cinnamaldehyde by Steam Distillation of Cinnamon, *Journal of Chemical Education*, 1998, **75** (5), 633.
2. Z. Jerzmanowska, Analiza Jakościowa Związków Organicznych, Podręcznik Dla Studentów Farmacji i Chemii, wydanie IV poprawione, Państwowe Zakłady Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1967, p.150-151
3. Z. Jerzmanowska, Analiza Jakościowa Związków Organicznych, Podręcznik Dla Studentów Farmacji i Chemii, wydanie IV poprawione, Państwowe Zakłady Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1967, p.233.

2.11 Izolacja cholesterolu z żółtka jaja kurzego

[1-3]



Cholesterol

Materiały:

- jaja kurze / żółtka jaj kurzych – 3 szt.
- eter etylowy – 65 ml
- etanol – 95 ml
- chloroform – 15 ml
- eluent do TLC -2:1 eter etylowy:heksan – 10 ml
- wywoływacz do TLC – jod (w komorze z żelazem krzemionkowym)
- kwas siarkowy
- bezwodnik octowy – 2 ml

Dokładnie oddzielone od białek żółtka jaj umieszczamy w zlewce o pojemności 300-400 ml i zalewamy mieszając 225 ml mieszaniny 1:1 eteru etylowego i etanolu. Pozostawiamy na 10 do 15 minut sporadycznie mieszając, a następnie sącymy do suchej kolby okrągłodennej o pojemności 500 ml przez sączonej karbowany, uprzednio zwilżony mieszaniną etanolu i eteru etylowego. Zawartość kolby odparowujemy do sucha na wyparce rotacyjnej pod zmniejszonym ciśnieniem, a następnie do suchej pozostałość dodaje się 15 ml gorącego etanolu, odpipetowuje do małej kolby Erlenmeyera, ponownie dodaje się 9 ml gorącego etanolu i znów przenosi do kolbki Erlenmeyera. Ekstrakt sącymy do 50 ml Erlenmeyerki przez zwilżony etanolem mały sączonej karbowany, płuczemy poprzednie naczynie 1 ml etanolu, który również sącymy do nowej kolbki. Do tak otrzymanego ekstraktu dodajemy kroplami wodę tak długo, aż nie zacznie wypadać osad. Odstawiamy na 30 minut i sącymy na sączonej ze spiekem G4. Rekrytalizujemy z możliwie małej ilości wrzącego etanolu, sącymy i suszymy na powietrzu.

Ważymy, oznaczamy temperaturę topnienia, wykonujemy chromatografię cienkowarstwową, oraz próby Salkowskiego i Liebermanna-Burcharda na obecność cholesterolu (dla związku wyekstrahowanego jak i otrzymanego od prowadzącego).

Literaturowa temperatura topnienia czystego cholesterolu wynosi: 149.0-150.0°C [3], 148.0-150.0°C (>99%) [4].

TLC

Chromatografię cienkowarstwową wykonujemy stosując płytki do chromatografii cienkowarstwowej Kieselgel 60 firmy Merck a jako medium rozwijające roztwór 2:1 eter etylowy:heksan. Na płytkę наносimy małą kroplę roztworu uzyskanego cholesterolu, rozpuszczonego w eterze etylowym i wzorzec - kroplę przygotowanego identycznie czystego cholesterolu otrzymanego od prowadzącego. Po rozwinięciu płytki, dokładnie ją suszymy i wywołujemy w parach jodu.

Próba Salkowskiego

Do suchej probówki wlewamy 2 ml roztworu cholesterolu w chloroformie i powoli, po ścięciu probówki dodajemy 1ml stężonego kwasu siarkowego. Kwas fluoryzuje na zielono, a warstwa organiczna barwi się na czerwono.

Próba Liebermanna-Burcharda

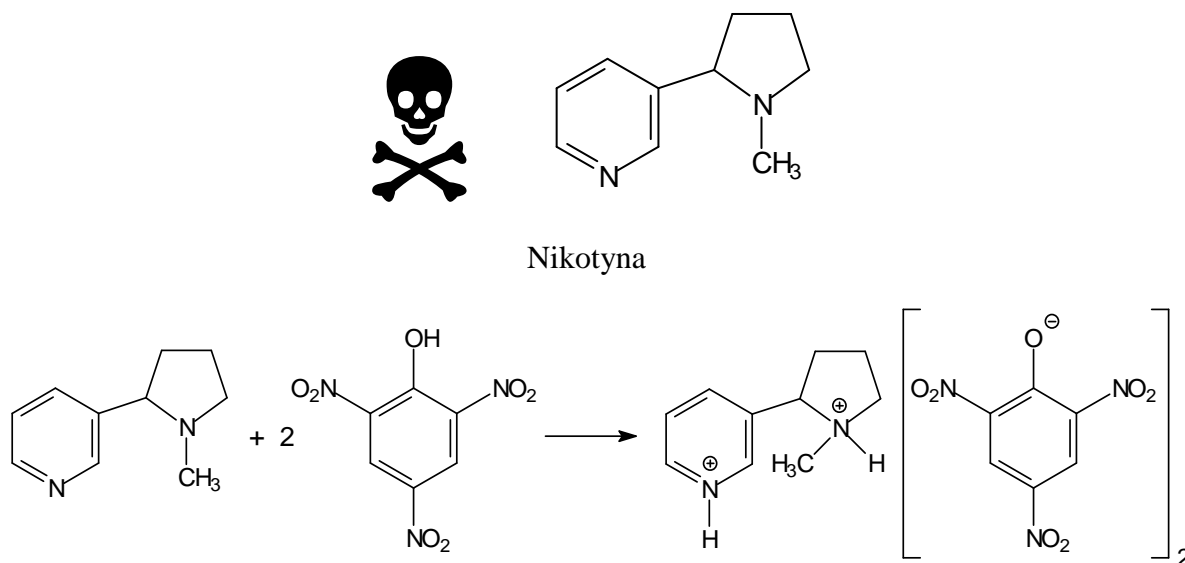
Do suchej probówki wlewamy 1 ml roztworu cholesterolu w chloroformie, dodajemy 10 kropli bezwodnika octowego i 1 kroplę stężonego kwasu siarkowego. Pojawia się czerwone zabarwienie, przechodzące przez niebieskie w zielone.

Literatura:

1. W. Mejbaum-Katzenellenbogen, J. Mochnacka, Kurs Praktyczny z Biochemii, PWN, Warszawa 1969.
2. P. Kafarski, P. Wieczorek, Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Bioorganicznej, Wyższa Szkoła Pedagogiczna Im. Powstańców Śląskich w Opolu, Wydawnictwa Skrytowe, Opole 1987, p. 48-52.
3. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988, p.78.
4. Katalog: Fluka Chemika-BioChemika 1993/94, Fluka Chemie AG, Buch, Switzerland 1993, p.340.

2.12 Izolacja nikotyny z liści tytoniu w postaci jej soli z kwasem pikrynowym

[1-4]



UWAGA: Nikotyna jest silnie toksyczna. Dawka wielkości 60 mg jest śmiertelna.



Podczas pracy z nikotyną zachować szczególną ostrożność.

Materiały:

- wysuszony tytoń z cygar lub fajkowy – 8.5 g
- 5 % NaOH – 100 ml
- eter etylowy – 120 ml
- metanol – 25 ml
- etanol – 15 ml
- kwas pikrynowy – około 1 g

Należy utrzyć w moździerzu 8.5 g, uprzednio wysuszonego przez co najmniej tydzień, tytoniu. Pył tytoniowy umieszczamy w 400 ml zlewce i dodajemy 100 ml 5 % NaOH. Zawiesinę mieszamy przez 15 minut, a następnie sączymy na lejku Büchnera pod zmniejszonym ciśnieniem używając twardego i miękkiego sączka. Pozostały na sączkach osad tytoniu przemywamy niewielką ilością wody i odciskamy korkiem. Osad zawracamy do zlewki, dodajemy 30 ml wody, mieszamy i sączymy używając nowych sączków. Jeśli połączone przesącze nie są klarowne to należy je ponownie przesączyć. Klarowny roztwór przenosimy do 250 ml rozdzielacza i ekstrahujemy czterokrotnie 25 ml porcjami eteru etylowego. Dokładnie oddzielone od wody i emulsji ekstrakt eterowy zbieramy w suchej kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml. Eter odparowujemy na wyparce rotacyjnej pod

zmniejszonym ciśnieniem stosując łaźnię wodną o temperaturze otoczenia (nie wolno stosować ogrzewania). Kiedy objętość roztworu będzie wynosić około 10 ml należy przenieść pipetą ekstrakt eterowy do kolby o pojemności 50 ml, a starą kolbę przepłukać starannie trzema porcjami po 5 ml eteru. Odparowujemy eter do sucha. Otrzymujemy olej z częściowo wytrąconym osadem. Dodajemy 1 ml wody i intensywnie mieszamy do rozpuszczenia otrzymanego osadu, następnie wlewamy 4 ml metanolu i sączymy przez mały lejek z watą szklaną umieszczoną w nóżce do małej kolby Erlenmeyera o pojemności 50 ml. Następnie płuczemy kolbkę okrągłodenną dodatkową 5 ml porcją metanolu, którą również sączymy. Uzyskany roztwór musi być klarowny, wolny od osadów. Jeśli nie jest należy go ponownie przesączyć. Do klarownego roztworu dodajemy 10 ml nasyconego metanolowego roztworu kwasu pikrynowego. Bładożółty osad dwupikrynianu nikotyny strąca się natychmiast. Wytrącony osad sączymy niezwłocznie na małym lejku Büchnera i suszymy na powietrzu.

Ilość uzyskanej soli może dojść do 0.1 g. Wytrącający się z przesączu, przy odparowywaniu metanolu, osad to kwas pikrynowy, który odrzucamy.

Wysuszony osad topi się w temperaturze 216-217°C. Po dobie temperatura wzrasta do 217-220°C.

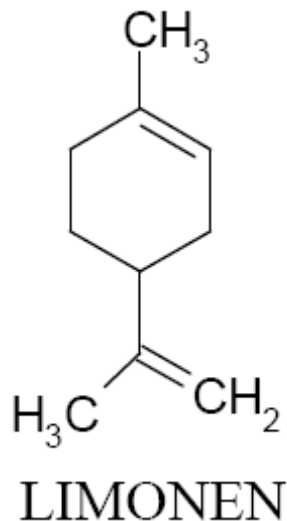
Otrzymaną sól rekrytalizujemy w 50 ml kolbie Erlenmeyera stosując minimalną ilość gorącej mieszaniny 1:1 (v:v) etanol-woda. Mieszaninę tą dodajemy do ogrzewanej na łaźni wodnej kolbki dopóki nie rozpuści się cały osad dwupikrynianu nikotyny, a następnie odstawiamy kolbę i pozwalamy jej schłodzić się powoli do temperatury pokojowej. Może być konieczne zamknięcie kolby i pozostawienie jej w temperaturze pokojowej do następnych zajęć. Nie chłodzić w lodówce. Po krystalizacji otrzymany osad sączymy na małym lejku Büchnera i pozwalamy mu wyschnąć na powietrzu, najlepiej przez noc.

Temperatura topnienia czystego dwupikrynianu nikotyny wynosi 222-223°C [1].

Literatura:

1. D. L. Pavia, G. M. Lampman, G. S. Kriz, Introduction To Organic Laboratory Techniques, A Contemporary Approach, Third edition, Saunders College Publishing, Philadelphia 1988, p.54-57.

2.13 Izolacja limonenu



Odczynniki i materiały

skórka pomarańczy lub grejpfruta
pentan
chlorek metylenu
zestaw do destylacji z parą wodną
wyparka obrotowa

Wykonanie ćwiczenia:

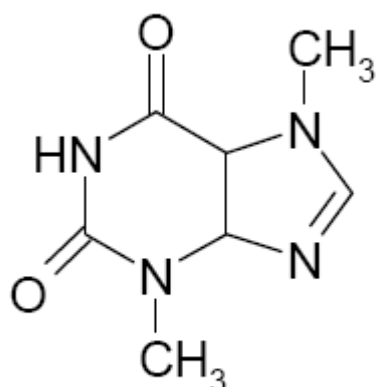
Dwie, drobno pokrojone skórki pomarańczy (lub jedną skórkę grejpfruta) umieszcza się w kolbie o pojemności 1000 ml, dodaje 150 ml wody i destyluje z parą wodną. Po uzyskaniu 50-60 ml destylatu ekstrahuje się go trzykrotnie 15- mililitrowymi porcjami pentanu lub dichlorometanu. Połączone ekstrakty przemywa się wodą i suszy nad bezwodnym siarczanem magnezu. Usunięcie rozpuszczalnika na wyparce obrotowej daje prawie czysty limonen.

Czystość substancji należy sprawdzić techniką GC-MS

Literatura:

P. Kafarski; P. Wieczorek, Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Bioorganicznej, Opole 1997

2.14 Wydzielanie teobrominy z kakao



TEOBROMINA

Odczynniki i materiały

Kakao

Tlenek magnezu

Siarczan dimetylowy

Metanol

Chloroform

Eter dietylowy

Wodorotlenek sodu

Benzen

Eter naftowy

Bezwodny siarczan sodu

Wykonanie ćwiczenia:

Zmieszano 20 g kakao i 6 g tlenku magnezu w zlewce o pojemności 250 ml zawierającej 40 ml wody i 20 ml metanolu. Mieszaninę ogrzewano pod wyciągiem tak długo, aż masa stała się sucha (45-50 minut). Otrzymaną masę przeniesiono do 500-mililitrowej kolby i dodano 350 ml chloroformu. Otrzymaną mieszaninę ogrzewano do temperatury wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 30 minut, po czym przesączono na gorąco. Osad rozkruszono, przeniesiono do kolby i ponownie ekstrahowano chloroformem. Roztwory chloroformowe połączono, ekstrakt zateżano do

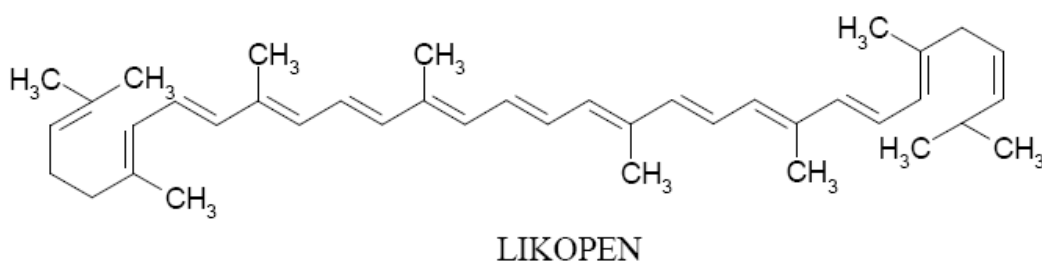
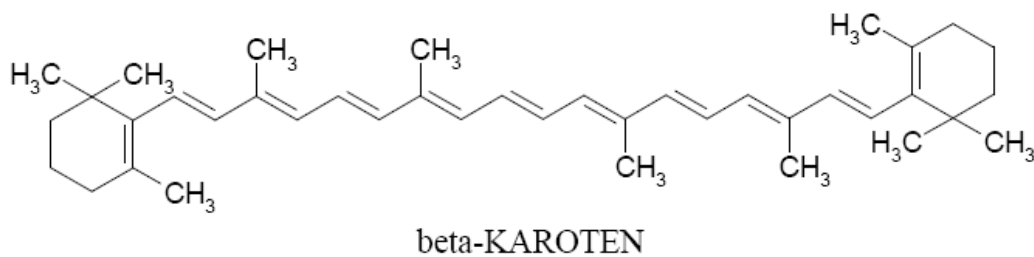
obj. 10 ml na wyparce obrotowej. Następnie do zatęśonego ekstraktu, w temperaturze pokojowej, dodano 60 ml eteru dietylowego i pozostawiono do następnych ćwiczeń. Otrzymany mikrokryształiczny osad przemywano parokrotnie 10 ml porcjami eteru dietylowego, otrzymując około 0,3 g teobrominy.

Tt = 351 °C

Literatura:

P. Kafarski; P. Wieczorek, Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Bioorganicznej, Opole 1997

2.15 Wydzielanie karotenoidów z pasty pomidorowej



Odczynniki i materiały

pasta z marchwi lub pomidorów
chlorek metylenu
jod
tlenek glinu
etanol
chlorek sodu
eter naftowy
cykloheksan
folia aluminiowa
kolumna chromatograficzna

Wykonanie ćwiczenia:

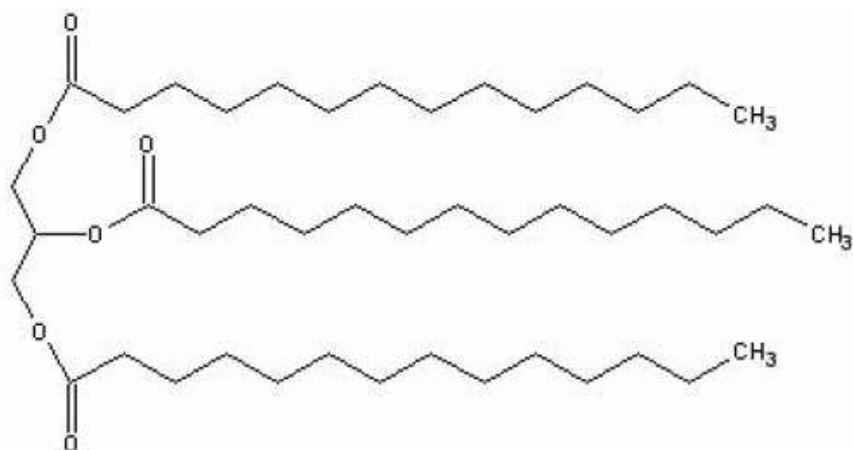
5 g Pasty z marchwi (lub pomidorów) umieszczono w kolbie okrągłodennej o pojemności 100 ml, owiniętej folią aluminiową w celu uchronienia karotenoidów przed reakcją fotochemicznego utleniania. Do kolby dodano 10 ml 95% etanolu i ogrzewano, pod chłodnicą zwrotną, utrzymując temperaturę wrzenia przez 5 minut. Gorącą mieszaninę sączono przez lejek ze spiekim, a Śólty filtrat przelano do kolby Erlenmayera o pojemności 100 ml, owiniętej folią aluminiową. Pozostały na sączku osad przeniesiono z powrotem do kolbki, dodając 10 ml chlorku metylenu i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną utrzymując stan wrzenia przez

kolejne 3-4 minuty. Ponownie sączono na gorąco i przesącz przeniesiono do kolby zawierającej ekstrakt etanolowy. Ekstrakcję chlorkiem metylenu powtarzano jeszcze trzykrotnie, zbierając ekstrakty w kolbie Erlenmeyera. Połączone ekstrakty przeniesiono do rozdzielacza, dodano wody i nasyconego roztworu chlorku sodu (w celu ułatwienia rozdzielenia warstw), dolną warstwę sączono przez lejek wypełniony środkiem suszącym do suchej kolby. Z otrzymanego ekstraktu usunięto rozpuszczalnik na wyparce obrotowej. Surowy karotenoid rozpuszczono w 5 ml cykloheksanu. Produkty oczyszczano za pomocą chromatografii kolumnowej, stosując jako eluent – eter naftowy. Zebrano poszczególne frakcje, które zcharakteryzowano za pomocą chromatografii cienkowsarstwowej.

Literatura:

P. Kafarski; P. Wieczorek, Ćwiczenia Laboratoryjne z Chemii Bioorganicznej, Opole 1997

2.16 Wydzielanie trimirystyny z gałki muszkatołowej



TRIMIRYSTYNA

Odczynniki i materiały

Gałka muszkatołowa

Aceton

Wodorotlenek sodu

Eter etylowy

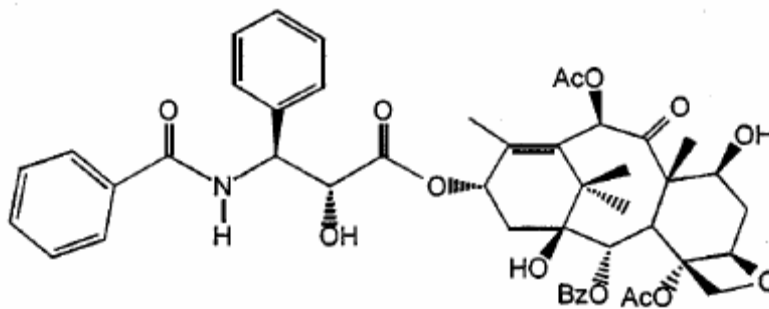
Etanol

Stężony kwas solny

Wykonanie ćwiczenia:

40 g drobno zmielonej gałki muszkatołowej oraz 32 ml eteru etylowego umieszczono w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 ml i ogrzewano pod chłodnicą zwrotną przez godzinę. W czasie tego procesu cały czas regulowano temperaturę i ciśnienie wody dopływającej do chłodnicy, tak aby eter delikatnie wrzał. Następnie schłodzono do temperatury pokojowej, odsączono na lejku nie rozpuszczone produkty. Przesącz wiano do kolby i umieszczono w wyparce obrotowej w celu usunięcia eteru. Następnie rozpuszczono w 50 ml acetonu i ponownie ogrzewano pod chłodnicą zwrotną. Mieszaninę schłodzono, a następnie umieszczono w lodówce do następnych ćwiczeń. Wytrącony związek odsączono, wysuszone na powietrzu i zważono (trimirystyna).

2.17 Wydzielanie taksyn z igieł cisu pospolitego



Paclitaxel

Odczynniki i materiały:

- Igiły cisu pospolitego – 10 g
- Aceton – 100 cm³
- Octan etylu – 110 cm³
- Nasycony r-r NaHCO₃ – 60 cm³
- Kwas solny 1M – 10 cm³
- NaHCO₃
- Rozcieńczony r-r NaOH
- Bezwodny MgSO₄

W kolbie kulistej o poj. 250 cm³ umieścić 10 g igieł cisu, dodać 100cm³ acetonu i ogrzewać do wrzenia przez minimum 1.5 h pod chłodnicą zwrotną. Odsączyć przez sącdek z karbowanej bibuły. Roztwór odparować do sucha na wyparce. Dodać 50 ml octanu etylu, zamieszać do rozpuszczenia osadu i przenieść do rozdzielacza. Ekstrahować trzykrotnie nasyconym roztworem NaHCO₃ zachowując warstwę organiczną. Substancje o charakterze kwaśnym zostają przy tym usunięte z warstwą wodną. Frakcję organiczną ekstrahować 10 cm³ 1M kwasu solnego. Taksoidy przechodzą do warstwy wodnej, która następnie należy doprowadzić za pomocą stałego NaHCO₃ do pH 8-9. Ekstrahować octanem etylu (3 razy po 20 ml). Taksoidy przechodzą do warstwy organicznej, którą następnie należy przemyć wodą (10 ml), przenieść do kolby stożkowej ze szlifem i suszyć nad bezwodnym MgSO₄.

Odsączyć środek suszący, usunąć rozpuszczalnik na wyprace rotacyjnej. Pozostałość rozpuścić w niewielkiej ilości octanu etylu, przenieść roztwór do zważonej fiolki i ponownie odparować rozpuszczalnik do sucha na wyparce. Oznaczyć czystość preparatu.