

Redukcja waniliny katalizowana za pomocą drożdży piekarskich

Materialy:

Drożdże piekarskie
Wanilina
Woda ciężka (D₂O)
Sacharoza
Eter dietylowy
Eter naftowy
Solanka
Bezwodny siarczan (VI) sodu
Octan etylu
Toluen
Chlorek metylenu
Jod krystaliczny

WYKONANIE ĆWICZENIA

W kolbie Erlenmayera o pojemności 50 ml należy umieścić 10 ml wody ciężkiej (D₂O), 1 g sacharozy i 20 mg waniliny. Uzyskaną zawartość miesza się do rozpuszczenia składników. Następnie dodaje się 700 mg drożdży (do wyboru suszone, prasowane) i miesza na mieszadle magnetycznym przez 24 godziny. Po tym czasie dodaje się kolejną porcję drożdży (350 mg) a uzyskaną mieszaninę pozostawia się w temperaturze pokojowej do następnych zajęć. Drożdże usuwa się przez wirowanie (5000 obr./min, 5 min) i przeprowadza się ekstrakcję supernatantu trzema porcjami (po 20 ml) eteru etylowego. Uzyskaną fazę organiczną należy przemyć 10 ml wody oraz 10 ml solanki i wysuszyć za pomocą bezwodnego siarczanu (VI) sodu. Po usunięciu środka suszącego eter etylowy usuwa się na wyparce obrotowej a powstały olej rozpuszcza się w 1 ml chlorku metylenu. Rozpuszczalnik usuwa się na wyparce obrotowej a suchą pozostałość (biały produkt) przemywa się 2 ml mieszaniny octanu etylu i eteru naftowego (1:4 v/v). Uzyskany produkt analizuje się za pomocą spektroskopii NMR (widma ¹H, ¹³C) i chromatografii cienkowarstwowej. Należy wykonać także widmo NMR dla waniliny przed biotransformacją.

CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA

Przygotowane wodne roztwory waniliny i produktu biotransformacji należy nanieść na płytkę TLC. Chromatogram rozwijać w eluencie będącym mieszaniną octanu etylu i toluenu w stosunku objętościowym 1:1 (v/v). Wysuszoną płytkę należy wywołać za pomocą par jodu.

ANALIZA PRÓBKII METODĄ NMR

Okolo 5 mg waniliny rozpuścić w 600 µL wody ciężkiej a uzyskany roztwór przenieść do próbówki NMR. Identycznie postąpić z produktem reakcji biotransformacji, produkt reakcji należy rozpuścić w 600 µL wody ciężkiej, przenieść do próbówki NMR. Wykonać widma ¹H oraz ¹³C NMR

SPRAWOZDANIE

W sprawozdaniu należy podać krótki opis wykonywanych czynności (nie przepisywać z instrukcji!), przedstawić ilości użytych odczynników oraz przebiegającą reakcję chemiczną. Dodatkowo należy przeprowadzić analizę uzyskanych widm NMR z zaznaczeniem protonów charakteryzowanych poszczególnymi sygnałami. Z uwagi na stosowanie różnych drożdży przez różne grupy ćwiczeniowe, należy porównać i skomentować uzyskane wyniki biotransformacji.