

Uniwersytet im. Adama Mickiewicza

Wydział Chemii



Chemia produktów naturalnych – – izolacja, modyfikacja i synteza

Opracowanie: Agnieszka Grajewska, Anna K. Przybył,
Maria Chrzanowska i Joanna Kurek

Wydanie III zmienione

Poznań 2020

ISBN 978-83-62783-13-7

Spis treści	<i>strona</i>
Wstęp	4
1. Izolacja aldehydu cynamonowego z kory cynamonowca	5
2. Izolacja kwasu cytrynowego z cytryny	9
3. Eugenol	13
3.1. Izolacja eugenolu z goździków	13
3.2. Synteza eugenolu	14
3.2.1. O-Allilogwajakol	14
3.2.2. Eugenol	15
4. Anetol	17
4.1. Izolacja anetolu z nasion anyżu	17
4.2. Utlenianie anetolu do kwasu anyżowego	18
5. Lipidy	21
5.1. Izolacja trimirystyny z gałki muszkatołowej i oznaczanie liczby estrowej	21
5.2. Kwas mirystynowy z trimirystyny	25
5.3. Mirystynian metylu (mirystynian etylu) z kwasu mirystynowego	28
5.4. Alkohol mirystynowy	31
5.5. Izolacja kwasów tłuszczowych z migdałów i oznaczanie liczby jodowej	33
5.6. Izolacja kwasów tłuszczowych z wiórków kokosowych i oznaczanie liczby jodowej	37
5.7. Izolacja masła kakaowego z gorzkiej czekolady	39
5.8. Otrzymywanie mydeł sodowych i potasowych	42
6. Węglowodany	46
6.1. Laktoza z mleka	46
6.2. D-Galaktoza z laktozy	49
6.3. 1,2,3,4,6-Penta-O-acetylo- α -D-glukopiranoza	52
6.4. Łączenie zapachów i kolorów – formowanie mikrokapsulek alginianowych	54
7. Alkaloidy purynowe	57
7.1. Izolacja teobrominy z kakao	57
7.2. Metylowanie teobrominy do kofeiny	61
8. Terpeny	65
8.1. Izolacja olejku kminkowego	65
8.2. Izolacja olejku mięty pieprzowej	68
8.3. Izolacja olejku rozmarynowego	71
8.4. Izolacja olejku imbirowego	74

8.5. Linalol	76
8.5.1. Izolacja linalolu z nasion kolendry	76
8.5.2. Synteza linalolu	78
8.5.3. Synteza eteru benzylowego linalolu	80
8.5.4. Izolacja olejku lawendowego	82
9. Benzylidenoacetofenon (chalkon)	85
10. 1,5-Difenylopenta-2,4-dien-1-on (analog chalkonu)	88
11. Synteza flawonu	90
11.1. <i>o</i> -Benzoiloksyacetofenon	90
11.2. <i>o</i> -Hydroksydibenzoilometan	94
11.3. Flawon	97
12. Kurkuminoidy	100
12.1. Izolacja kurkuminoidów z kurkumy	100
12.2. Synteza kurkuminy	101
13. Izolacja kapsantyny ze słodkiej papryki	103
14. Izolacja olejku z kocimiętki (nepetalakton)	106
15. Literatura	108

Wstęp

Chemia produktów naturalnych związana jest z naturą i jej zjawiskami. Całe nasze otoczenie, z wyjątkiem minerałów i materiałów syntetycznych, składa się z produktów pochodzenia naturalnego. Studia „chemiczne” w obszarze produktów naturalnych, w tym pozyskiwania substancji aktywnych biologicznie, rozpoczęło tysiące lat temu. Tradycyjna chemia produktów naturalnych obejmuje wyizolowanie składnika aktywnego z materiału roślinnego czy też zwierzęcego a następnie określenie jego struktury i potwierdzenie jej na drodze syntezy totalnej. Kolejny krok to zbadanie jego aktywności biologicznej. Zainteresowanie związkami pochodzenia naturalnego przyczyniło się w znacznym stopniu do rozwoju całej chemii organicznej – metod izolacji i identyfikacji związków a także metod syntezy. Przykładowo, izolowanie olejków eterycznych z roślin, stosowanych m. in. jako perfumy, przyczyniło się do udoskonalenia technik destylacji. Rozwój chemii produktów naturalnych związany jest też w dużym stopniu z rozwojem medycyny naturalnej, a w szczególności z roślinami leczniczymi, które ludzkość stosowała od bardzo dawna i kierunek ten jest nadal kontynuowany. Można zaryzykować stwierdzenie, iż chemia produktów naturalnych stanowiła i nadal stanowi siłę napędową rozwoju chemii organicznej.

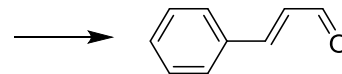
Zajęcia z chemii produktów naturalnych zostały wprowadzone do programu studiów na Wydziale Chemii UAM w roku akademickim 2005/2006. Początkowo odbywały się w formie wykładów, później wzbogacone zostały o ćwiczenia laboratoryjne. Pierwsze materiały do ćwiczeń laboratoryjnych zostały umieszczone w Wielkopolskiej Bibliotece Cyfrowej w 2010 roku. Niniejszy skrypt jest kolejnym zmodyfikowanym wydaniem i zawiera wybór ćwiczeń dotyczących m. in. takich grup produktów naturalnych jak lipidy, terpeny, węglowodany, czy też alkaloidy. Część ćwiczeń obejmuje izolację substancji aktywnych z materiału roślinnego, pozostałe – syntezę konkretnych związków. Do opisów ćwiczeń dołączone są dane spektroskopowe. W tym wydaniu skryptu umieszczone są nowe ćwiczenia (nr 3, 4, 7.2, 8.5.1-8.5.3, 10, 12, 13, 14) opracowane przez dr Agnieszkę Grajewską. Skrypt przeznaczony jest dla studentów studiów stacjonarnych I stopnia oraz studentów studiów stacjonarnych II stopnia specjalności chemia kosmetyczna Wydziału Chemii UAM a także wszystkich zainteresowanych chemią produktów naturalnych.



1. Izolacja aldehydu cynamonowego z kory cynamonowca



SPROSKOWANA KORA CYNAMONOWCA



ALDEHYD CYNAMONOWY

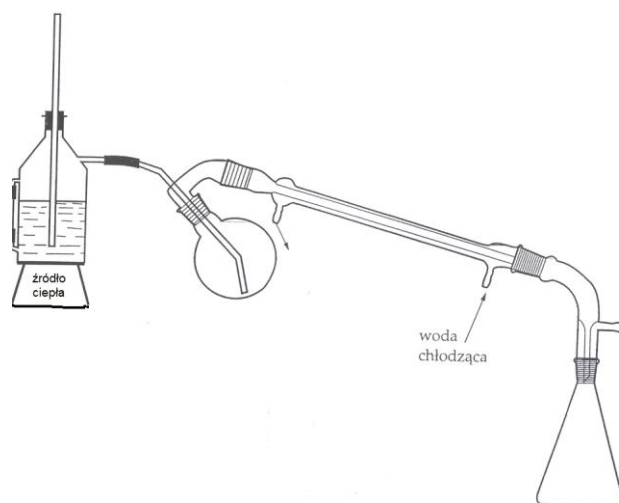
Odczynniki:

kora cynamonowca	30 g
octan etylu lub chloroform	250 mL
KOH	28 g
chlorowoderek hydroksyloaminy	4 g
bezw. Na ₂ SO ₄	
alkohol etylowy	580 mL
błękit bromofenolowy	0,4 g
NaOH	2 g
0.5 M HCl	

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
rozdzielacz poj. 250 mL
kolba okrągłodenna poj. 250 mL
zlewka poj. 250 mL
biureta 50 mL
chłodnica zwrotna

Zestaw do destylacji z parą wodną



Celem ćwiczenia jest pozyskanie ze sproszkowanej kory cynamonowca olejku, którego głównym składnikiem jest aldehyd cynamonowy, następnie oznaczenie liczby karbonylowej otrzymanego olejku.

Proces prowadzić pod sprawnie działającym wyciągiem.

Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na powyższym rysunku. W kolbie umieścić 30 g kory cynamonowca i dodać 100-150 mL wody destylowanej. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 300 mL destylatu. Destylat

przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chloroformem lub octanem etylu (5 x 50 mL). Otrzymane ekstrakty połączyć i suszyć nad bezwodnym siarczanem sodu (ok. 30 min., mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego). Następnie odsączyć środek suszący, przesącz zatężyć pod zmniejszonym ciśnieniem w kolbie o oznaczonej masie. Obliczyć zawartość otrzymanego olejku w korze cynamonowca. Aldehyd cynamonowy – żółta ciecz o t.wrz. 248 °C.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

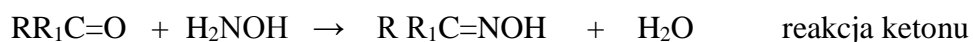
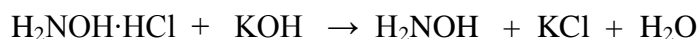
Eluent: chlorek metylenu.

Na płytkę TLC nanieść wzorce: aldehyd benzoesowy, aldehyd cynamonowy. Po rozwinięciu i wysuszeniu płytki sprawdzić rezultat pod lampą UV. Na podstawie analizy TLC określić, który ze składników (aldehyd benzoesowy, aldehyd cynamonowy) jest obecny w badanym olejku.

OZNACZANIE LICZBY KARBONYLOWEJ

Liczba karbonylowa została wprowadzona do analizy olejków eterycznych przez Stillmana i Reeda w 1934 roku. Oznaczeniu podlegają grupy karbonylowe aldehydów i ketonów znajdujące się w danym olejku.

Liczba karbonylowa (L.karb.) jest to ilość miligramów wodorotlenku potasowego równoważna takiej ilości hydroksyloaminy, która jest potrzebna do przeprowadzenia w oksymy aldehydów i ketonów znajdujących się w 1 g olejku.



Otrzymanie roztworu do wykonania oznaczenia liczby karbonylowej.

Przygotować roztwór indykatora (błękitu bromofenolowego) **A**, który w kolejnym etapie zostanie dodany do roztworu chlorowodoru hydroksyloaminy **B**.

Roztwór **A**: w zlewce w wymieszać 0,1 g błękitu bromofenolowego z 3 mL 0,05 M wodorotlenku sodu. Mieszaninę rozcieńczyć wodą do objętości 25 mL.

Roztwór **B**: 4 g chlorowodoru hydroksyloaminy rozpuścić w 4 mL wody i dodać 40 mL alkoholu etylowego.

Następnie, mieszając, do roztworu **B** dodać 30 mL 0,5 M alkoholowego roztworu wodorotlenku potasu i 5 mL roztworu **A**. Nierozpuszczone składniki odsączyć na zwykłym lejku. Tak przygotowany roztwór **AB** stosuje się do oznaczania liczby karbonylowej w badanym olejku.

Na wykonanie oznaczenia 1 g badanego olejku potrzeba 74 mL roztworu **AB**.

WYKONANIE OZNACZENIA LICZBY KARBONYLOWEJ

Do 1 g olejku dodać 37 mL roztworu **AB** i ogrzewać do wrzenia na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną przez 1 godzinę. Następnie, po oziębieniu mieszaniny odmiareczkować nadmiar nieprzereagowanych zasad (wodorotlenek potasu, hydroksyloamina) 0,5 M kwasem solnym (zmiana barwy z fioletowej na żółtą). Równocześnie przeprowadzić oznaczenie kontrolne dla samego roztworu **AB** (37 mL).

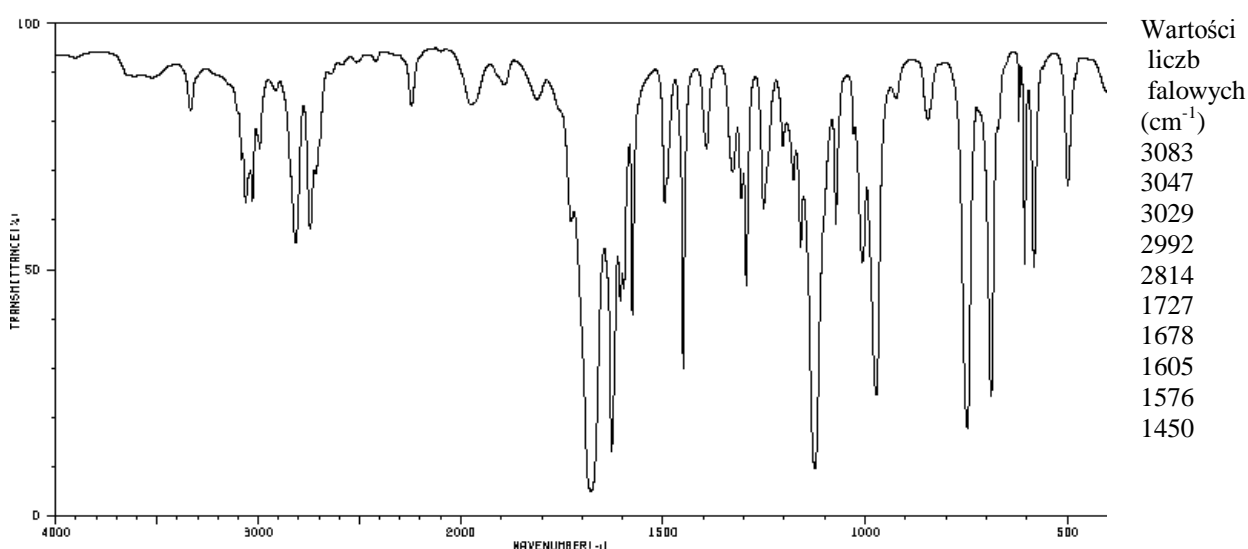
Przy założeniu, że 1 cząsteczka wodorotlenku potasu odpowiada 1 cząsteczce hydroksyloaminy, **liczbę karbonylową** oblicza się ze wzoru:

$$L.\text{karb.} = \frac{(B - A) \cdot 28}{S}$$

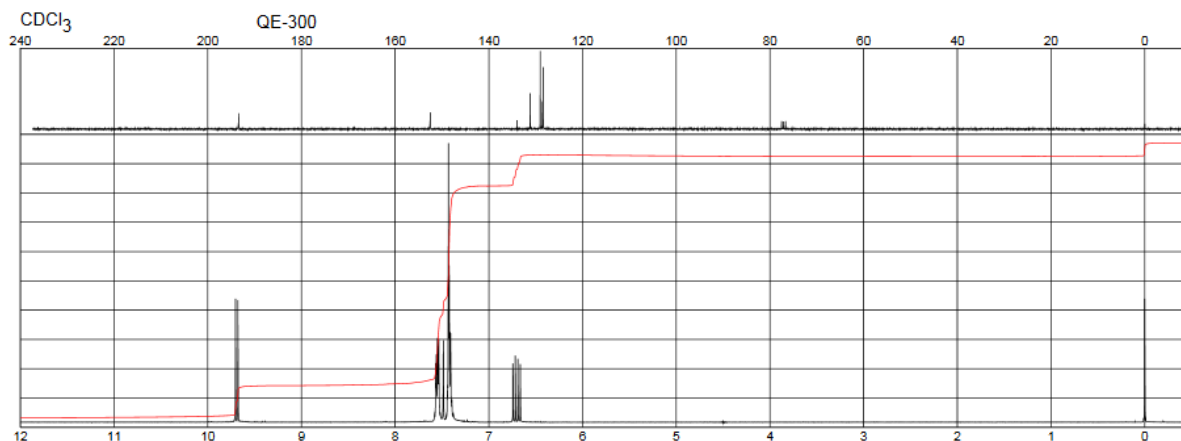
A – liczba mL 0,5 M roztworu kwasu solnego zużytego do miareczkowania badanej próbki
B – liczba mL 0,5 M roztworu kwasu solnego zużytego w próbie kontrolnej
S – ilość olejku w gramach

Dane spektroskopowe aldehydu cynamonowego

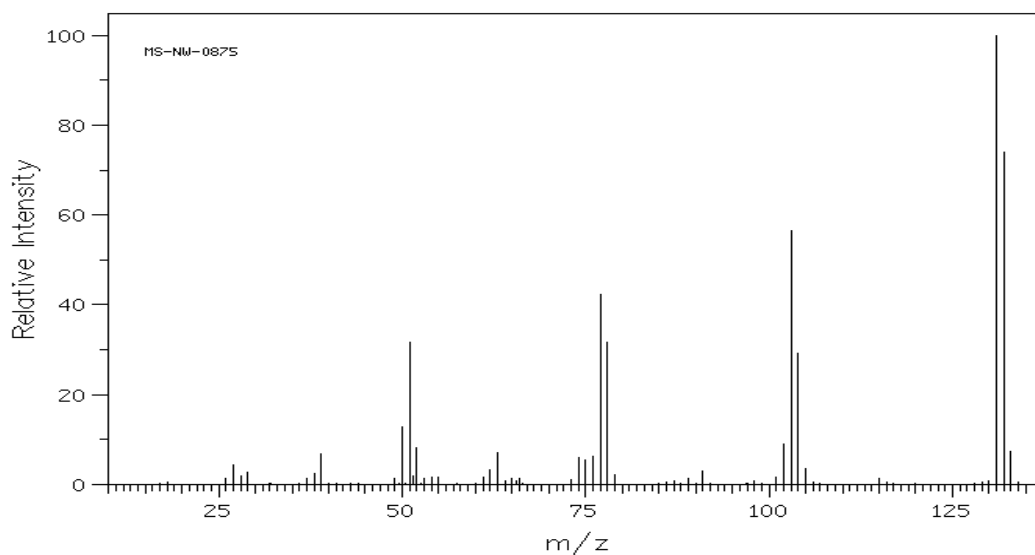
Widmo IR (film)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



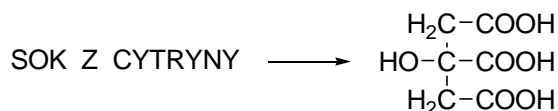
Widmo EI-MS ($M=132,2$ g/mol)



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowców roślinnych
- Destylacja z parą wodną: podstawy fizyczne i zastosowanie
- Aldehydy (reaktywność)
- Reaktywność związków zawierających wiązanie podwójne węgiel-węgiel
- Analiza widm produktu

2. Izolacja kwasu cytrynowego z cytryny



Odczynniki:

sok z cytryny (3 cytryny - ok. 100 mL)
chlorek wapnia 5 g
10% CaCl_2
2 M H_2SO_4
2 M HCl
2 M NaOH
Celit

Aparatura i szkło:

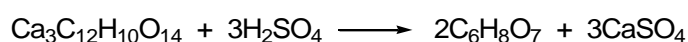
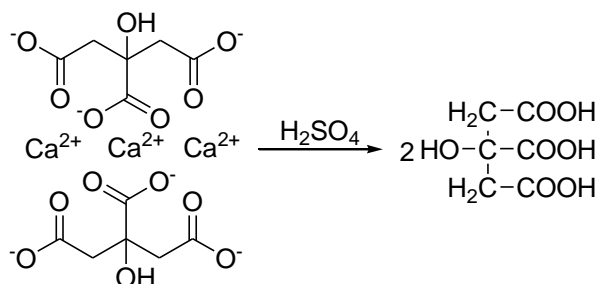
mieszadło magnetyczne
zlewka poj. 250 mL (3 szt.)
cylinder miarowy (2 szt.)
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
kolba poj. 100 mL
pipety (2 szt.)
pipetki Pasteura
zlewka poj. 50 mL
bagietka szklana

100 mL Soku z cytryny (bez pestek i miąższu) wlać do zlewki (poj. 250 mL) i mieszać na mieszadle magnetycznym. Następnie do zlewki ostrożnie dodawać 2 M NaOH , aż do odczynu lekko alkalicznego. Rozpoznanie tego momentu ułatwia zmiana zabarwienia roztworu z żółtej na lekko pomarańczową ($\text{pH} = 8$, odczyn roztworu sprawdzić za pomocą uniwersalnego papierka wskaźnikowego).

Mieszaninę przesączyć na lejku Büchnera z ziemią okrzemkową (Celit). Do lejka włożyć sączonek i warstwę ziemi okrzemkowej, którą należy dokładnie ubić na grubość 0,5 cm i na wierzch położyć kolejny sączonek. Na tak przygotowany lejek wylać mieszaninę. Klarowny przesącz przelać do zlewki i stopniowo dodawać 50 mL 10% roztworu CaCl_2 , cały czas mieszając na mieszadle magnetycznym.

Powstały cytrynian wapnia ($\text{Ca}_3\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{O}_{14}$) odsączyć na lejku Büchnera i osad przemyć niewielką ilością wrzącej wody. W celu oczyszczenia surowego cytrynianu wapnia należy go rozpuścić całkowicie na zimno w 5-10 mL 2 M HCl , następnie do roztworu powoli wkropić 2 M NaOH do $\text{pH} = 7,5$ (odczyn roztworu sprawdzić za pomocą uniwersalnego papierka wskaźnikowego) i całość ogrzać do wrzenia. Odsączyć wydzielony osad cytrynianu wapnia na lejku Büchnera i wysuszyć go na powietrzu.

Otrzymywanie kwasu cytrynowego z cytrynianu wapnia



W celu przekształcenia soli w kwas, należy do otrzymanego cytrynianu wapnia dodać kwas siarkowy, w ilości wynikającej ze stechiometrii reakcji z uwzględnieniem stężenia roztworu kwasu siarkowego (2 M roztwór H_2SO_4), aż do uzyskania klarownego roztworu (maksymalna objętość około 100 mL).

Dokładnie wymieszać szklaną bagietką i odstawić mieszaninę na kilka minut. Następnie odsączyć wytrącony osad CaSO_4 i przesącz zatężyć przez odparowanie wody na wyparce, do objętości ok. 10 mL. Zatężony roztwór pozostawić do krystalizacji na okres jednego tygodnia.

Otrzymane bezbarwne kryształki kwasu cytrynowego odsączyć, wysuszyć na powietrzu i zważyć. Przesącz pozostawić w celu otrzymania drugiej porcji kryształów. Obliczyć zawartość kwasu cytrynowego w soku z cytryny. Zmierzyć temperaturę topnienia (lit. t.t. 152-154 °C).

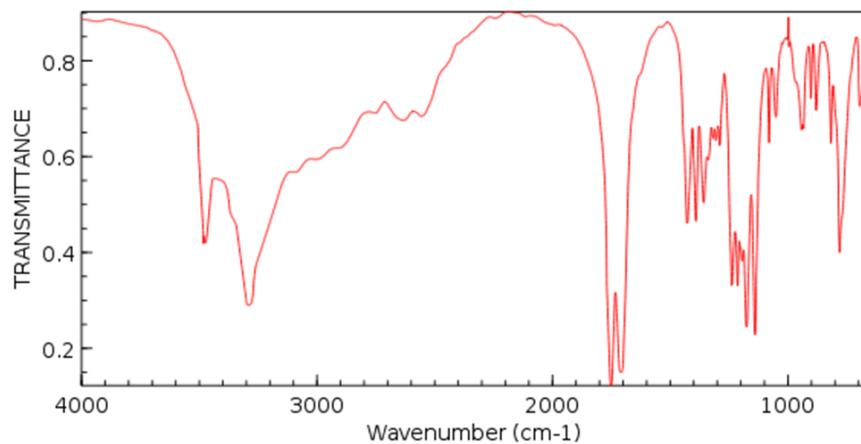
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluenty: metanol-amoniak (5:2, v/v); heksan-octan etylu-etanol (3:3:1, v/v/v).

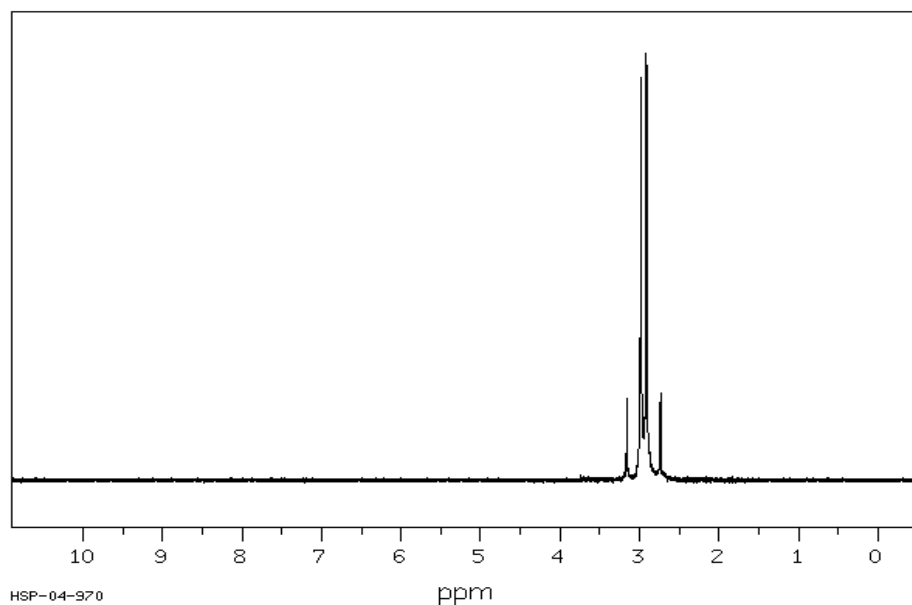
Na płytkę TLC nanieść wzorzec kwasu cytrynowego, otrzymany produkt oraz kroplę przesączu pozostawionego do krystalizacji. Po rozwinięciu i wysuszeniu płytkę TLC wywołać termicznie poprzez lekkie podgrzanie na płytce elektrycznej.

Dane spektroskopowe kwasu cytrynowego

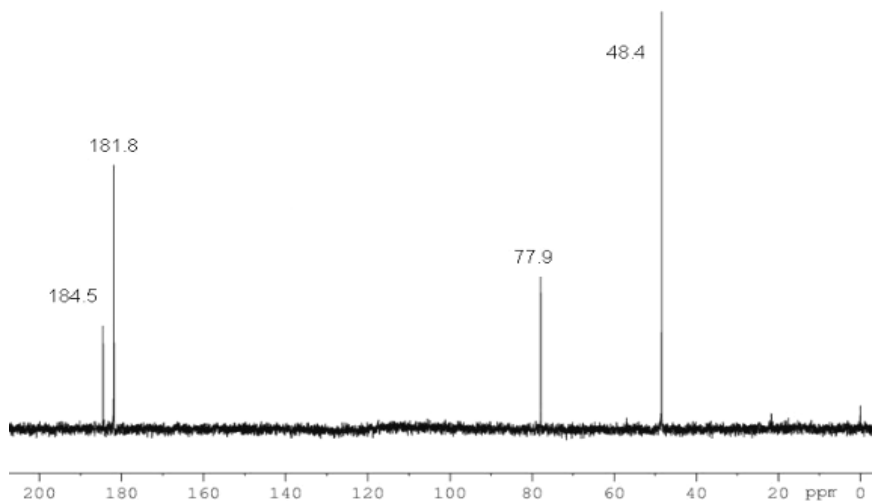
Widmo IR (KBr)



Widmo ^1H NMR w D_2O (90 MHz)



Widmo ^{13}C NMR w D_2O (100 MHz)



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowców roślinnych
- Kwasy karboksylowe: metody otrzymywania i reaktywność
- Cykl Krebsa
- Analiza widm produktu

Literatura

Penniston K. L., Nakada S. Y., Holmes R. P., Assimos D. G. "Quantitative Assessment of Citric Acid in Lemon Juice, Lime Juice, and Commercially-Available Fruit Juice Products" *J. Endourol.* **2008**, 22, 567-570.

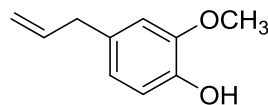
Lucas J. M., Kaneko J. J., Hirohara K., Kleiber M. "Separation of Milk Components, Chromatographic Isolation of Citric Acid and Lactose from Skim Milk" *J. Agric. Food Chem.* **1959**, 7, 638-639.

3. Eugenol

3.1. Izolacja eugenolu z goździków



GOŹDZIKI



Odczynniki:

goździki	15 g
chlórek metylenu	160 mL
bezw. Na ₂ SO ₄	
bezw. CaCl ₂	

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
kolba stożkowa poj. 250 mL (2 szt.)
lejek
rozdzielacz poj. 250 mL

Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1, str. 5. W kolbie umieścić 15 g goździków i 100 mL wody. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 150 mL destylatu. Destylat przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chlorkiem metylenu (4 x 40 mL). Otrzymane ekstrakty organiczne połączyć i suszyć nad bezw. chlorkiem wapnia lub siarczanem sodu. Następnie odsączyć środek suszący i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Obliczyć zawartość otrzymanego olejku w goździkach. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i porównać otrzymany produkt ze wzorcem eugenolu otrzymanym w wyniku syntezy z gwajakolu (ćwicz. 3.2.).

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: heksan-octan etylu (9:1, v/v).

Zagadnienia

- Metody pozyskiwania olejków eterycznych z materiału roślinnego
- Destylacja z parą wodną: podstawy fizyczne i zastosowanie
- Zastosowanie eugenolu i jego pochodnych
- Analiza widm eugenolu (ćwiczenie 3.2.2.)

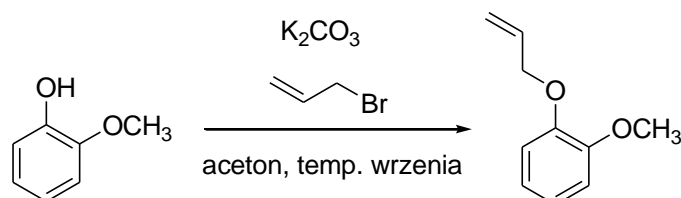
3.2. Synteza eugenolu

Synteza eugenolu przebiega w dwóch etapach:

Etap 1 *O*-Allilogwajakol (1-alliloksy-2-metoksybenzen)

Etap 2 Eugenol

3.2.1. *O*-Allilogwajakol (1-alliloksy-2-metoksybenzen)



Odczynniki:

gwajakol (2-metoksyfenol)	1,0 g
bezw. K ₂ CO ₃	2,2 g
bezw. aceton	40 mL
bromek allilu	0,9 mL
Celit	

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
chłodnica zwrotna
czasza grzejna
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 mL, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i rurkę ze środkiem suszącym (CaCl₂) umieścić gwajakol (1,0 g) i rozpuścić go w 40 mL bezwodnego acetonu. Do roztworu dodać bezwodny K₂CO₃ (2,2 g) i bromek allilu (0,9 mL). Całość ogrzewać przez co najmniej 2 godziny w temperaturze wrzenia. Przebieg reakcji kontrolować za pomocą chromatografii cienkowarstwowej. Po zakończeniu reakcji mieszaninę przesączyć przez Celit i przesącz odparować pod zmniejszonym ciśnieniem. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i obliczyć wydajność reakcji. Uzyskany produkt użyć do kolejnego etapu syntezy bez dalszego oczyszczania [1]. Analityczną próbkę czystego produktu można uzyskać wykonując chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym [eluent: heksan-octan etylu (9:1 v/v)].

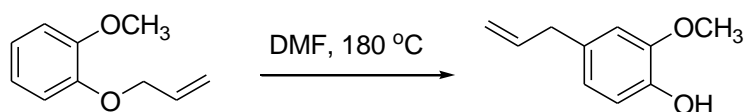
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: heksan-octan etylu (9:1, v/v).

Uwagi

[1] W przypadku stwierdzenia obecności gwajakolu w surowym produkcie, należy go rozpuścić w octanie etylu i przeprowadzić ekstrakcję za pomocą 10% roztworu wodorotlenku sodu (3 x 10 mL). Warstwę organiczną przemyć wodą i suszyć nad bezwodnym Na₂SO₄. Środek suszący odsączyć i rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i obliczyć wydajność reakcji.

3.2.2. Eugenol



Odczynniki:

O-allilogwajakol 1,0 g
DMF 5 mL
octan etylu
eter dietylowy

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
chłodnica zwrotna
czasza grzejna

O-Allilogwajakol (1-alliloksy-2-metoksybenzen) (1,0 g) rozpuścić w DMF (5 mL) i ogrzewać w temperaturze 180 °C pod chłodnicą zwrotną [1] przez 12-24 h. Po zakończeniu reakcji mieszaninę rozcieńczyć wodą i ekstrahować octanem etylu lub eterem dietylowym (3 x 10 mL). Połączone ekstrakty organiczne przemyć nasyconym roztworem chlorku sodu i osuszyć nad bezwodnym Na₂SO₄. Odsączyć środek suszący i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Obliczyć wydajność reakcji. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i porównać otrzymany produkt z wzorcem eugenolu otrzymanym w wyniku destylacji goździków z parą wodną [2] (ćwicz. 3.1.).

Analityczną próbkę czystego produktu można uzyskać wykonując chromatografię kolumnową na żelu krzemionkowym [eluent: heksan-octan etylu (9:1 v/v)].

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: heksan-octan etylu (9:1, v/v).

Uwagi

[1] Zamiast zestawu: kolbka, chłodnica zwrotna i czasza grzejna można użyć grubościennej probówki ciśnieniowej ogrzewanej w łaźni olejowej umieszczonej na mieszadle magnetycznym.

[2] W przypadku stwierdzenia obecności nieprzereagowanego *O*-allilogwajakolu w surowym produkcie, eugenol można wyizolować za pomocą ekstrakcji kwasowo-zasadowej.

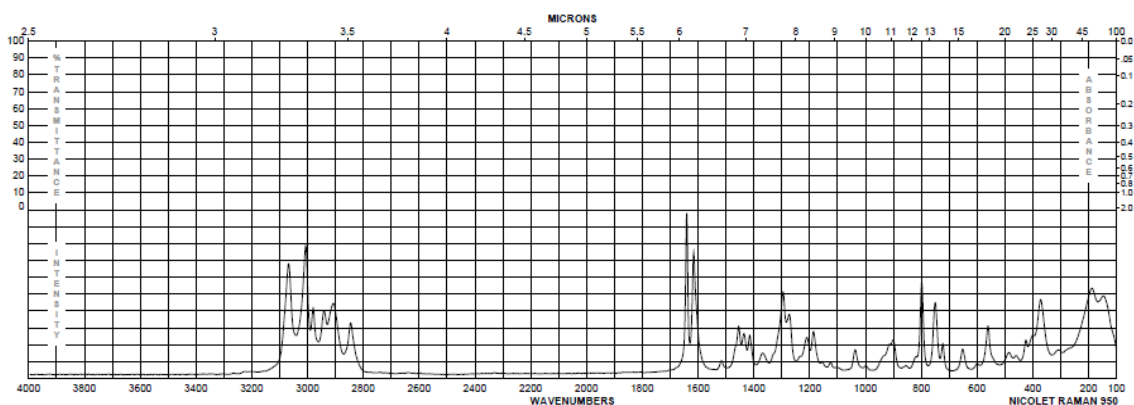
Surowy produkt należy rozpuścić w octanie etylu (10 mL) i przeprowadzić ekstrakcję za pomocą 10% roztworu wodorotlenku sodu (3 x 10 mL). Następnie połączone warstwy wodne zakwasić dodając 20% roztwór HCl (w razie potrzeby kolbę chłodzić w łaźni woda-lód)

Chemia produktów naturalnych

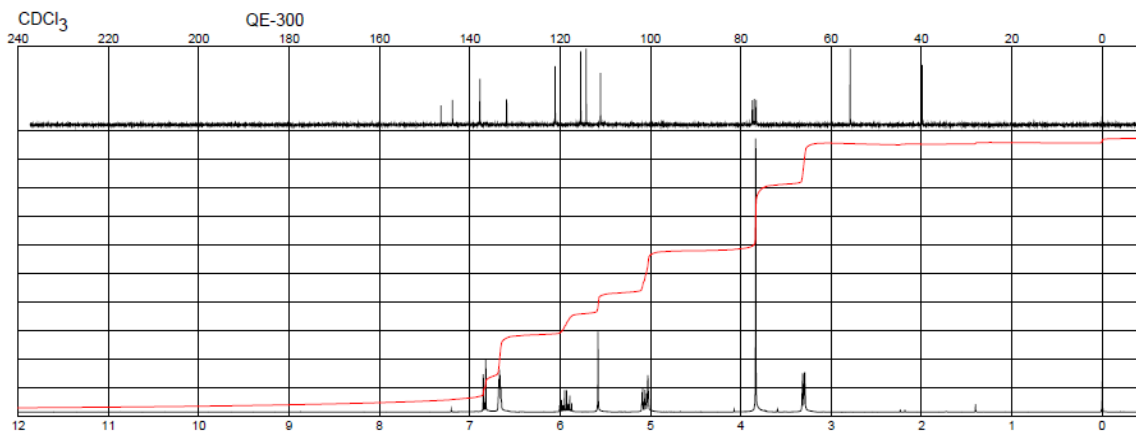
i kilkakrotnie ekstrahować octanem etylu. Połączone warstwy organiczne przemyć wodą i suszyć nad bezwodnym Na_2SO_4 . Odsączyć środek suszący i rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i obliczyć wydajność reakcji.

Dane spektroskopowe eugenolu

Widmo Ramana (katalog Sigma Aldrich)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

- Mechanizm syntezy eugenolu (2 etapy)
- Reakcje fenoli, kwasowość fenoli
- Zastosowanie eugenolu i jego pochodnych
- Analiza widm substratu i produktu

Literatura

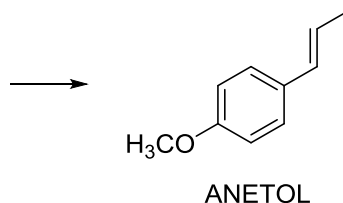
- Ntamila M. S., Hassanali A. *J. Chem. Educ.* **1976**, 53 (4), 263.
Yoshida M., Higuchi M., Shishido K. *Org. Lett.* **2009**, 11(20), 4752-4755.
Allen C. F. H., Gates Jr. J. W. *Organic Syntheses, Coll.* **1955**, 3, 418.

4. Anetol

4.1. Izolacja anetolu z nasion anyżu



ANYŻ



Odczynniki:

nasiona anyżu	15 g
chlork metylenu bezw. Na ₂ SO ₄	160 mL

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
kolba stożkowa poj. 250 mL (2 szt.)
lejek
rozdzielacz poj. 250 mL

Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1, str. 5. W kolbie umieścić 15 g nasion anyżu i 100 mL wody. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 150 mL destylatu. Destylat przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chlorkiem metylenu (4 x 40 mL). Otrzymane ekstrakty organiczne połączyć i suszyć nad bezw. siarczanem sodu. Środek suszący odsączyć i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Obliczyć zawartość otrzymanego olejku w nasionach anyżu. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i porównać otrzymany produkt z syntetycznym wzorcem anetolu.

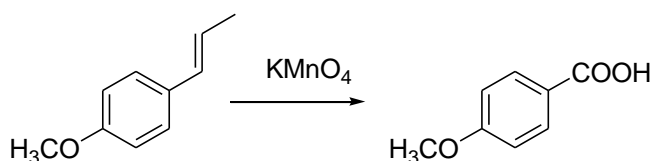
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluenty: chloroform-metanol lub chlork metylenu-metanol (9:1, v/v)

Zagadnienia

- Metody pozyskiwania olejków eterycznych z materiału roślinnego
- Destylacja z parą wodną: podstawy fizyczne i zastosowanie
- Zastosowanie anetolu i jego pochodnych
- Analiza widm anetolu i jego pochodnych (NMR alkenów; izomery *cis-trans*, stałe sprzężenia)

4.2. Utlenianie anetolu do kwasu anyżowego (kwasu *p*-metoksybenzoesowego)



Odczynniki:

anetol	0,5 g
nadmanganian potasu	2,0 g
1M kwas siarkowy(VI)	
wodorosiarczyn sodu	1,0 - 2,0 g
dioksan	10 mL

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
chłodnica zwrotna
łaźnia wodna
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

W kolbie okrągłodennej umieścić 2,0 g KMnO₄ i dodać 40 mL wody. Do roztworu dodać wcześniej przygotowany roztwór 500 mg anetolu (wyzolowanego z nasion anyżu) w 10 mL dioksanu. Całość mieszać w temperaturze wrzenia przez 1 godzinę. Następnie, w temperaturze pokojowej, dodawać 1M kwas siarkowy(VI) do momentu wytrącenia się kwasu anyżowego. W przypadku stwierdzenia obecności MnO₂ (brązowy osad) dodać 1,0-2,0 g stałego NaHSO₃ i całość mieszać w temperaturze pokojowej przez kilka minut [1]. Surowy produkt odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem i przemyć zimną wodą.

W przypadku stwierdzenia obecności anetolu w surowym produkcie, surowy produkt należy rozpuścić w octanie etylu i przeprowadzić trzykrotną ekstrakcję za pomocą 1M roztworu wodorotlenku sodu. Połączone warstwy wodne zakwasić za pomocą 1M kwasu siarkowego(VI). Wytrącony kwas anyżowy odsączyć i przemyć zimną wodą. Dodatkową ilość kwasu anyżowego można wyizolować w wyniku ekstrakcji kwaśnej fazy wodnej chlorkiem metylenu. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i obliczyć wydajność reakcji. Produkt krystalizować z wody. Temperatura topnienia kwasu anyżowego: 182-185 °C.

Uwagi

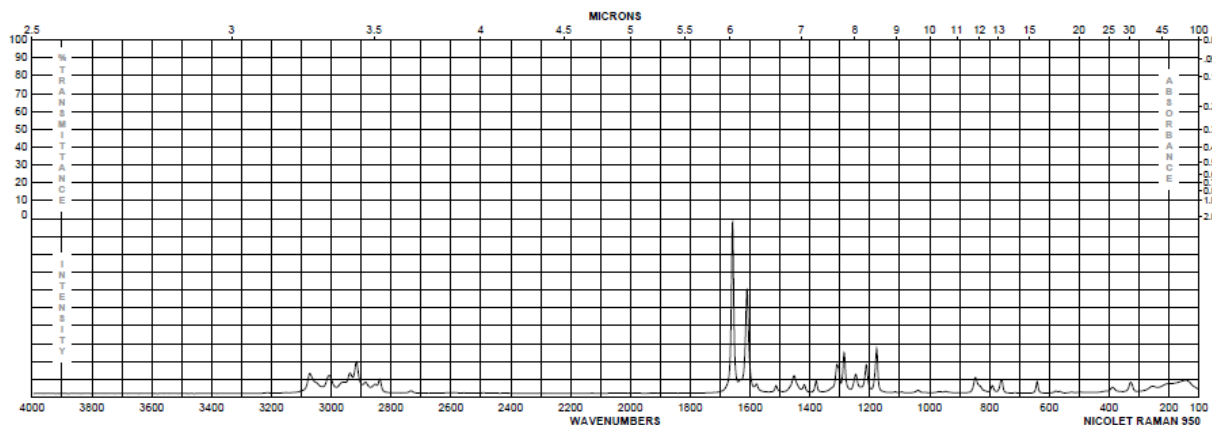
[1] Jeżeli osad nie wytrąci się, należy wyizolować produkt przez ekstrakcję fazy wodnej chlorkiem metylenu.

Chromatografia cienkowarstwową (TLC)

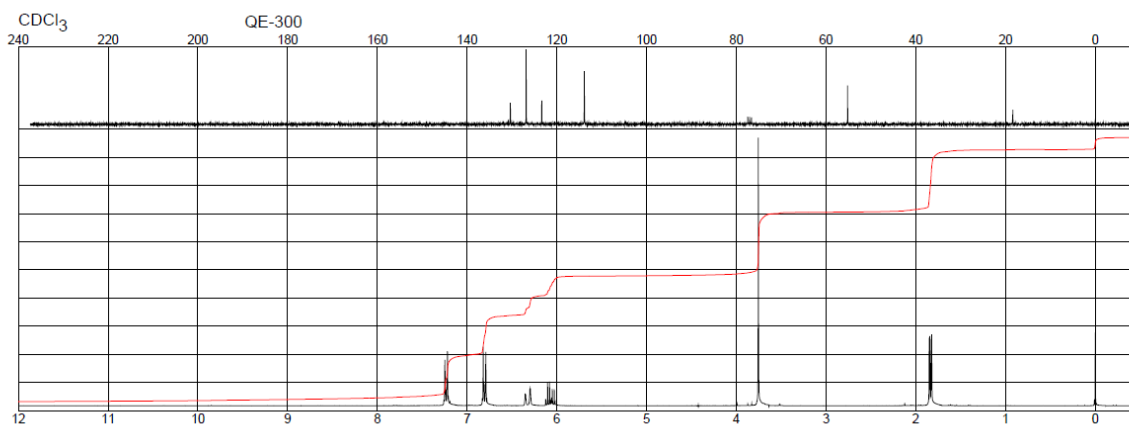
Eluenty: chloroform-metanol; chlorek metylenu-metanol (9:1, v/v)

Dane spektroskopowe anetolu

Widmo Ramana (katalog Sigma Aldrich)

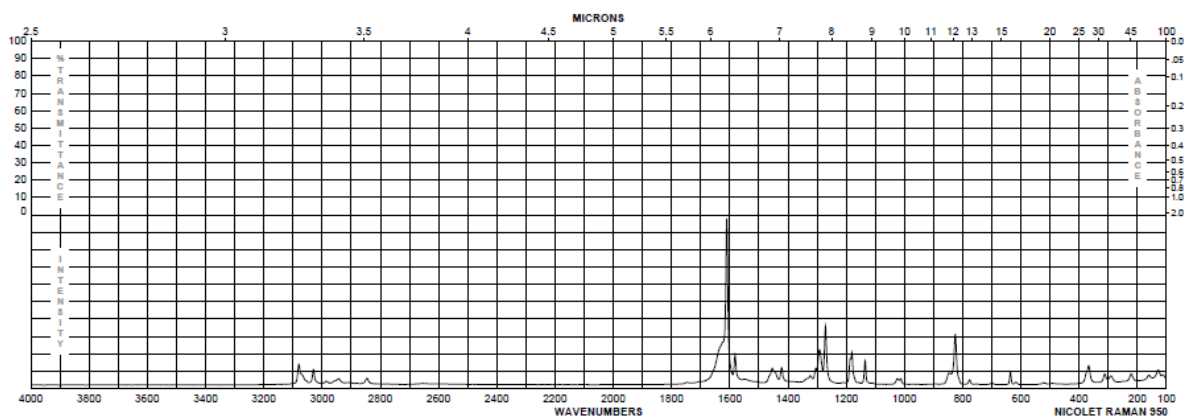


Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)

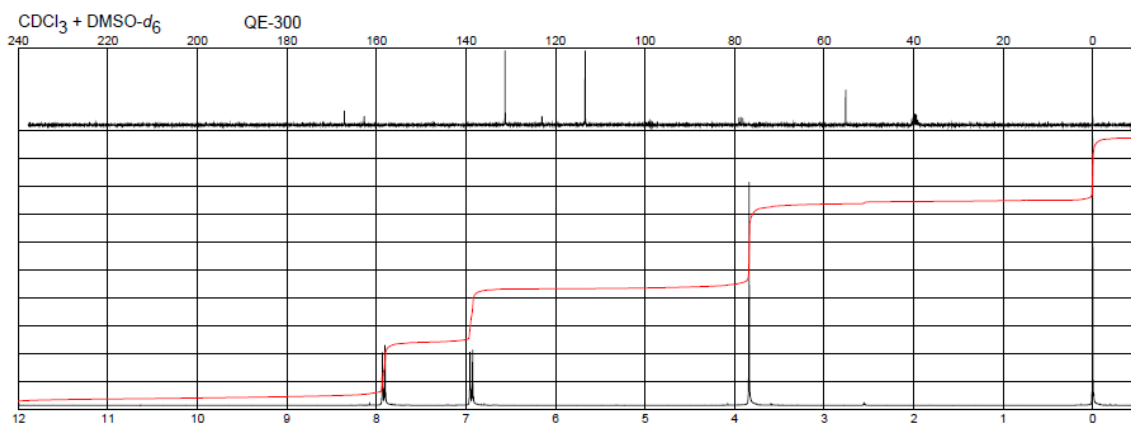


Dane spektroskopowe kwasu anyżowego

Widmo Ramana (katalog Sigma Aldrich)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 w DMSO-d_6 (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

- Spektroskopia substratu i produktu (NMR alkenów; izomery *cis-trans*, stałe sprzężenia)
- Utlenianie pochodnych benzenu
- Kwasy karboksylowe: synteza i reaktywność
- Anetol i kwas anyżowy: występowanie i zastosowanie

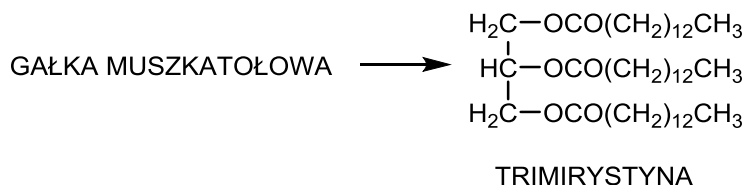
Literatura

LeFevre J. W. *J. Chem. Educ.* **2000**, 77 (3), 361-363.

Garin D. L. *J. Chem. Educ.* **1980**, 57 (2), 138.

5. Lipidy

5.1. Izolacja trimirystyny z gałki muszkatołowej i określanie liczby estrowej



Odczynniki:

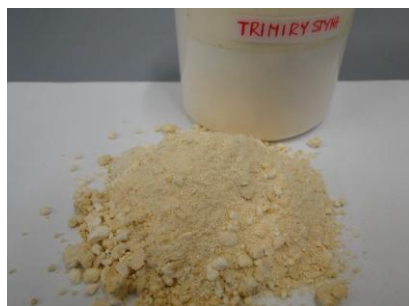
gałka muszkatołowa	40 g
eter dietylowy	100 mL
aceton	50 mL
fenoloftaleina	
KOH	0,28 g
etanol	150 mL

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 250 mL
 chłodnica zwrotna
 czasza grzejna na kolbę o poj. 250 mL
 biureta 50 mL
 kolba miarowa poj. 500 mL
 kolby stożkowe poj. 250 mL (3 szt.)
 zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
 zlewki poj. 200 mL i 400 mL

Celem ćwiczenia jest wyizolowanie lipidu – **trimirystyny**, zawartego w gałce muszkatołowej. W celu scharakteryzowania otrzymanego lipidu należy także określić wartość liczby estrowej trimirystyny.

W kolbie okrągłodennej o pojemności 250 mL umieścić zawiesinę 40 g zmielonej gałki muszkatołowej w 100 mL eteru dietylowego i ogrzewać łagodnie do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 1 godzinę. Następnie kolbę należy ochłodzić, ekstrakt odsączyć od nierozpuszczalnych pozostałości, eter odparować pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce obrotowej. Dodać 50 mL acetonu i mieszaninę wstawić na 1 godzinę do lodówki. Czysty związek, w postaci ciała stałego o kremowej barwie odsączyć i suszyć na powietrzu. Zważyć i obliczyć zawartość trimirystyny w gałce muszkatołowej. Średnio otrzymuje się 6-8 g związku. Zmierzyć temperaturę topnienia (lit. t.t. 59-60 °C).



OZNACZANIE LICZBY ESTROWEJ

Liczba estrowa (LE) to liczba mg wodorotlenku potasu potrzebnego do zobojętnienia wolnych kwasów tłuszczowych i zmydlenia estrów znajdujących się w 1 g tłuszczu.

Liczba ta ma szczególną wartość w badaniu tłuszczów (a także olejków) i jest ich cechą charakterystyczną.

Liczbę estrową oznacza się ogrzewając tłuszcz pod chłodnicą zwrotną z mianowanym roztworem 0,5 M alkoholowego roztworu wodorotlenku potasu lub sodu, aż do osiągnięcia całkowitego zmydlenia. Następnie odmiareczkuje się nadmiar wodorotlenku mianowanym roztworem kwasu.

WYKONANIE OZNACZENIA

Do 1 g tłuszczu (odważonego z dokładnością do 0,01g) umieszczonego w kolbie o pojemności 100 mL dodać 5 mL alkoholu etylowego, a następnie 5 kropli 1% etanolowego roztworu fenoloftaleiny (sporządzonego przez rozpuszczenie 0,5 g fenoloftaleiny w 48 mL EtOH). Następnie dodać 20 mL 0,5 M alkoholowego roztworu wodorotlenku potasu, aż do różowego zabarwienia roztworu. W przypadku zastosowania do oznaczenia mniejszej ilości tłuszczu należy odpowiednio zmniejszyć ilości dodawanych składników (alkoholu i alkoholowego roztworu wodorotlenku potasu). Roztwór ogrzewać pod chłodnicą zwrotną przez 1 godzinę w czaszy grzejnej. Po oziębieniu zawartości kolby do temperatury pokojowej odmiareczkować nadmiar nieprzereagowanego wodorotlenku 0,5 M roztworem kwasu solnego lub siarkowego. Odczytać z biurety objętość zużytego do miareczkowania roztworu kwasu.

OBLICZENIA

1 g Tłuszczu reaguje z 20 mL 0,5 M alkoholowego roztworu wodorotlenku potasu lub sodu w wyniku czego dochodzi do zmydlenia lipidu/estru i wytworzenia soli sodowej lub potasowej (mydła). Miareczkowanie wykonuje się w celu przeprowadzenia w siarczan lub

chlerek nadmiaru nieprzereagowanego wodorotlenku potasu lub sodu i na tej podstawie wyznacza się liczbę estrową.

Liczbę estrową oblicza się ze wzoru:

$$LE = \frac{28 \cdot A}{S}$$

A – liczba mL 0,5 M nieprzereagowanego alkoholowego roztworu wodorotlenku wynikająca z ilości kwasu zużytego do miareczkowania

28 – masa 0,5 mola wodorotlenku potasu

S – ilość użytego tłuszczu w gramach

Jeżeli do oznaczenia stosuje się 0,5 M alkoholowy roztwór wodorotlenku sodu, to należy podstawić do wzoru liczbę 20 odpowiadającą masie 0,5 mola NaOH.

Jeżeli wzór chemiczny estru jest znany, to wynik oznaczenia można podać w %:

$$LE = \frac{M \cdot A}{20 \cdot S} \%$$

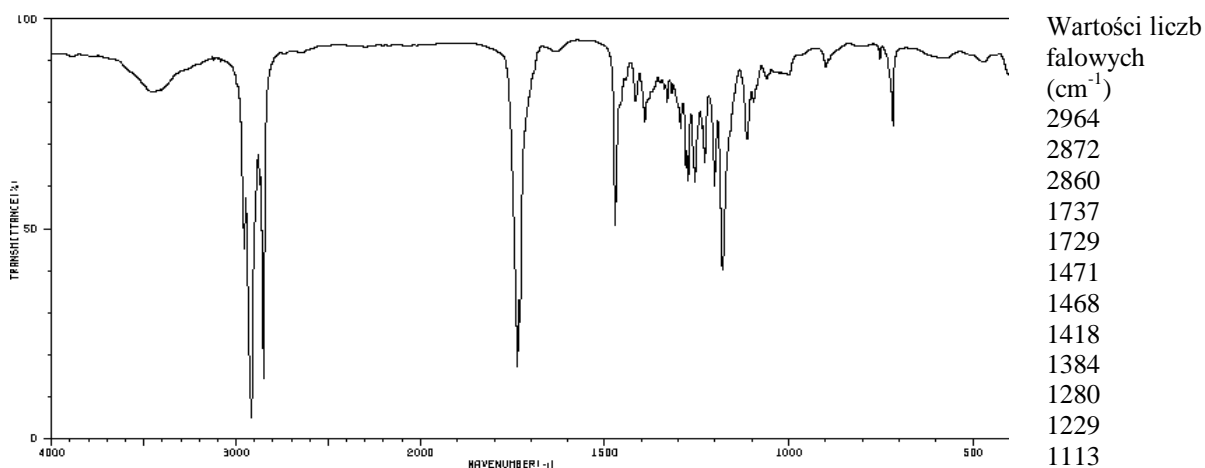
M – ciężar cząsteczkowy kwasu

A – liczba mL 0,5 M nieprzereagowanego alkoholowego roztworu wodorotlenku sodu wynikająca z ilości kwasu zużytego do miareczkowania

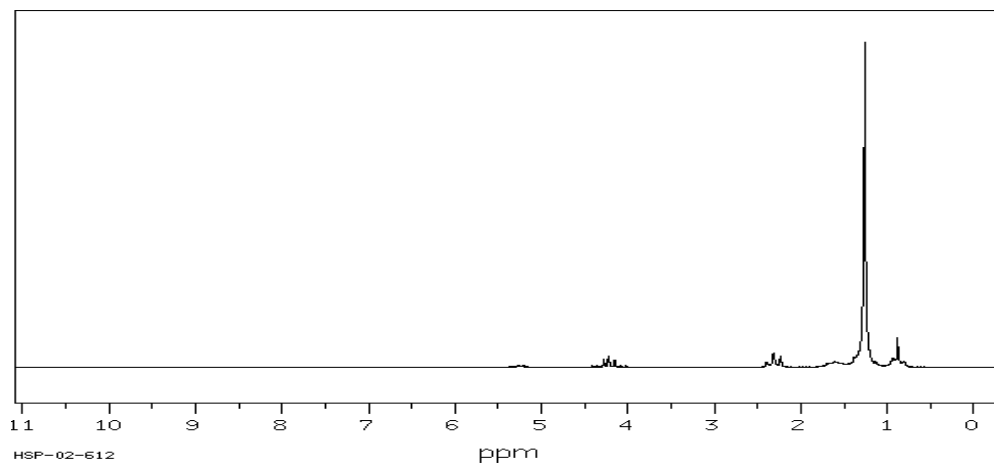
S – ilość użytego tłuszczu/olejku w gramach

Dane spektroskopowe trimirystyny

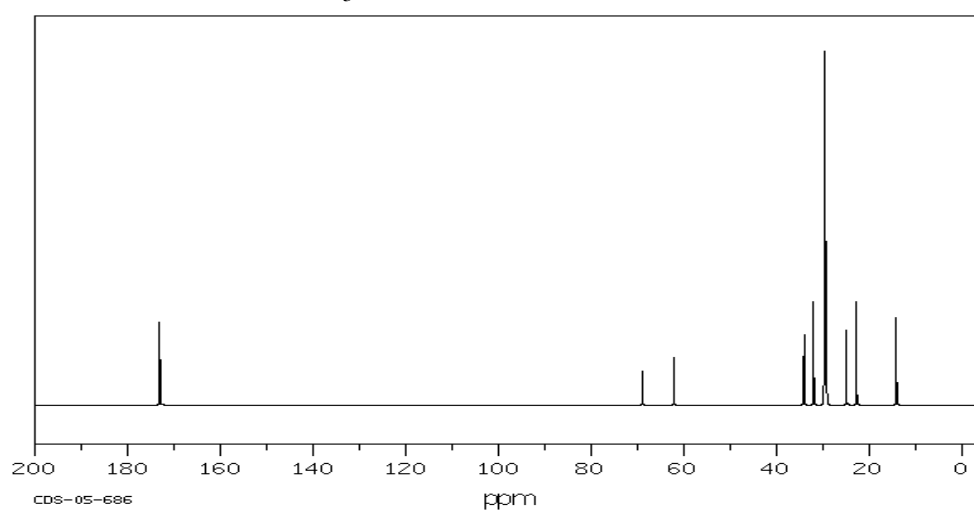
Widmo IR (KBr)



Widmo ^1H NMR w CDCl_3



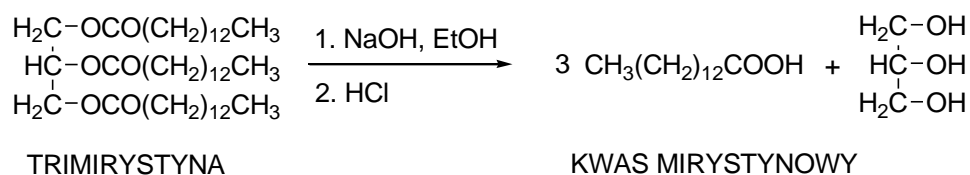
Widmo ^{13}C NMR w CDCl_3



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowców roślinnych
- Lipidy (budowa, właściwości, reaktywność)
- Reakcje estryfikacji
- Reakcje zmydlania
- Analiza widm produktu

5.2. Kwas mirystynowy z trimirystyny



Odczynniki:

trimirystyna	2,0 g
NaOH	0,5 g
stęż. HCl	
KOH	
fenoloftaleina (1% roztwór etanolewy)	
etanol	0,5 L
0,5 M HCl	

Aparatura i szkło:

kolba kulista poj. 250 mL
 chłodnica zwrotna
 rurka na środek suszący (bezw. CaCl₂)
 czasza grzejna na kolbę o poj. 250 mL
 zlewki poj. 200 mL i 400 mL
 łopatką
 zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
 bagietka
 biureta 50 mL

W ćwiczeniu otrzymuje się w pierwszym etapie mirystynian sodu (mydło) z trimirystyny (wyizolowanej ze zmielonej gałki muskatołowej, ćwic. 5.1.), a w kolejnym etapie – w wyniku hydrolizy mydła – kwas mirystynowy. Następnie oznacza się liczbę kwasową trimirystyny.

Do roztworu 2 g trimirystyny w 30 mL alkoholu etylowego umieszczonego w kolbie kulistej o poj. 250 mL dodać 40 mL roztworu woda-etanol (1:9, v/v), zawierającego 0,5 g NaOH. Otrzymaną mieszaninę reakcyjną ogrzewać do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 2 godziny. Po ochłodzeniu mieszaniny uzyskane mydło odsączyć i przenieść łopatką do zlewki zawierającej ok. 120 mL mieszaniny pokruszonego lodu z wodą z 2 mL stężonego kwasu solnego (odczyn kwaśny) i zamieszać.

Po wytrąceniu się osadu kwasu mirystynowego odsączyć produkt na lejku Büchnera, przemyć wodą i wysuszyć. Zważyć i obliczyć wydajność procesu. Zmierzyć temperaturę topnienia (lit. t.t. 54-55 °C, t.wrz. 199-202 °C/16 mmHg, t.wrz. 174-176 °C/4 mmHg).

OZNACZANIE LICZBY KWASOWEJ

Liczbę kwasową (LK) oznacza się miareczkując na zimno badany roztwór lipidu rozcieńczonym mianowanym roztworem wodorotlenku sodu lub potasu, co pozwala określić zawartość wolnych kwasów tłuszczowych. Użycie stężonego roztworu nie jest wskazane,

ponieważ niektóre estry np. mrówczany w takich warunkach ulegają zmydleniu, przez co dokładność oznaczenia jest mniejsza.

WYKONANIE OZNACZENIA

W kolbie o pojemności 250 mL umieścić 1,5 g kwasu trimirystynowego (z dokładnością do 0,01 g), rozpuszczonego w 150 mL etanolu, dodać 5 kropli 1% alkoholowego roztworu fenoloftaleiny i roztwór podzielić na trzy równe porcje. Sporządzić 0,5 M etanolowy roztwór KOH i napełnić biuretę. Miareczkować każdy z trzech etanolowych roztworów trimirystyny wobec fenoloftaleiny mieszając przez cały czas miareczkowany roztwór, do momentu pierwszego zauważalnego odbarwienia roztworu (różowe zabarwienie) niezanikającego przez 10 sekund. Odczytać objętość zużytego roztworu KOH i uzupełnić biuretę, miareczkowanie powtórzyć dwukrotnie. Oznaczyć na podstawie odpowiednich obliczeń wartość liczby kwasowej – uśredniając wyniki z trzech pomiarów.

OBLICZENIA

LK oblicza się ze wzoru:

$$LK = \frac{28 \cdot A}{S}$$

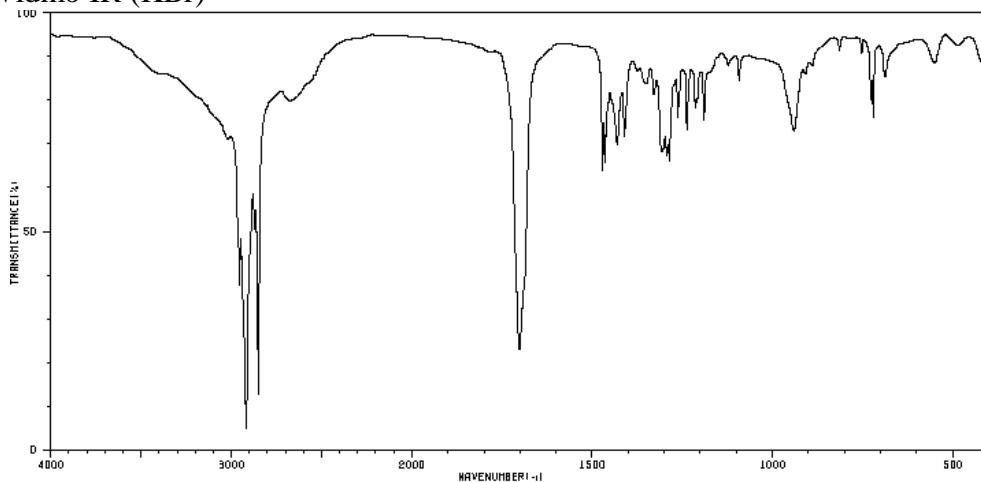
A – liczba mL 0,5 M alkoholowego roztworu wodorotlenku

S – ilość użytego kwasu tłuszczowego w gramach

Wartość 28 we wzorze odpowiada masie 0,5 mola KOH

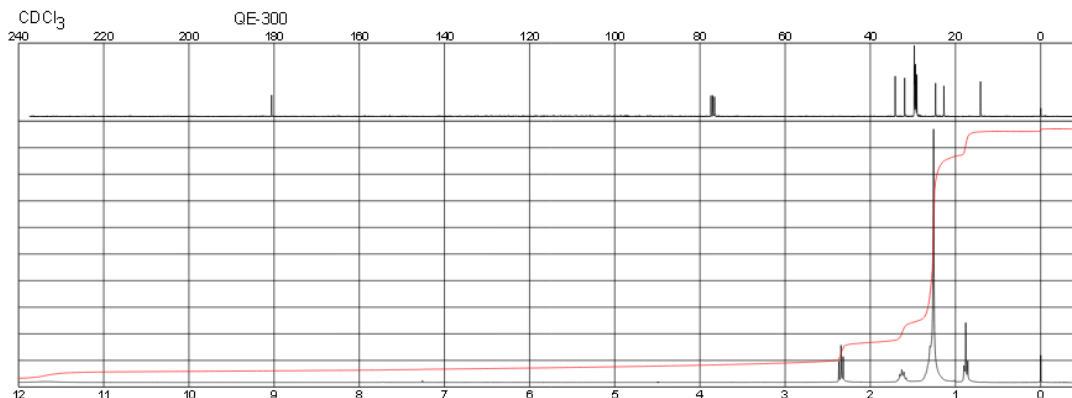
Dane spektroskopowe kwasu mirystynowego

Widmo IR (KBr)

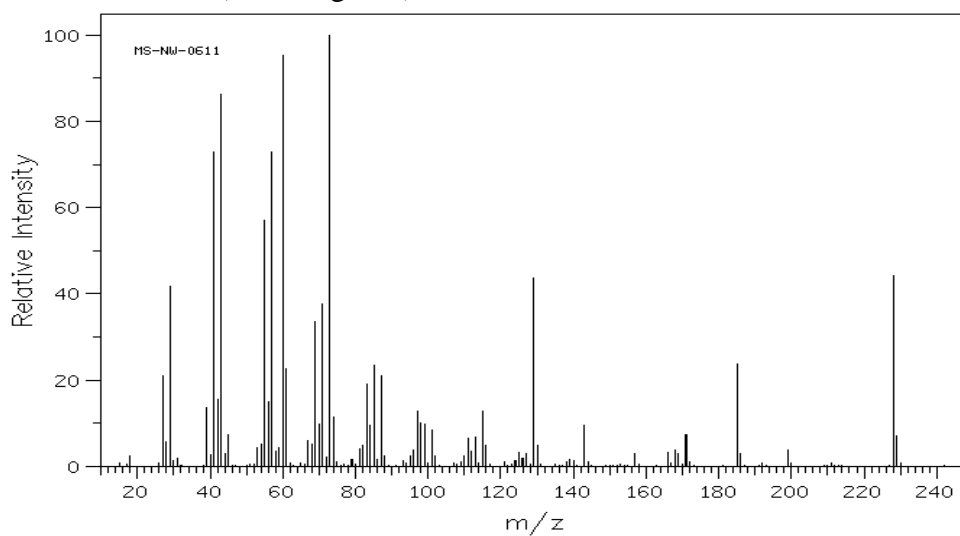


Wartości liczb falowych (cm ⁻¹)
2964
2918
2872
2678
1702
1471
1454
1431
1357
1351
1238
1093

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



Widmo EI-MS ($M=228$ g/mol)



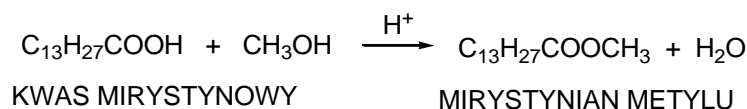
Zagadnienia

- Wyższe kwasy tłuszczowe (przykłady, podział, budowa)
- Reakcje zmydlania lipidów
- Analiza widm – porównanie właściwości substratu i produktu

Literatura

Beal G. D. *Org. Synth.* **1926**, 6, 66.

5.3. Mirystynian metylu z kwasu mirystynowego Mirystynian etylu z kwasu mirystynowego



Odczynniki:

kwas mirystynowy	1,8 g
bezw. metanol	2,4 mL
eter dietylowy	30 mL
stęż. kwas siarkowy(VI)	0,36 g (0,2 mL)
bezw. Na ₂ SO ₄	
Na ₂ CO ₃ (około 10 g)	
NaCl (około 5 g)	

Aparatura i szkło:

kolba kulista poj. 50 mL
chłodnica zwrotna
rurka na środek suszący (bezw. CaCl ₂)
rozdzielacz poj. 250 mL
kolba stożkowa poj. 100 mL
zlewka poj. 200 mL

W kolbie kulistej o poj. 50 mL, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną zabezpieczoną rurką z bezw. CaCl₂, umieścić 1,8 g kwasu mirystynowego, 2,4 mL bezwodnego metanolu oraz 0,2 mL stężonego kwasu siarkowego(VI). Całość ogrzewać przez 4 godziny w temperaturze wrzenia, a następnie oddestylować nadmiar alkoholu metylowego. Pozostałość przenieść do rozdzielacza zawierającego 10 mL wody destylowanej i ekstrahować eterem dietylowym (3 x 10 mL). Połączone ekstrakty eterowe przemywać wodnym roztworem węglanu sodu (porcje po 10 mL) do momentu, gdy przestanie wydzielać się CO₂, a następnie nasyconym roztworem chlorku sodu (10 mL). Ekstrakty eterowe suszyć bezwodnym siarczanem sodu (ok. 30 min, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego). Po odsączeniu środka suszącego eter odparować pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce próżniowej. Otrzymuje się 1,5 g (80%) mirystynianu metylu o charakterystycznym zapachu, t.t. 17-19 °C, t.wrz. 295 °C.

W analogiczny sposób otrzymać można **mirystynian etylu** z 1,8 g kwasu mirystynowego i 5 mL bezwodnego etanolu. Mirystynian etylu: t.t. 12-13 °C, t.wrz. 178-180 °C/12 mmHg.

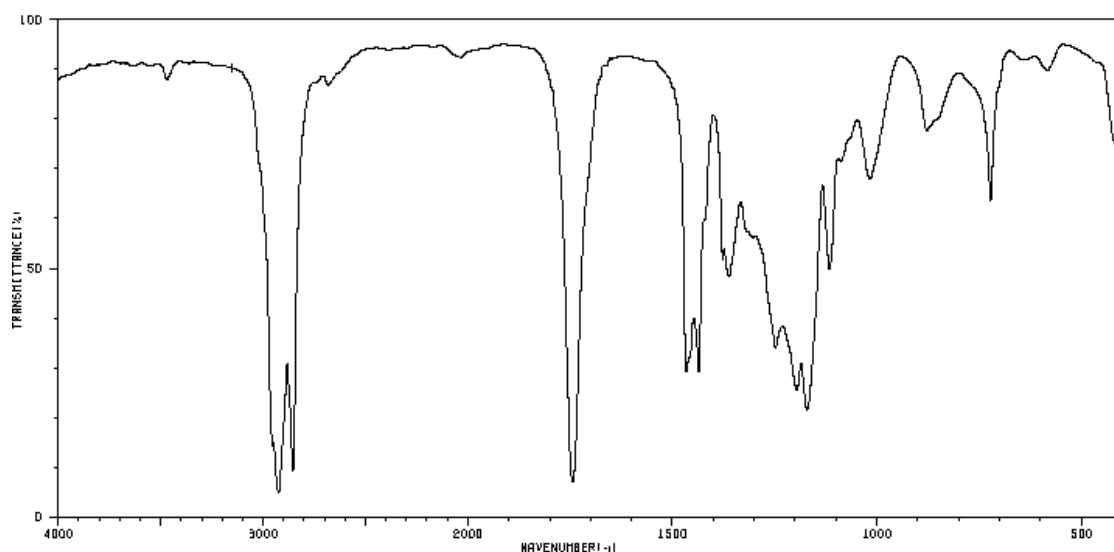
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: chlorek metylenu – metanol (1:1, v/v)

Na płytkę TLC nanieść roztwory: kwasu mirystynowego i mirystynianu metylu (etylu). Po rozwinięciu i wysuszeniu płytkę wywołuje się w oparach jodu. Wyznaczyć wartości współczynników R_f.

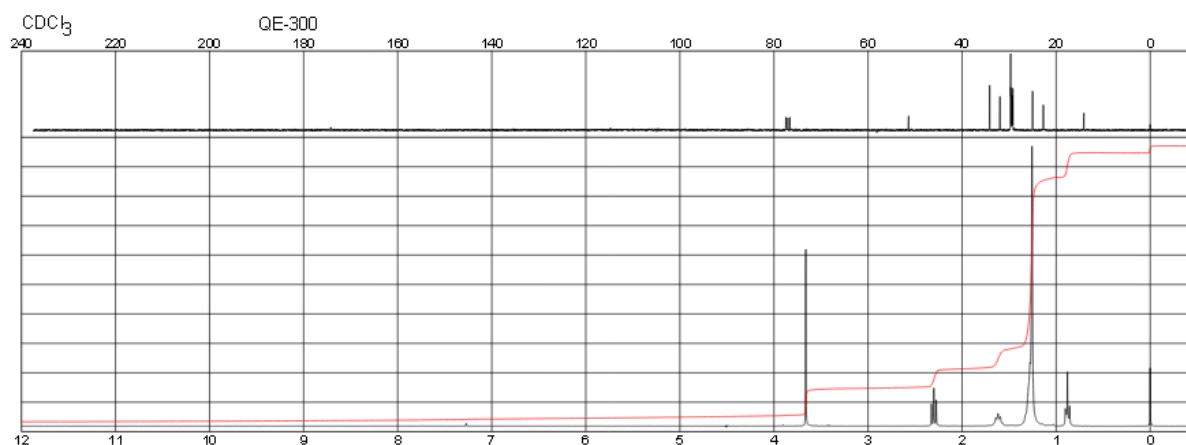
Dane spektroskopowe mirystynianu metylu

Widmo IR (film)

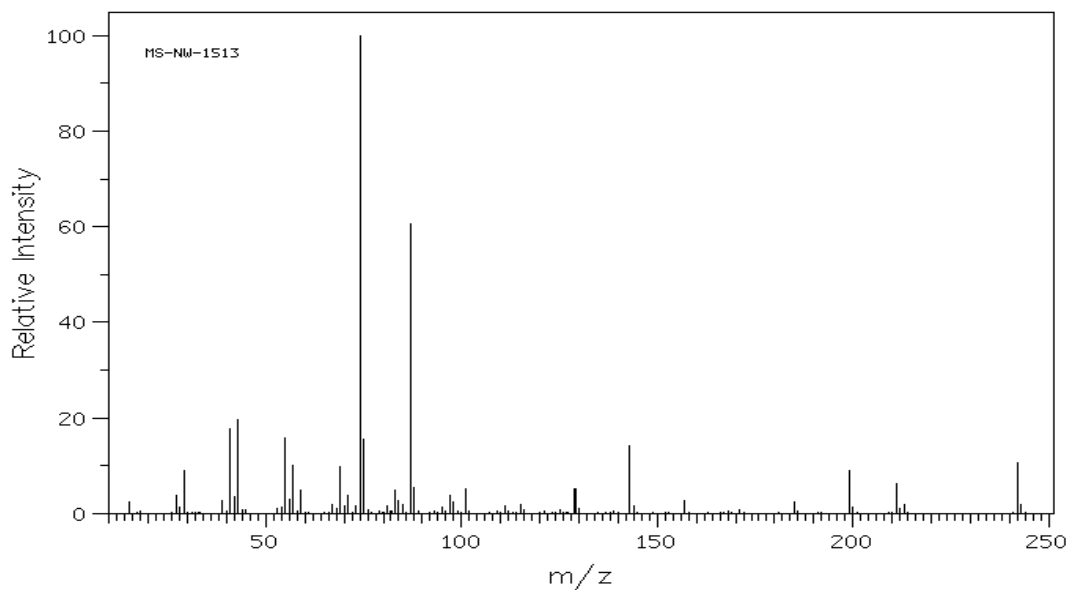


Wartości
liczb
falowych
(cm⁻¹)
3469
2953
2925
2686
1744
1467
1436
1378
1116
1010
879

Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)

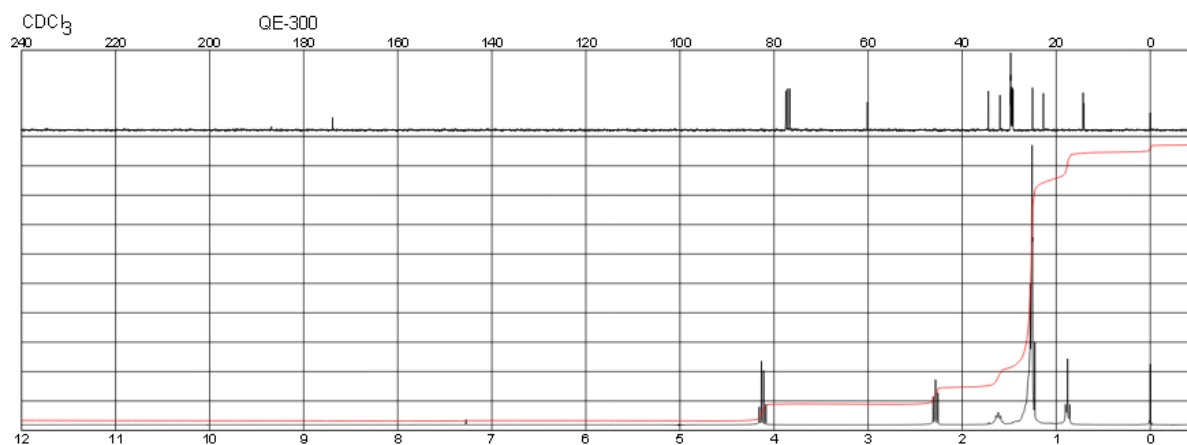


Widmo EI-MS (M=242,4 g/mol)



Dane spektroskopowe mirystynianu etylu

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



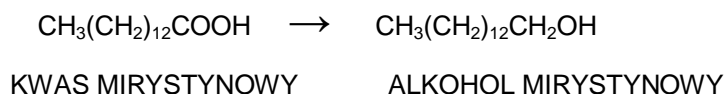
Zagadnienia

- Wyższe kwasy tłuszczowe (nazewnictwo, przykłady, budowa, właściwości)
- Reakcja estryfikacji (mechanizm)
- Reakcje hydrolizy estrów
- Analiza widm – porównanie właściwości substratu i produktu

Literatura

Sauer J. C., Hain B. E., W. Boutwell P. *Org. Synth.* **1940**, 20, 67.

5.4. Alkohol mirystynowy



Odczynniki:

kwas mirystynowy	0,5 g
LiAlH ₄	1 g
THF bezw.	50 mL
1 M HCl	
eter dietylowy	

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
chłodnica zwrotna
 rurka na środek suszący (bezw. CaCl₂)
czasza grzejna

UWAGA! Praca z LiAlH₄ wymaga zachowania ostrożności.

Reakcję prowadzić w środowisku bezwodnym.

W kolbie o pojemności 50 mL, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne i chłodnicę z rurką ze środkiem suszącym, umieścić 0,5 g kwasu mirystynowego i rozpuścić w 50 mL bezw. THF, całość umieścić na mieszadle magnetycznym. Do tak przygotowanego roztworu dodawać ostrożnie porcjami LiAlH₄ (1 g) i następnie mieszaninę ogrzewać w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Reakcję prowadzić przez około 3 godziny, a jej postęp należy monitorować za pomocą analizy TLC (pobraną próbkę mieszaniny reakcyjnej rozłożyć roztworem 1 M HCl i wyekstrahować eterem dietylowym). Po zakończeniu reakcji usunąć czaszę grzejną i po ostygnięciu mieszaniny dodać eteru dietylowego (20 mL) i **ostrożnie** kroplami roztwór 1 M HCl w celu rozłożenia nieprzereagowanego czynnika redukującego. Następnie przeprowadzić ekstrakcję eterem dietylowym. Połączone ekstrakty organiczne suszyć bezwodnym siarczanem sodu. Po odsączeniu środka suszącego eter odparować pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce próżniowej. Uzyskany produkt zważyć i obliczyć wydajność reakcji. Otrzymuje się kremowy osad o temperaturze topnienia 38-39 °C i temperaturze wrzenia 289-290 °C. Wydajność 89%.

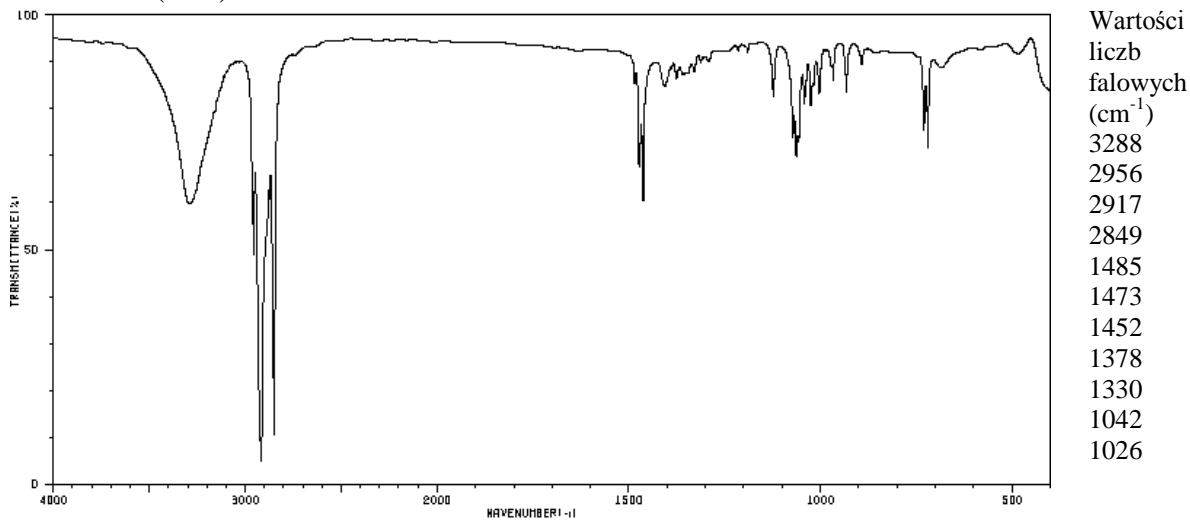
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC):

Eluenty: octan etylu-aceton (1:1, v/v), toluen-metanol (9:1, v/v)

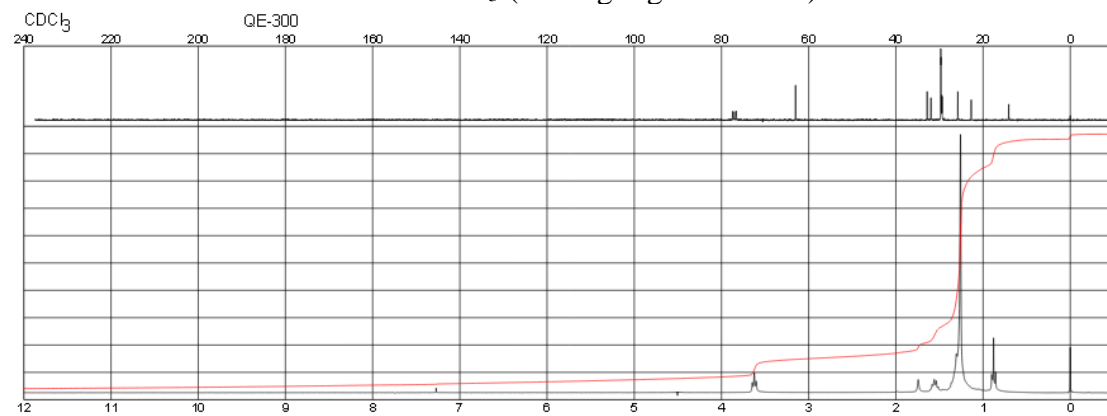
Płytkę wywoływać w oparach jodu. Wyznaczyć wartości R_f dla substratu i produktu.

Dane spektroskopowe alkoholu mirystynowego

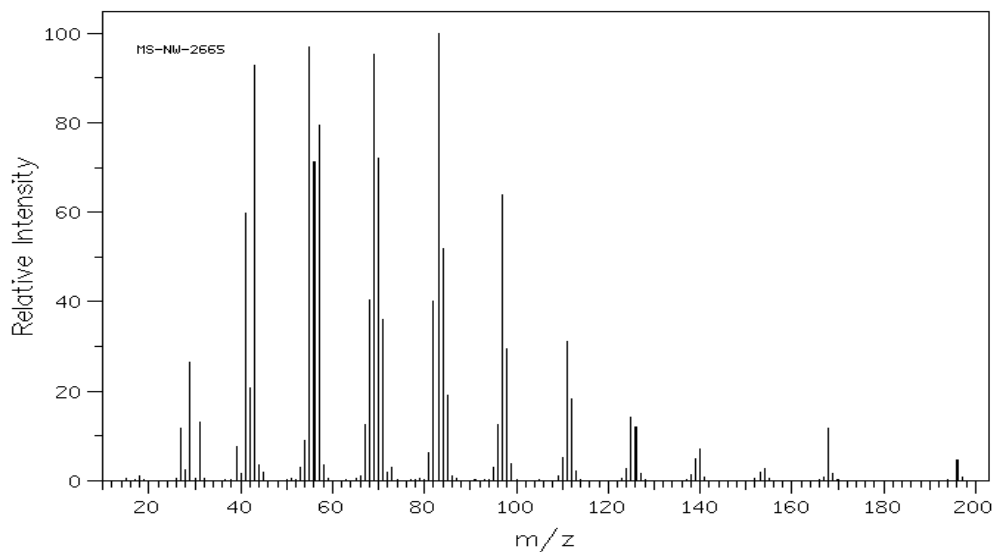
Widmo IR (KBr)



Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)



Widmo EI-MS (M=214 g/mol)



Zagadnienia

- Alkohole, metody otrzymywania
- Odczynniki redukujące selektywnie (np. grupę karboksylową)
- Analiza widm – porównanie właściwości substratu i produktu

5.5. Izolacja kwasów tłuszczowych z migdałów i oznaczanie liczby jodowej

PŁATKI MIGDAŁÓW → OLEJ MIGDAŁOWY



$C_{17}H_{33}COOH$ KWAS OLEINOWY (65–68%)

$C_{17}H_{31}COOH$ KWAS LINOLOWY (24–26%)

Odczynniki:

migdały (np. płatki) 15 g
0,1 M $Na_2S_2O_3$
metanol
etanol
0,2 M etanolowy roztwór I_2
skrobia
octan etylu

Aparatura i szkło:

kolby okrągłodenne poj. 250 mL (2 szt.)
zlewki poj. 250 mL (2 szt.)
chłodnica zwrotna
biureta 50 mL

Celem ćwiczenia jest pozyskanie olejku migdałowego z rozdrobnionych migdałów na drodze ekstrakcji eterem naftowym.

Rozdrobnione owoce migdałowca (15 g), np. w postaci płatków, umieścić w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 mL zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i kamyczki wrzenne. Następnie wlać 100 mL eteru naftowego i zawartość kolby doprowadzić do wrzenia. Proces prowadzić przez 30-60 minut. Po zakończeniu kolbę ochłodzić. Roztwór przesączyć, zawartość kolby przepłukać octanem etylu i/lub metanolem w celu wymycia wszystkich tłuszczowych pozostałości ze ścianek naczynia. Połączone roztwory organiczne zagęścić pod zmniejszonym ciśnieniem, zważyć i obliczyć zawartość procentową olejku w płatkach migdałów.

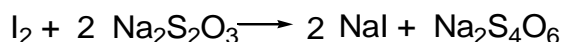
Otrzymany olejek zawierający wyższe nienasycone kwasy tłuszczowe poddać oznaczaniu liczby jodowej w sposób podany poniżej.

OZNACZANIA LICZBY JODOWEJ metodą Morgoschesa

Liczba jodowa (LJ) stanowi ilość gramów jodu, którą mogą przyłączyć nienasycone kwasy tłuszczowe zawarte w 100 g tłuszczu. Jej wartość jest miarą zawartości w tłuszczu

nienasyconych kwasów tłuszczowych. Im wyższa wartość liczby jodowej, tym większa zawartość nienasyconych kwasów tłuszczowych.

Nadmiar nieprzereagowanego jodu usuwa się poprzez odmiareczkowanie go z roztworu kwasów tłuszczowych roztworem tiosiarczanu sodu wg równania:



WYKONANIE OZNACZENIA

Przeprowadzić miareczkowanie próby kontrolnej i próby z badanym kwasem tłuszczowym. Próba kontrolna: w kolbie umieścić 10 mL 0,2 M roztworu jodu w etanolu i dodać 100 mL H₂O. Wymieszać i odstawić na 5 minut. Następnie jod odmiareczkować za pomocą 0,2 M Na₂S₂O₃ wobec 2 mL nasyconego roztworu skrobi, którą należy dodać pod koniec miareczkowania (gdy roztwór uzyska jasnożółtą barwę). Zakończyć miareczkowanie, gdy roztwór uzyska mleczną barwę.

Próbkę badanego tłuszczu o znanej masie rozpuścić w 15 mL metanolu i umieścić w zlewce o pojemności 100 mL. Do roztworu dodać 10 mL 0,2 M roztworu jodu w etanolu. Roztwór dokładnie wymieszać i natychmiast dodać 100 mL wody destylowanej i odstawić pod przykryciem na 4-5 min. (nie dłużej). Po tym czasie nieprzereagowany jod odmiareczkować 0,2 M Na₂S₂O₃ wobec 2 mL nasyconego roztworu skrobi, podobnie jak w próbie kontrolnej.

Liczbę jodową (LJ) oblicza się stosując niżej podany wzór – z uwzględnieniem wartości gramorównoważnika jodu (126,92 g) w odniesieniu do 100 g tłuszczu:

$$\text{LJ} = 1,269 \frac{\text{a} - \text{b}}{\text{c}}$$

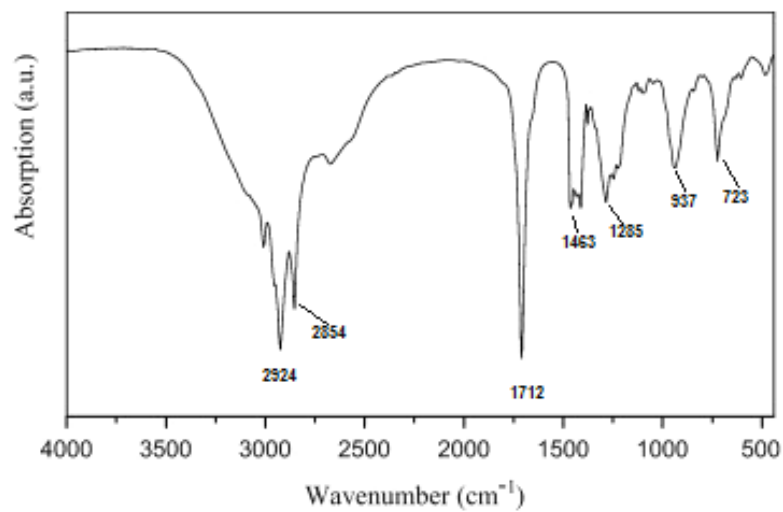
gdzie: a – liczba mL 0,2 M Na₂S₂O₃ zużyta w próbie kontrolnej

b – liczba mL 0,2 M Na₂S₂O₃ zużyta w oznaczeniu właściwym

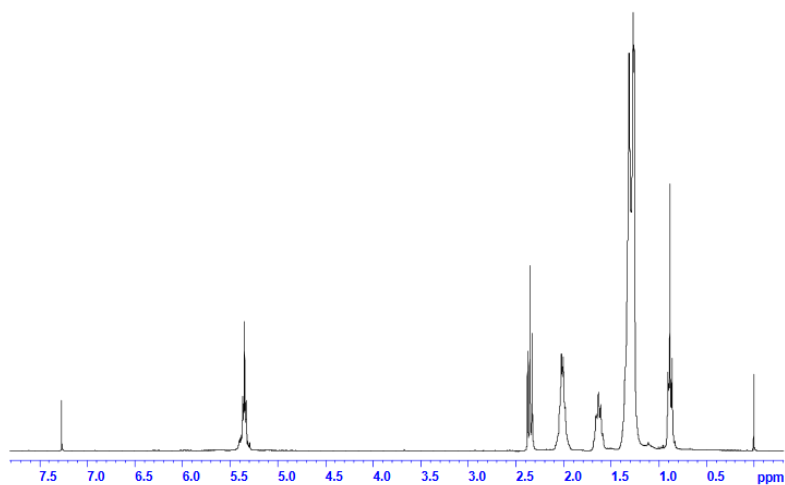
c – waga tłuszczu (w gramach) zawartego w badanej próbce.

Dane spektroskopowe kwasu oleinowego

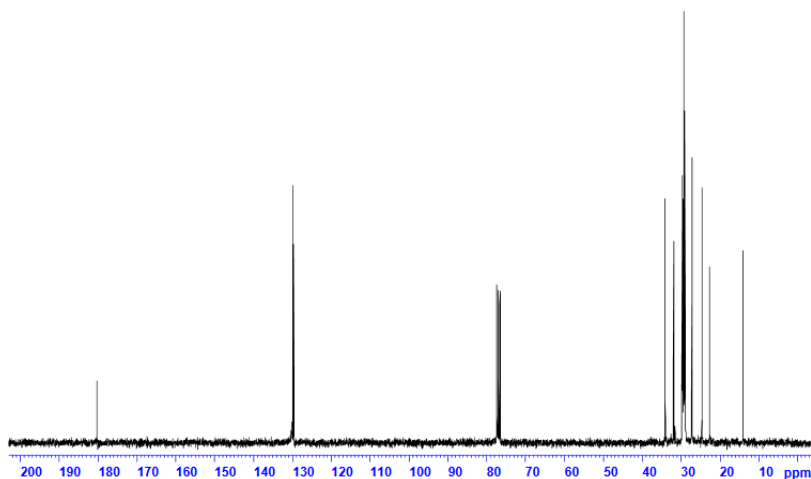
Widmo IR (film)



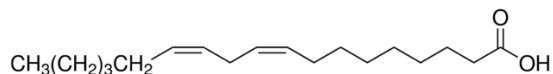
Widmo ¹H NMR w CDCl₃ (*Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 114-118)



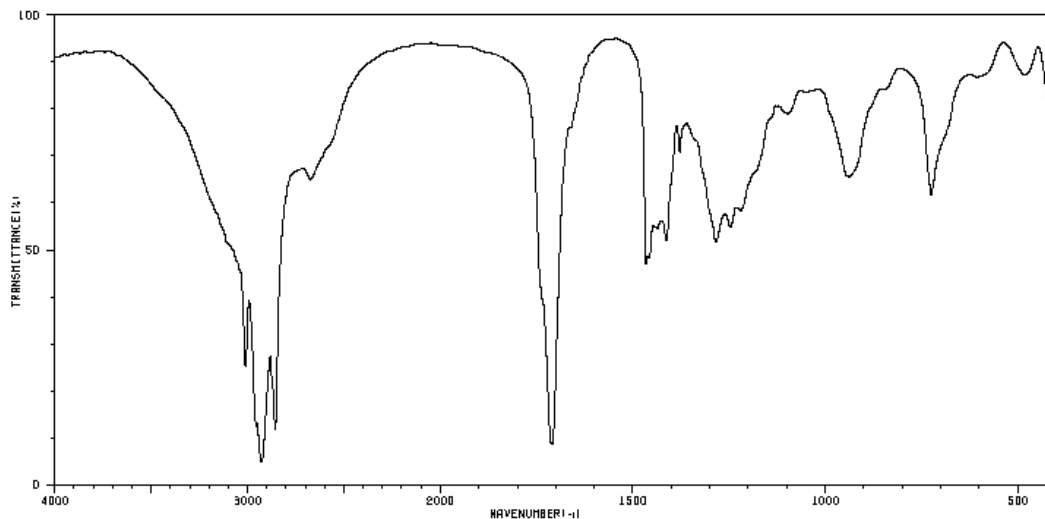
Widmo ¹³C NMR w CDCl₃ (*Eur. J. Org. Chem.* **2012**, 114-118)



Dane spektroskopowe kwasu linolowego [kwas (9Z,12Z)-oktadekadienowy]

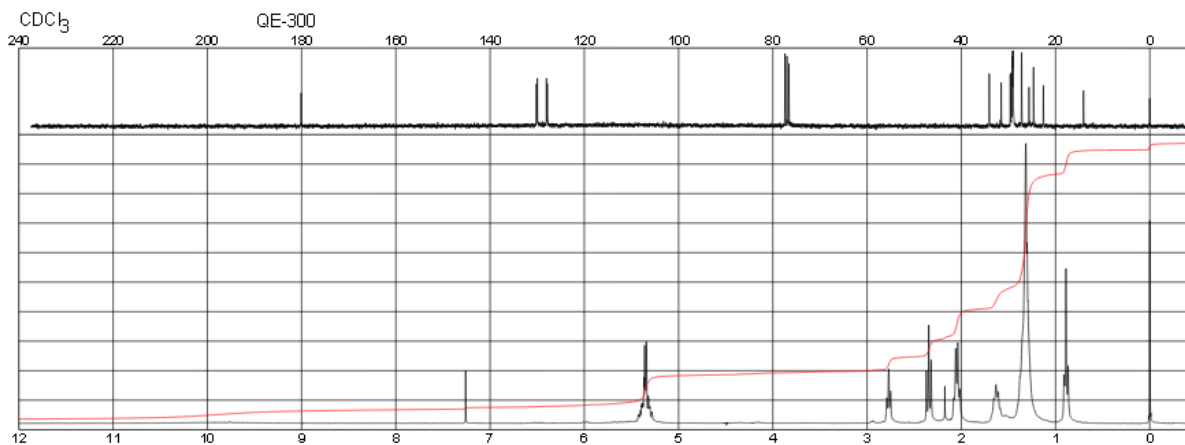


Widmo IR (film)



Wartości liczb falowych (cm ⁻¹)
3010
2954
2857
2673
1710
1467
1458
1414
1378
1285
1246
1108
939
481

Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Lipidy i wyższe kwasy tłuszczowe (budowa, nazewnictwo, podział, reaktywność)
- Zastosowanie wyższych kwasów tłuszczowych, kwasy ω-3 i ω-6; ich działanie na organizm człowieka
- Analiza widm produktów

5.6. Izolacja kwasów tłuszczowych z wiórków kokosowych i oznaczanie liczby jodowej

WIÓRKI KOKOSOWE →



OLEJ KOKOSOWY

$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$ (ok. 44%)

KWAS LAURYNOWY

Odczynniki:

wiórki kokosowe	15 g
eter naftowy	100 mL
0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$	
MeOH	15 mL
0,2 M etanolowy roztwór I_2	
EtOH	25 mL
skrobia	
octan etylu	

Aparatura i szkło:

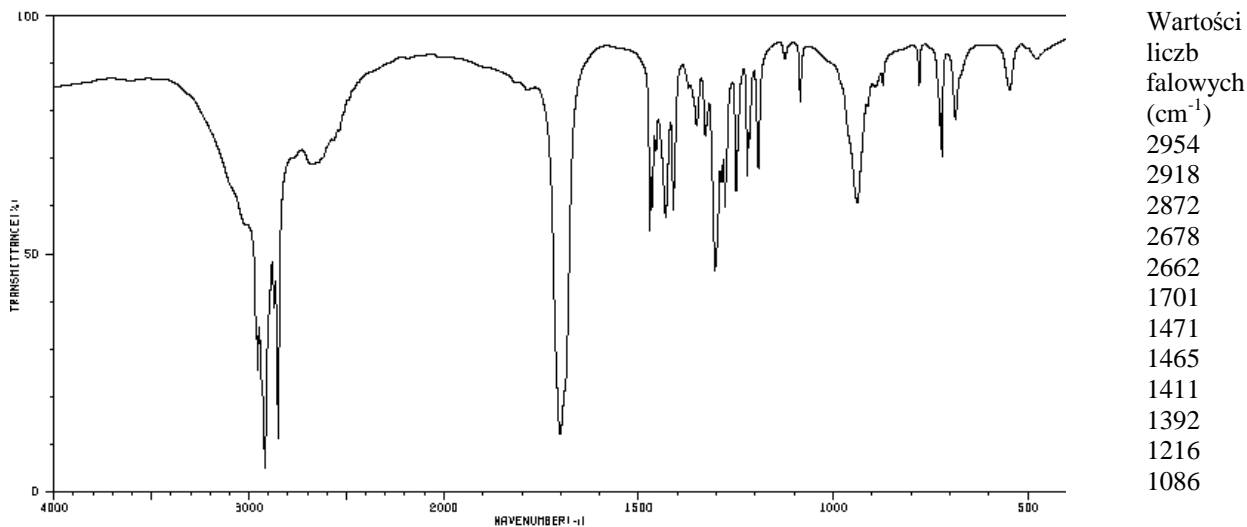
kolby okrągłodenne poj. 250 mL (2 szt.)
zlewki poj. 250 mL (2 szt.)
chłodnica zwrotna
biureta 50 mL

Wiórki kokosowe (15 g) umieścić w kolbie okrągłodennej o pojemności 250 mL zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i kamyczki wrzenne. Następnie wlać 100 mL eteru naftowego i mieszaninę doprowadzić do wrzenia. Proces prowadzić przez 30-60 minut. Po zakończeniu kolbę ochłodzić. Roztwór przesączyć, kolbę przepłukać octanem etylu i/lub metanolem w celu wymycia wszystkich tłuszczowych pozostałości ze ścianek naczynia i połączone roztwory organiczne zagęścić pod zmniejszonym ciśnieniem, zważyć i obliczyć procentową zawartość kwasów tłuszczowych w wiórkach kokosowych.

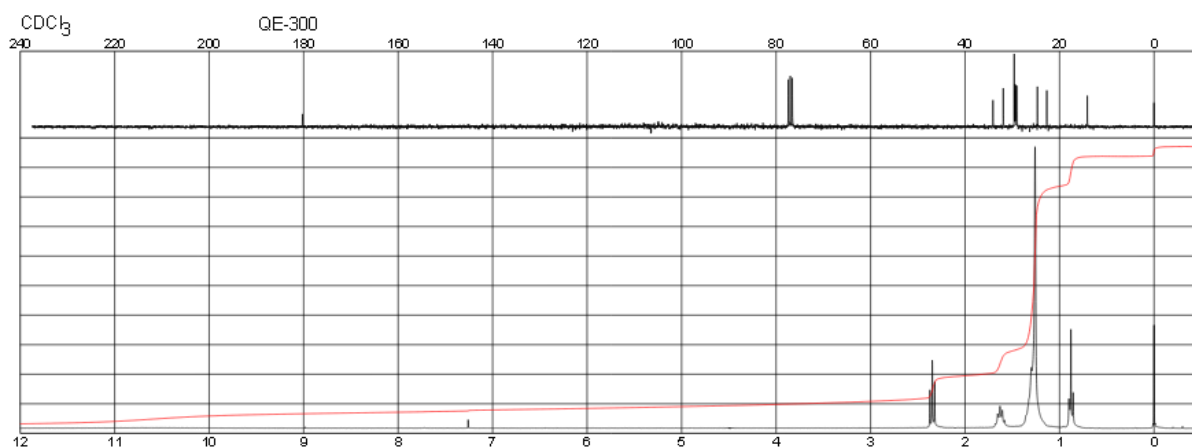
Otrzymany olejek zawierający wyższe kwasy tłuszczowe poddać oznaczeniu liczby jodowej metodą Morgoschesa w sposób podany w ćwiczeniu 5.5. (str. 33).

Dane spektroskopowe kwasu laurynowego

Widmo IR (KBr)



Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Lipidy i wyższe kwasy tłuszczowe (budowa, nazewnictwo, podział, reaktywność)
- Zastosowanie wyższych kwasów tłuszczowych, kwasy ω-3 i ω-6; ich działanie na organizm człowieka
- Analiza widm produktu

5.7. Izolacja masła kakaowego z gorzkiej czekolady

GORZKA CZEKOLADA

≥ 70% KAKAO



→ MASŁO KAKAOWE

$C_{15}H_{31}COOH$ KWAS PALMITYNOWY (ok. 24-26%)

$C_{17}H_{35}COOH$ KWAS STEARYNOWY (ok. 34-35%)

$C_{17}H_{33}COOH$ KWAS OLEINOWY (ok. 37-38%)

$C_{17}H_{31}COOH$ KWAS LINOŁOWY (ok. 2%)

Odczynniki:

Metoda A

gorzka czekolada (zawierająca powyżej 70% kakao, rozdrobniona)
eter naftowy

10 g
100 mL

Metoda B

gorzka czekolada (zawierająca powyżej 70% kakao, rozdrobniona)
eter naftowy

10 g
100 mL

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 250 mL
czasza grzejna
chłodnica zwrotna
aparat Soxhleta
zestaw do sączenia pod
zmniejszonym ciśnieniem
lejek zwykły

Celem ćwiczenia jest wyizolowanie z gorzkiej czekolady masła kakaowego (mieszaniny lipidów) popularnego w ostatnich latach składnika preparatów kosmetycznych. W obu częściach ćwiczenia bada się zawartość mieszaniny lipidów pochodzących z tej samej czekolady.

Metoda A

W kolbie o pojemności 250 mL umieścić 10 g rozdrobnionej gorzkiej czekolady (zawierającej powyżej 70% kakao) i 100 mL eteru naftowego pamiętając o dodaniu kilku kamyczków wrzennych. Zawartość kolby ogrzewać przez godzinę w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Następnie usunąć czaszę i szybko rozpocząć sączenie gorącego roztworu w celu oddzielania kakao i pozostałych składników od masła kakaowego, roztwór można także sączyć przez warstwę Celitu na lejku Büchnera. Otrzymane tłuszcze szybko ulegają zestaleniu. Następnie zważyć otrzymane masło i obliczyć zawartość procentową składników lipidowych w badanej gorzkiej czekoladzie.

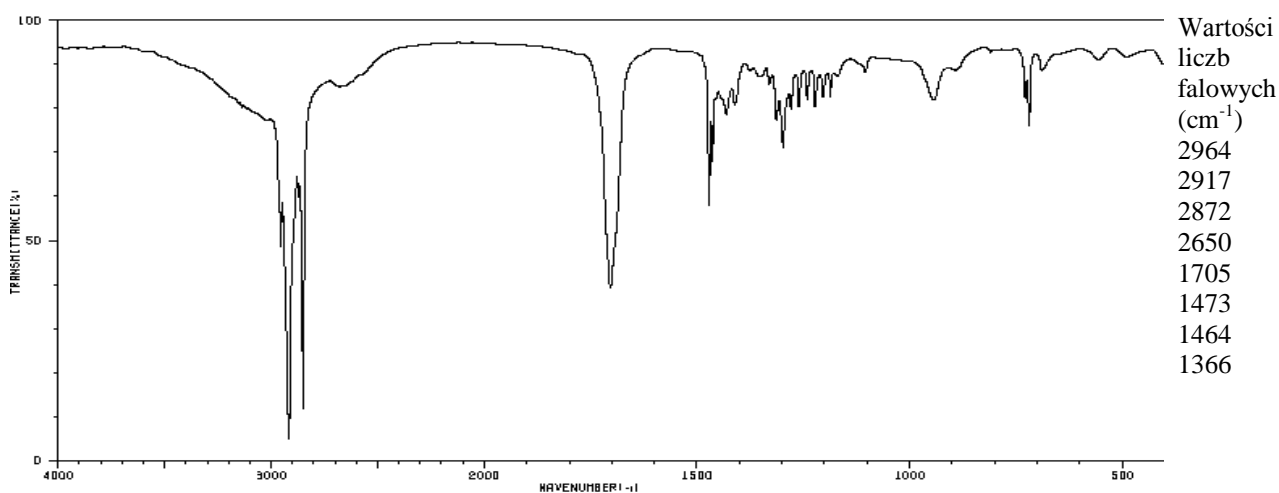
Metoda B

Zmontować aparat Soxhleta (tak, jak jest to pokazane rysunku w ćwic. 7.1., str. 58, izolacja teobrominy metoda B). W kolbie o pojemności 250 mL umieścić 100 mL eteru naftowego pamiętając o dodaniu kilku kamyczków wrzennych. W gilzie umieścić 10 g rozdrobnionej gorzkiej czekolady (zawierającej powyżej 70% kakao). Ekstrakcję prowadzić przez około 2 godziny. Następnie zawartość kolby okrągłodennej (bez kamyczków wrzennych), eterowy roztwór mieszaniny lipidów, zagęścić pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymane masło kakaowe dość szybko zacznie ulegać zestaleniu. Następnie zważyć otrzymane masło i obliczyć procentową zawartość składników lipidowych w badanej gorzkiej czekoladzie.

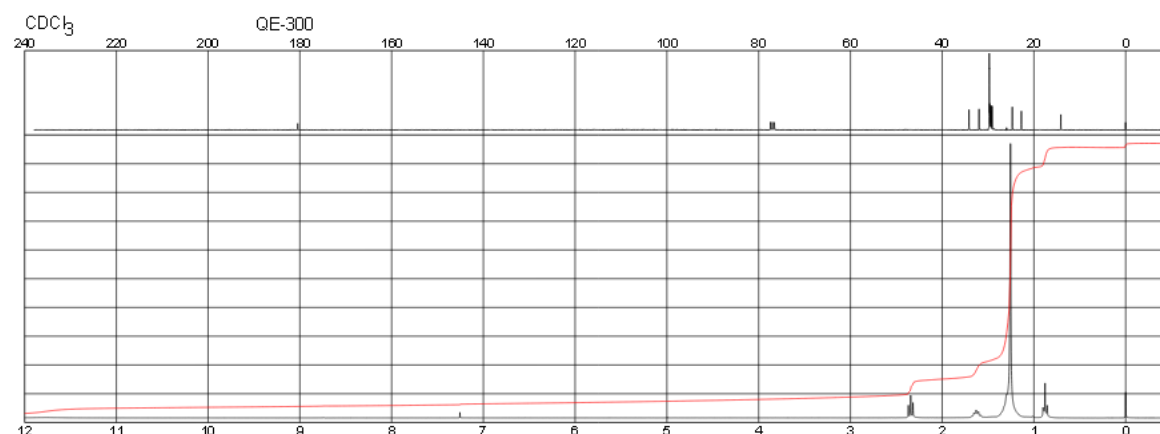
We wnioskach porównać wydajność izolacji masła kakaowego z zastosowaniem obu metod.

Dane spektroskopowe kwasu stearynowego

Widmo IR (KBr)

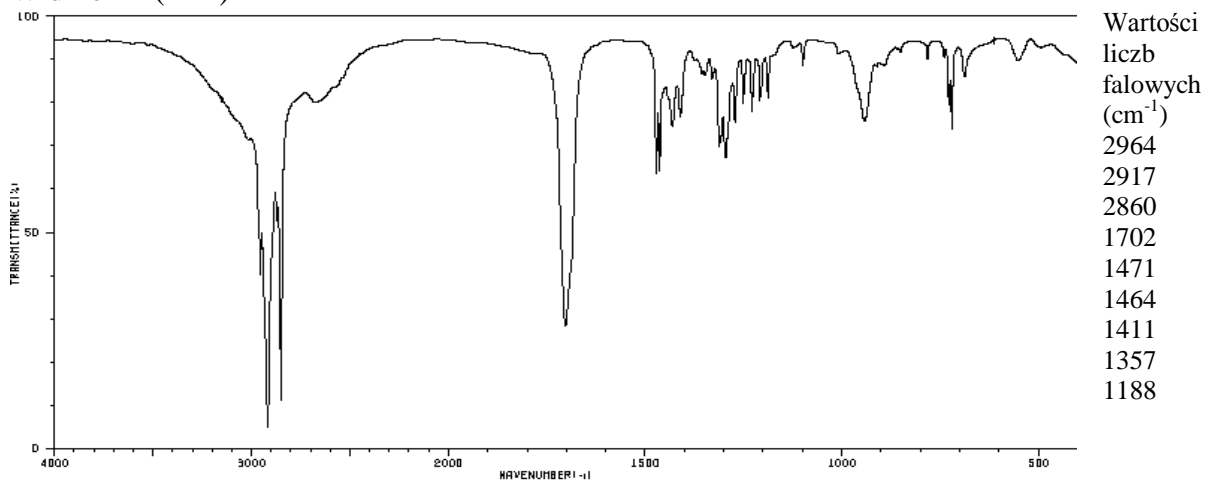


Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)

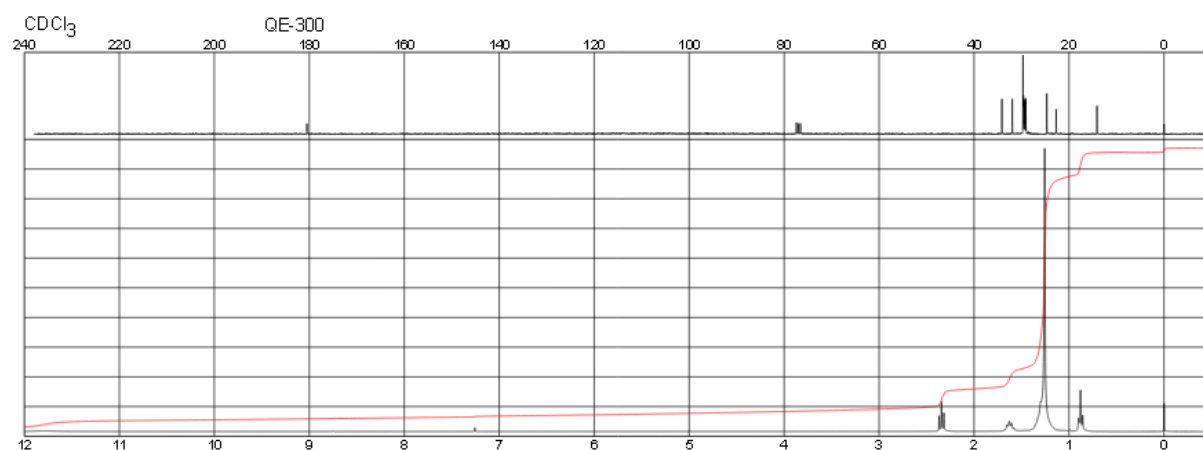


Dane spektroskopowe kwasu palmitynowego

Widmo IR (KBr)



Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Lipidy i wyższe kwasy tłuszczowe (budowa, nazewnictwo, podział, reaktywność)
- Zastosowanie wyższych kwasów tłuszczowych, kwasy ω-3 i ω-6; ich działanie na organizm człowieka
- Analiza widm produktów

5.8. Otrzymywanie mydeł sodowych i potasowych

Odczynniki:

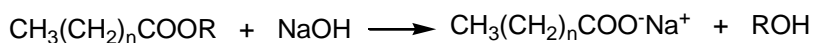
wodorotlenek sodu	0,22 - 0,50 g
wodorotlenek potasu	0,28 - 0,70 g
wyższy kwas tłuszczowy	1 g
lipid	2 g
ester wyższego kwasu tłuszczowego	1 g
EtOH	ok. 40 mL

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 250 mL
chłodnica zwrotna
zlewka

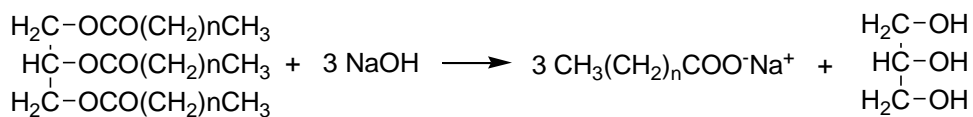
Metody otrzymywania mydeł:

- 1) zasadowa hydroliza estrów wyższych kwasów tłuszczowych np. mirystynianu metylu



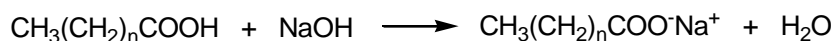
gdzie: $n = 12, 14, 16$
 $\text{R} = \text{CH}_3$

- 2) zasadowa hydroliza lipidów (trójglicerydów)



gdzie: $n = 10, 12, 14, 16$

- 3) reakcja wyższego kwasu tłuszczowego z wodorotlenkiem sodu lub potasu



gdzie: $n = 12, 14, 16$



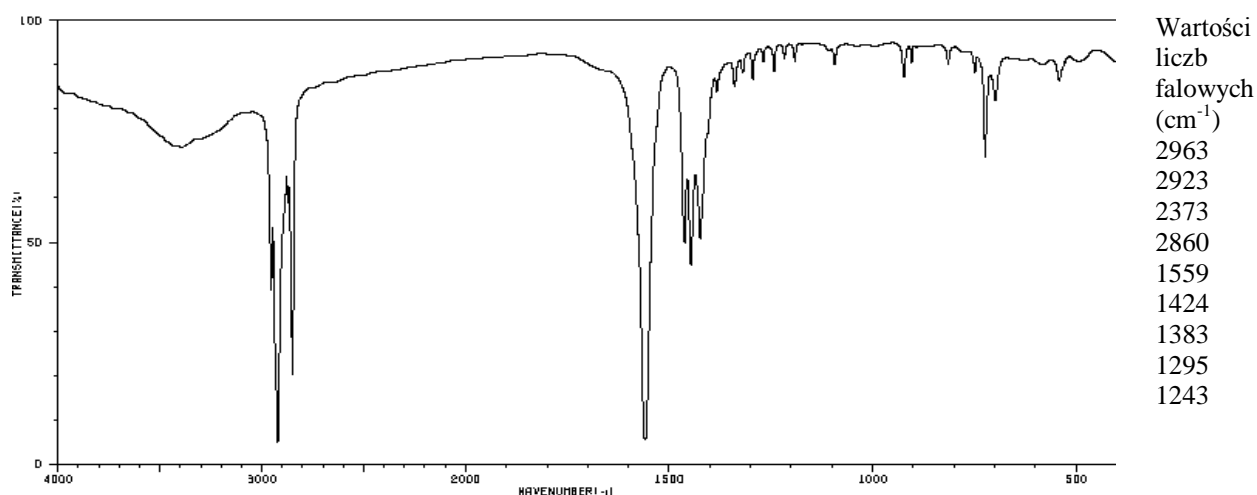
W kolbie okrągłodennej o pojemności 250 mL umieścić odpowiednie ilości substratów zestawione w poniższej tabeli:

1.	Mydło z estru: - mirystynian metylu	1 g mirystynianu metylu 0,22 g wodorotlenku sodu lub 0,28 g wodorotlenku potasu
2.	Mydło z lipidu: - olejek migdałowy - olejek kokosowy	2 g olejku migdałowego lub kokosowego 0,5 g wodorotlenku sodu lub 0,7 g wodorotlenku potasu
3.	Mydło z kwasu mirystynowego	1 g kwasu mirystynowego 0,24 g wodorotlenku sodu lub 0,30 g wodorotlenku potasu

W kolbie kulistej o poj. 250 mL przygotować roztwór 30 mL alkoholu etylowego i jednej z substancji tłuszczowych z wymienionych w tabeli (1-3). Następnie dodać 45 mL roztworu zawierającego odpowiednią ilość wodorotlenku sodu lub potasu (masy podane w tabeli) w mieszaninie woda-etanol (9:1 v/v). Otrzymaną mieszaninę należy ogrzewać do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 2 godziny. Po ochłodzeniu uzyskane mydło przenieść za pomocą łopatkki do zlewki zawierającej 110-150 mL wody z lodem. Całość przesączyć i otrzymane mydło suszyć na powietrzu. Zważyć produkt oraz obliczyć wydajność przeprowadzonej reakcji.

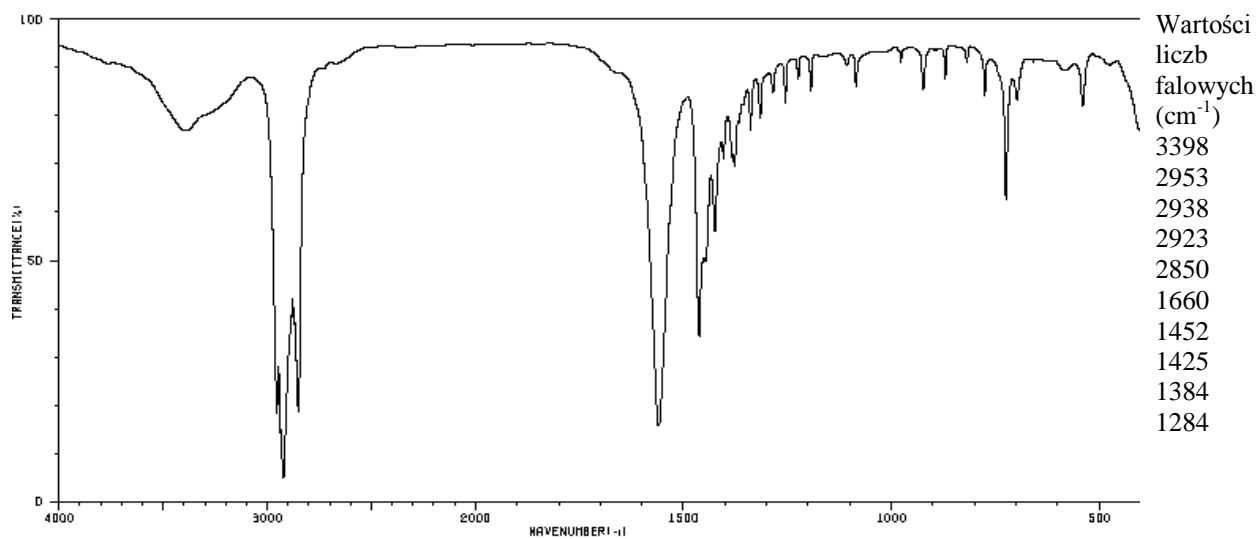
Dane spektroskopowe mirystynianu sodu

Widmo IR (KBr)



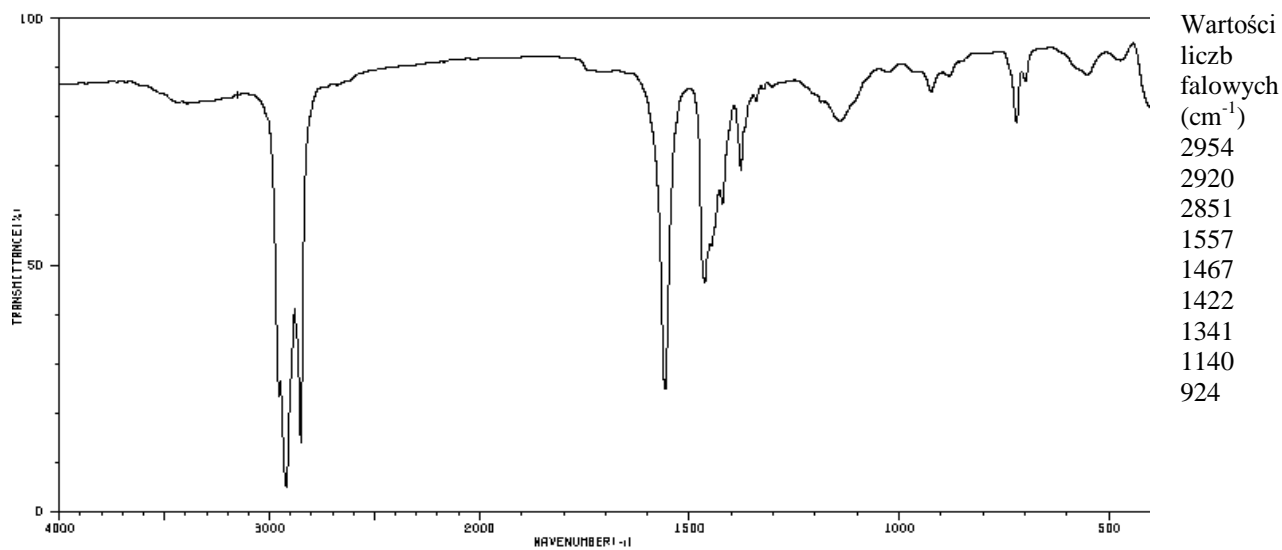
Dane spektroskopowe laurynianu sodu

Widmo IR (nujol)



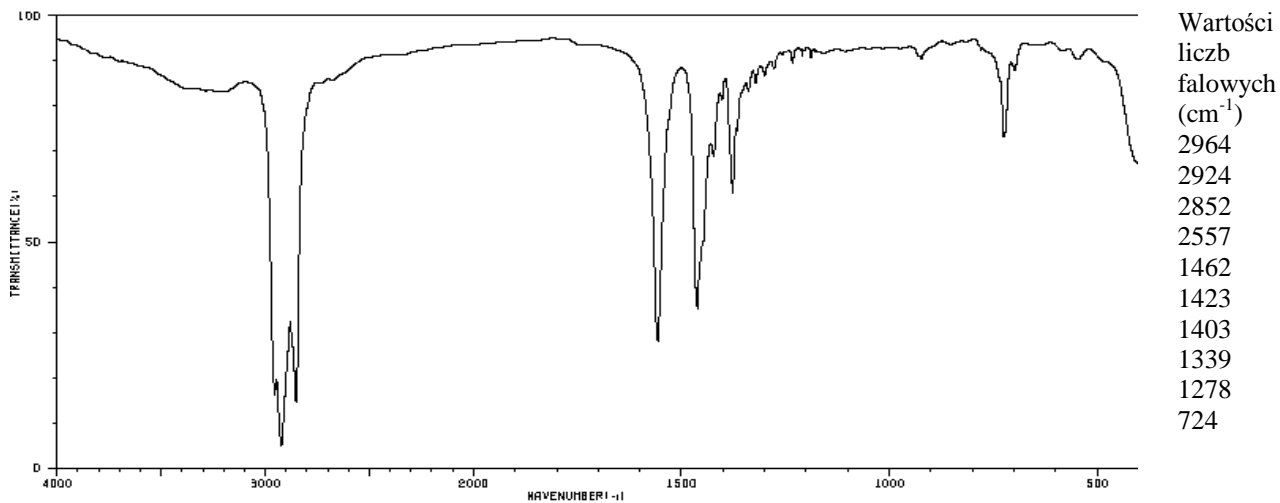
Dane spektroskopowe stearynianu sodu

Widmo IR (nujol)



Dane spektroskopowe palmitynianu sodu

Widmo IR (nujol)

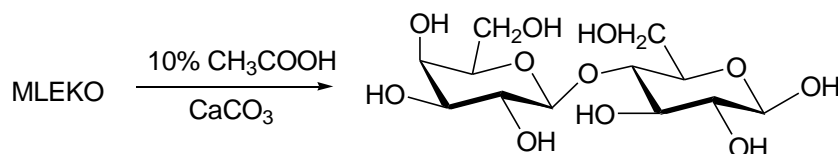


Zagadnienia

- Lipidy i wyższe kwasy tłuszczowe (budowa, nazewnictwo, podział, reaktywność)
- Metody otrzymywania mydeł
- Właściwości piorące mydeł
- Analiza widm – porównanie właściwości substratów i produktów

6. Węglowodany

6.1. Laktoza z mleka



dczynniki:

mleko w proszku	30 g
10% kwas octowy	18 mL
węglan wapnia	2,4 g
etanol	150 mL
KOH	

Aparatura i szkło:

zlewka poj. 300 mL
cylinder miarowy
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
kolba okrągłodenna poj. 250 mL
probówki (4 szt.)

W zlewce przygotować zawiesinę 30 g odtłuszczonego mleka w proszku w 50 mL ciepłej wody o temperaturze 40-50 °C.

Następnie do zawiesiny wlać, ciągle mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego, 18 mL 10% roztworu kwasu octowego. Podczas mieszania zawiesiny następuje koagulacja kazeiny. Kazeinę odsączyć używając do tego celu tetrę lub gazę.

W celu wyklarowania otrzymanego przesączu należy przelać go do zlewki, dodać 2,4 g węglanu wapnia, mieszać i ogrzewać do wrzenia przez 10 min. na maszynie elektrycznej. (Uwaga! Roztwór się pieni!). Do gorącego roztworu dodać odrobinę węgla aktywnego, w celu usunięcia wydzielonych albumin i pozostałości CaCO₃. Mieszaninę przesączyć przez warstwę ziemi okrzemkowej (Celite). W tym celu przygotować zestaw do sączenia z lejkiem Büchnera. Do lejka włożyć dokładnie przycięty sączonek i wylać na niego zawiesinę ziemi okrzemkowej w wodzie (konsystencja śmietany), zestaw podłączyć do pompki wodnej, dokładnie ubić warstwę ziemi okrzemkowej, nałożyć kolejny sączonek. Na tak przygotowany lejek wylać gorący roztwór z dodatkiem węgla aktywnego. Otrzymany klarowny przesącz zateżyć do ok. 30 mL przez odparowanie wody na wyparce.

UWAGA! Nie przegrzewać, aby produkt nie uległ karmelizacji!

Stężony roztwór przelać do małej zlewki dodać 10 mL etanolu i pozostawić do krystalizacji. Laktozę odsączyć na lejku Büchnera i przemyć niewielką ilością zimnego etanolu. Zważyć i obliczyć wydajność procesu. Temperatura topnienia monohydratu α-D-laktozy wynosi 219 °C (rozkład).

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

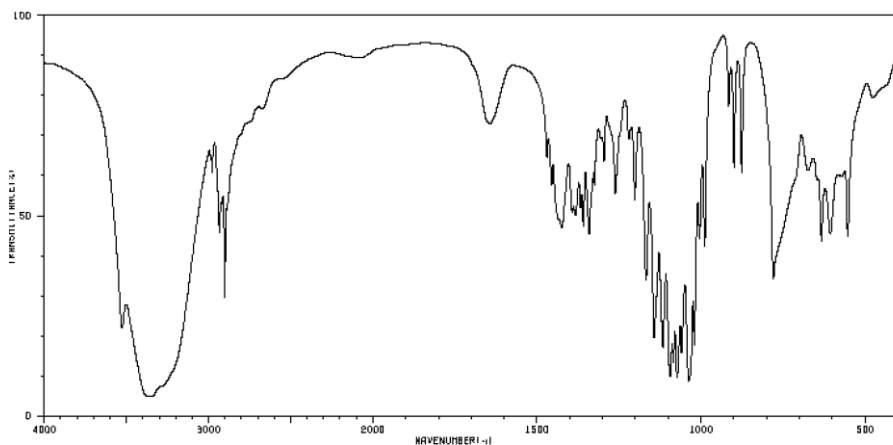
Eluent: toluen-lodowaty kwas octowy-metanol (2:2:6, v/v/v). Po wysuszeniu płytkę wywołuje się termicznie poprzez lekkie podgrzanie na płytce elektrycznej.

Próba Wohlfego: W czasie stopniowego ogrzewania próbki z 1 mL 10% wodnego roztworu laktozy z pastylką KOH powstaje żółte zabarwienie, natomiast w obecności glukozy i galaktozy pojawia się czerwone zabarwienie.

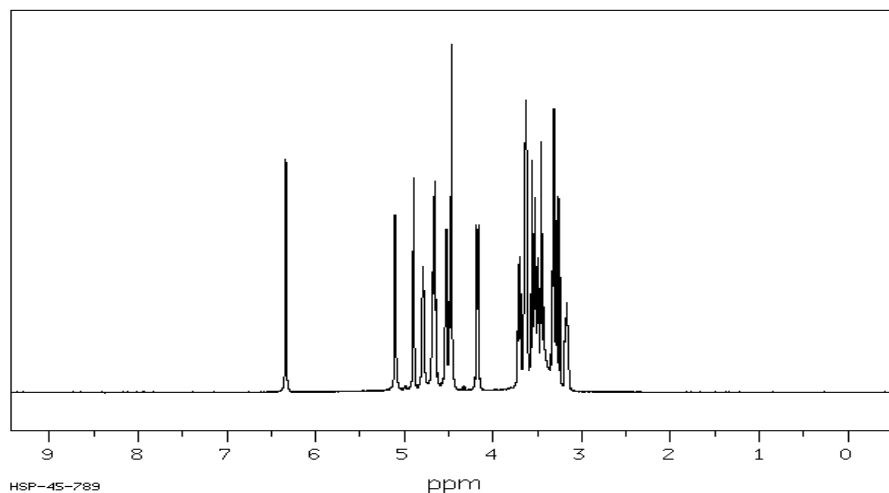
Wykonać analizę porównawczą. Potrzebne są 4 próbki. Do trzech probówek wprowadzamy po 1 mL roztworu z poszczególnymi wzorcami: laktoza, glukoza, galaktoza (10% wodny roztwór). Do czwartej próbki wprowadzamy cukier otrzymany w ćwiczeniu.

Dane spektroskopowe laktozy

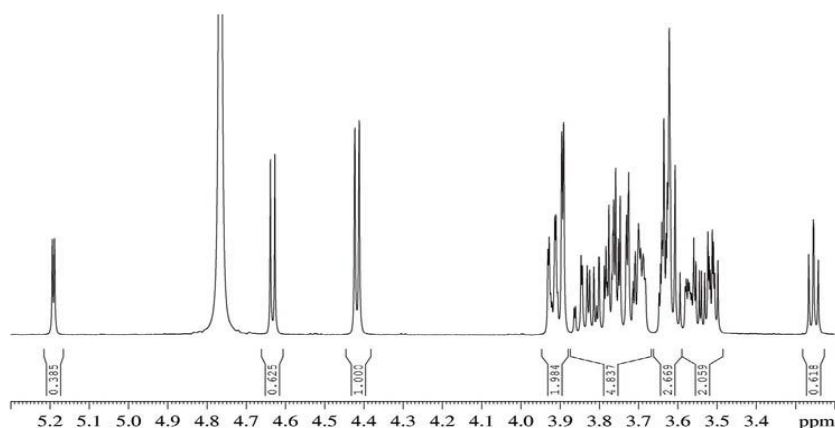
Widmo IR (KBr)



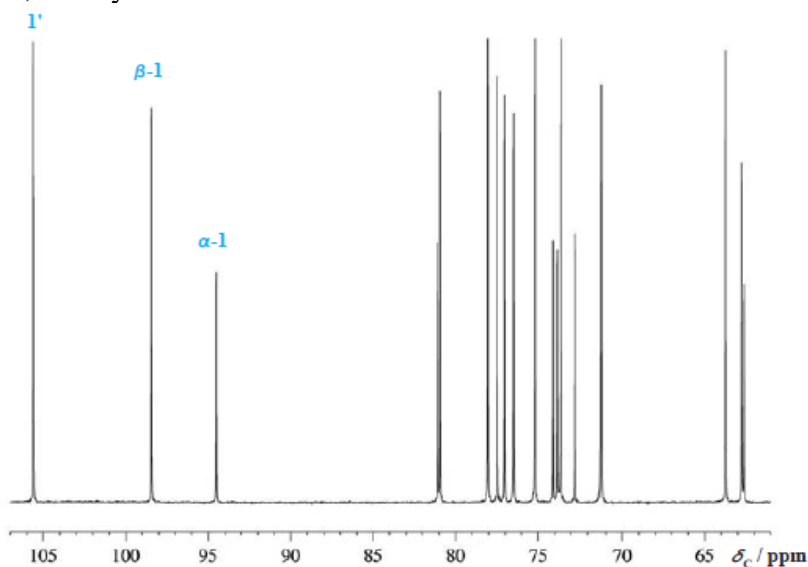
Widmo ¹H NMR w DMSO-d₆ (400 MHz)



Widmo ^1H NMR w D_2O (700 MHz) Berger S., Sicker D. "Classics In Spectroscopy", 2009, 310, Willey-VCH Weinheim.



Widmo ^{13}C NMR w D_2O (176 MHz) Berger S., Sicker D. "Classics In Spectroscopy", 2009, 314, Willey-VCH Weinheim.



Zagadnienia

- Węglowodany; monosacharydy i disacharydy (budowa, nazewnictwo, podział)
- Reakcje: estryfikacji, hydrolizy sacharydów, degradacja Wohla, synteza Kilianiego-Fischera
- Stereochemia
- Anomery monosacharydów
- Wiązanie glikozydowe
- Rozróżnienie laktozy od galaktozy na podstawie reakcji barwnych oraz widm IR i NMR

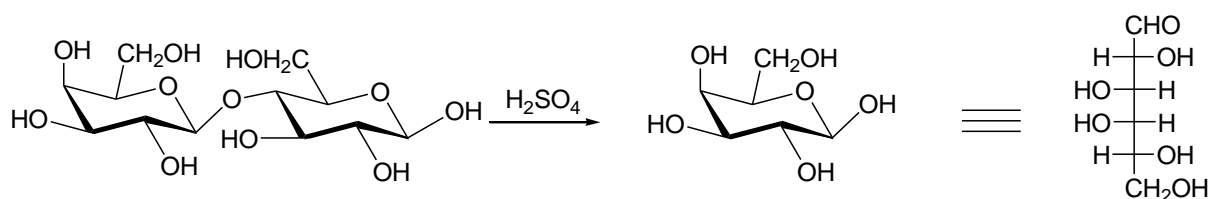
Literatura

Lucas J. M., Kaneko J. J., Hirohara K., Kleiber M. "Separation of Milk Components, Chromatographic Isolation of Citric Acid and Lactose from Skim Milk" *J. Agric. Food Chem.* **1959**, 7, 638-639.

Wohlk, *Zeitschr. F. Anal. Ch.* **1904**, 670. „Odczynnik na cukier mleczny i maltozę” *Chemik Polski*, nr 21, 24 (11) maja 1905r (V), 408.

http://www.chemistry.mcmaster.ca/~chem2ob3/nhw_temp/old_old_labmanual/expt5/2ob3exp5.html (08.01.2020)

6.2. D-Galaktoza z laktozy



Odczynniki:

laktoza	10 g
stężony kwas siarkowy	0,3 mL
wodorotlenek baru $\times 8H_2O$	1,5 g
lodowaty kwas octowy	12,5 mL
metanol	3 mL
eter dietylowy	10 mL
kwas mlekowy (CH_3COO) ₂ Cu	

Aparatura i szkło:

kolba kulista poj. 100 mL
chłodnica zwrotna
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
zlewka poj. 50 mL
probówki (4 szt.)

Do kolby kulistej o poj. 100 mL, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, wlać roztwór 10 g laktozy w 20 mL wody z dodatkiem 0,3 mL kwasu siarkowego, dodać kamyczki wrzenne i ogrzewać w temperaturze wrzenia przez 2 godz. **Nie przegrzewać!** Może dojść do utworzenia karmelu z cukru!

Do gorącego jeszcze roztworu dodać wodorotlenku baru, tak aby uzyskać odczyn obojętny. Po ochłodzeniu mieszaninę przesączyć.

Klarowny przesącz (lekko żółty) zatężyć do połowy objętości na wyparce próżniowej. Przebrać do małej kolby Erlenmeyera, zakwasić dodając ok. 0,3 mL lodowatego kwasu octowego i pozostawić do krystalizacji w łaźni woda–lód. Otrzymany krystaliczny produkt odsączyć na lejku Büchnera, przemyć kolejno kwasem octowym, metanolem i eterem dietylowym. Zważyć i obliczyć wydajność procesu. Zmierzyć temperaturę topnienia; lit. t.t. 165 °C, $[\alpha]_D = +81,5$ (c=1, H₂O).

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: propanol-kwas octowy-woda (4:1:5, v/v/v). Po wysuszeniu płytkę wywołuje się termicznie poprzez lekkie podgrzanie na płytce elektrycznej.

Wykonać analizy porównawcze A i B ze wzorcami laktozy, glukozy i galaktozy (10% wodny roztwór).

A. Próba Wohlkego: W czasie stopniowego ogrzewania probówki z roztworem zhydrolizowanej laktozy (galaktoza + glukoza) w obecności pastylki KOH powstaje czerwone zabarwienie, natomiast w obecności laktozy pojawia się zabarwienie żółte.

B. Próba Barfoeda:

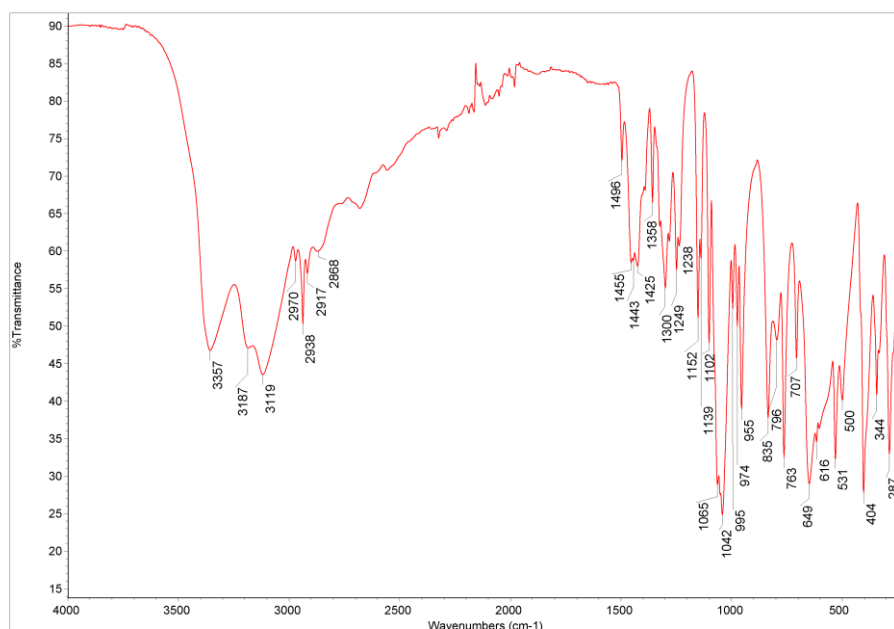
Odczynnik Barfoeda – rozpuścić na gorąco 2,4 g $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Cu}$ w 45 mL wody i dodać 2,5 mL 8,5% kwasu mlekowego. Wstrząsnąć do rozpuszczenia osadu. Oziębnić, uzupełnić wodą do 50 mL i przesączyć.

Próba pozwala na odróżnienie monosacharydów od disacharydów redukujących na podstawie redukcji w środowisku lekko kwaśnym. Monosacharydy łatwo wykazują właściwości redukujące (czerwony osad CuO_2 pojawia się już po 3 minutach), natomiast disacharydy dopiero po dłuższym ogrzewaniu (15 minut), gdy dojdzie do rozerwania wiązania glikozydowego.

Do probówki z 1 mL badanego roztworu cukru dodać 2 mL odczynnika Barfoeda i ogrzewać w łaźni wodnej przez 3 minuty. Zanotować zaobserwowane zmiany barwy. Jeśli nie wystąpią należy kontynuować ogrzewanie przez kolejne 12 minut.

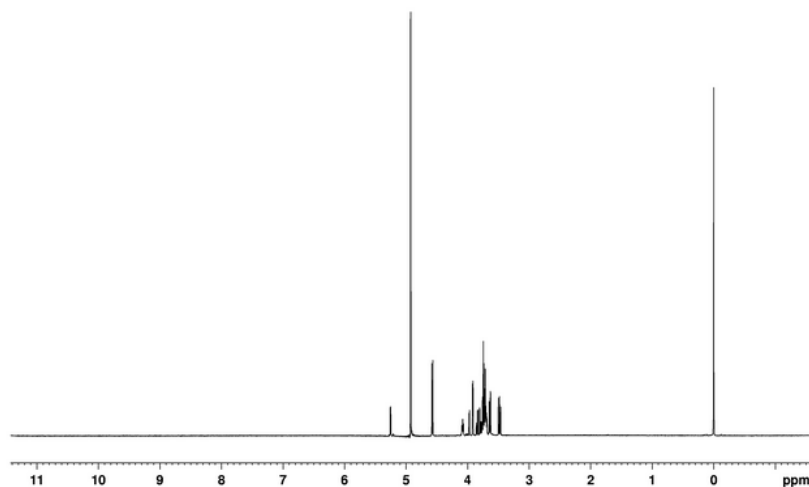
Dane spektroskopowe D-galaktozy

Widmo IR (KBr) http://lisa.chem.ut.ee/IR_spectra/paint/binders/galactose/ (08.01.2020)



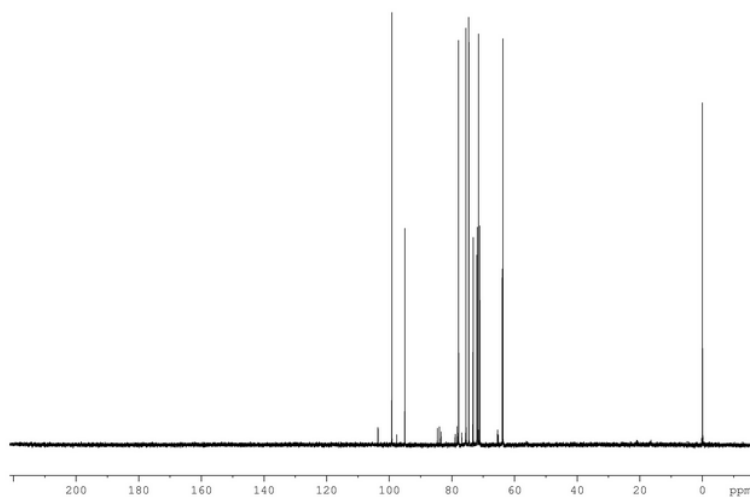
Widmo ^1H NMR w D_2O (500 MHz)

http://bmr.b.wisc.edu/metabolomics/mol_summary/show_data.php?id=bmse000013&whichTab=1 (08.01.2020).



Widmo ^{13}C NMR w D_2O (500 MHz)

http://bmr.b.wisc.edu/metabolomics/mol_summary/show_data.php?id=bmse000013&whichTab=1 (08.01.2020)



Zagadnienia

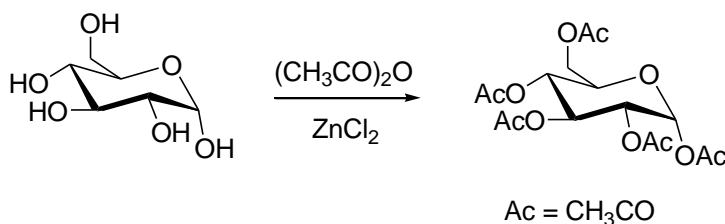
- Węglowodany; monosacharydy i disacharydy (budowa, nazewnictwo, podział)
- Reakcje: estryfikacji, hydrolizy sacharydów, degradacja Wohla, synteza Kilianiego-Fischera
- Stereochemia
- Anomery monosacharydów
- Wiązanie glikozydowe
- Rozróżnienie laktozy od galaktozy na podstawie reakcji barwnych oraz widm IR i NMR

Literatura

Lucas J. M., Kaneko J. J., Hirohara K., Kleiber M. "Separation of Milk Components, Chromatographic Isolation of Citric Acid and Lactose from Skim Milk" *J. Agric. Food Chem.* **1959**, 7, 638.

Wohlk, *Zeitschr. F. Anal. Ch.* **1904**, 670. „Odczynnik na cukier mleczny i maltozę”
Chemik Polski, nr 21, 24 (11) maja 1905r (V), 408.

6.3. 1,2,3,4,6-Penta-*O*-acetylo- α -D-glukopiranoza



Odczynniki:

bezwodny chlorek cynku	0,54 g
eter dietylowy	100 mL
bezwodnik octowy	12,3 mL
α -D-glukoza	2,52 g
etanol do krystalizacji	

Aparatura i szkło:

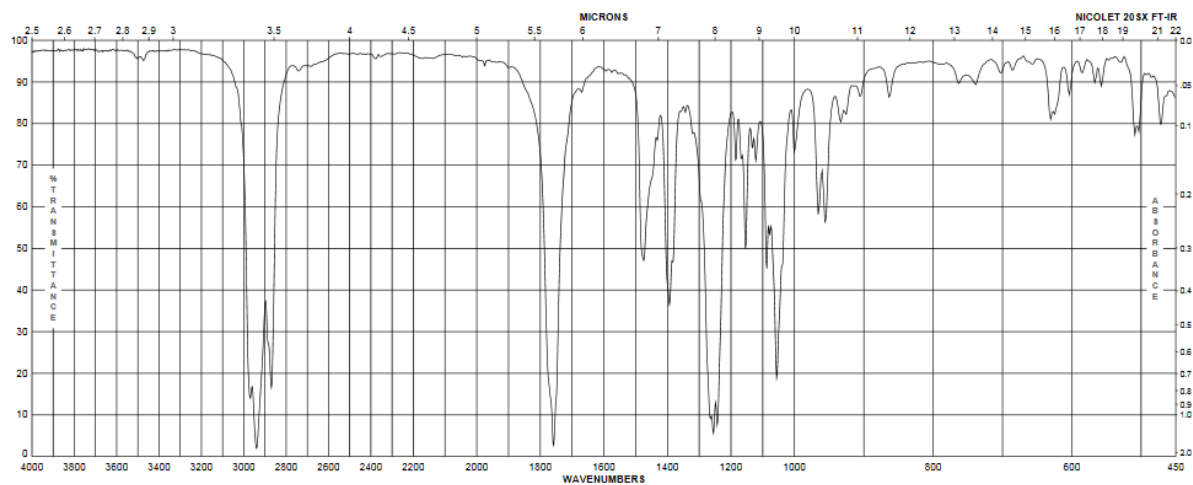
kolba dwuszyjna okrągłodenna poj. 100 mL
 chłodnica zwrotna
 rurka na środek suszący (bezw. CaCl₂)
 mieszadło magnetyczne
 termometr
 łaźnia wodna
 łaźnia olejowa
 zlewka poj. 200 mL
 zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

Celem ćwiczenia jest przeprowadzenie reakcji estryfikacji α -D-glukozy.

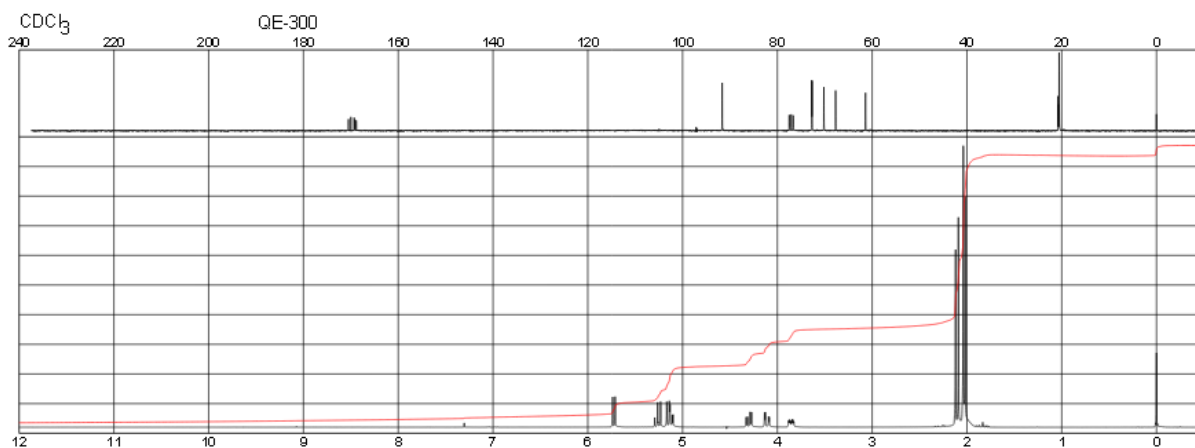
W dwuszyjnej kolbie kulistej o pojemności 100 mL zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, rurkę ze środkiem suszącym, termometr i mieszadełko magnetyczne umieszcza się 0,54 g bezwodnego chlorku cynku (**jest higroskopijny, dlatego należy go odważyć w zamkniętej fiolce i bardzo szybko umieścić w kolbie reakcyjnej**) i 12,3 mL bezwodnika octowego. Mieszaninę ogrzewa się na wrzącej łaźni wodnej, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego przez 5-10 minut, aż większość chlorku cynku ulegnie rozpuszczeniu. Następnie przez lejek umieszczony w szyjce kolby dodaje się powoli 2,52 g sproszkowanej D-glukozy. W czasie dodawania glukozy roztwór w kolbie należy mieszać łagodnie, aby kontrolować energicznie zachodzącą reakcję. Po dodaniu całej ilości D-glukozy mieszaninę ogrzewa się przez 1 godzinę w czaszy grzejnej w temperaturze 100 °C. Po tym czasie mieszaninę reakcyjną wylewa się do zlewki o pojemności 250 mL zawierającej 125 mL wody z lodem i miesza energicznie, aby ułatwić hydrolizę nieprzereagowanego bezwodnika octowego. Można zaobserwować wydzielanie się oleju, który po ok. 30 minutach stopniowo zestala się. Produkt odsącza się, przemywa dokładnie zimną wodą i krystalizuje kilkakrotnie z alkoholu etylowego aż do uzyskania stałej temperatury topnienia. Czysty produkt wykazuje t.t. 110-111 °C. Wydajność 3,5g (63%).

Dane spektroskopowe 1,2,3,4,6-penta-O-acetylo- α -D-glukopiranozy

Widmo IR (KBr, katalog Sigma Aldrich)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)

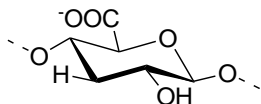


Zagadnienia

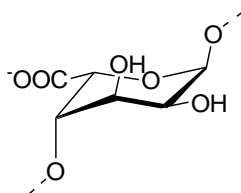
- Węglowodany; monosacharydy (budowa, nazewnictwo, podział, reaktywność)
- Reakcje estryfikacji
- Analiza widm – porównanie właściwości substratu i produktu

6.4. Łączenie zapachów i kolorów – formowanie alginianowych

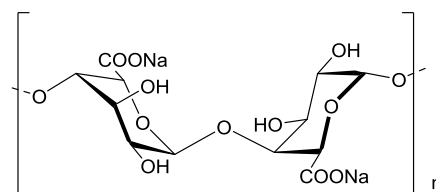
mikrokapsulek



KWAS β -D-MANNURONOWY (M)



KWAS α -L-GULURONOWY (G)



ALGINIAN SODU

Odczynniki:

1% roztwór CaCl_2
 2% roztwór alginianu sodu
 woda destylowana
 olejek zapachowy wyizolowany np. z lawendy
 lub kory cynamonowca

Aparatura i szkło:

zlewki poj. 150 mL i 100 mL
 strzykawka z igłą
 krystalizator
 lejek
 bagietka
 mieszadło magnetyczne

Alginyiany

Kwasy alginowe popularnie nazywane alginianami pozyskuje się z alg [klasa Brunatnic (*Phaeophyceae*)]. Kwasy alginowe najczęściej występują w postaci jednowartościowych soli, przykładem jest alginian sodu, który znalazł zastosowanie w przemyśle spożywczym jako zagęstnik, stabilizator, substancja żelująca (symbol E 401). Jest to proszek o białawej barwie, bez smaku i zapachu. W ciągu ostatnich kilku lat chętnie stosowany jest w kuchni molekularnej do uzyskania zaskakujących efektów kulinarnych w postaci dań o najróżniejszych smakach i kolorach serwowanych w postaci galaretowatych kuleczek. 1g Suchego alginianu sodu wiąże 25-30 g wody, a pH 1% roztworu (koloidalnego żelu) wynosi 6,0-8,5.

Pod względem budowy chemicznej cząsteczkę alginianu należy rozpatrywać jako liniowy kopolimer zbudowany z kwasu α -L-guluronowego (G) i β -D-mannuronowego (M), a obecność grup karboksylowych w obu monomerach powoduje, że alginian jest polianionem. W cząsteczce tego naturalnego polimeru można wyróżnić trzy bloki: blok zbudowany z kwasu guluronowego (G) lub mannuronowego (M) oraz blok mieszany (MG). W zależności od gatunku alg i rodzaju tkanki, z której wyizolowano alginian występuje zróżnicowana ilość poszczególnych monomerów, a także wielkość bloków, co bezpośrednio wpływa na właściwości tych związków, jak i żeli z nich otrzymywanych. Struktura przestrzenna bloków M przybiera kształt rozciągniętej wstążki, natomiast w blokach G występują regularne zgięcia. W wyniku tego tworzą się puste przestrzenie pomiędzy dwoma monomerami G, które rozmiarem odpowiadają jonowi wapnia, w związku z tym wykazują większe powinowactwo do tych jonów niż do jonów sodu. Żelowanie następuje po dodaniu jonów wapnia do alginianu bogatego w bloki zbudowane z kwasu guluronowego (G). Natomiast bloki zbudowane z kwasu mannuronowego (M) wykazują słabe powinowactwo do jonów wapnia i stąd w tych fragmentach żelu tworzą się rejony plastyczne.

Alginian sodu może tworzyć żele także w obecności jonów innych metali dwuwartościowych: baru, kobaltu, cynku, miedzi, żelaza i trójwartościowych: żelaza i glinu, jednak tak wytworzone żele nie znalazły powszechnego zastosowania z uwagi na m. in. problemy z biokompatybilnością.

Mikrokapsułkowanie

Proces ten polega na utworzeniu kapsulek, w których wyróżnić można dwie warstwy. Pierwszą jest rdzeń np. ciecz lub żel, a drugą warstwę stanowi otoczka utworzona z żelowego polimeru. Kapsułki alginianowe są tym bardziej wytrzymałe im więcej jest bloków G w ich strukturze. Alginian wapnia wykazuje małą odporność na środki chelatujące wapń takie jak aniony wielowartościowe np. fosforany, cytryniany, mleczany oraz kationy metali, które mogą wypierać wapń z polimeru. Ponadto, w celu zachowania stabilności kapsuł należy przechowywać je w środowisku wodnym, zwłaszcza żele bogate w bloki G, które łatwo ulegają synerezie (kurczenie żelu z jednoczesnym wydzieleniem się z niego płynu). Kapsułki alginianowe są biokompatybilne oraz biodegradowalne, a procedura otrzymywania żelu jest prosta, tania i nietoksyczna.

Celem ćwiczenia jest otrzymanie barwnych mikrokapsulek zawierających wewnątrz olejki zapachowe.

1g Alginianu sodu umieścić w zlewce o pojemności 100 mL i dodać 50 mL wody destylowanej, mieszać bagietką do uzyskania możliwie jednolitej masy. W celu otrzymania jednorodnej mieszaniny należy masę odstawić na kilka godzin, aby pozbyć się pęcherzyków powietrza.

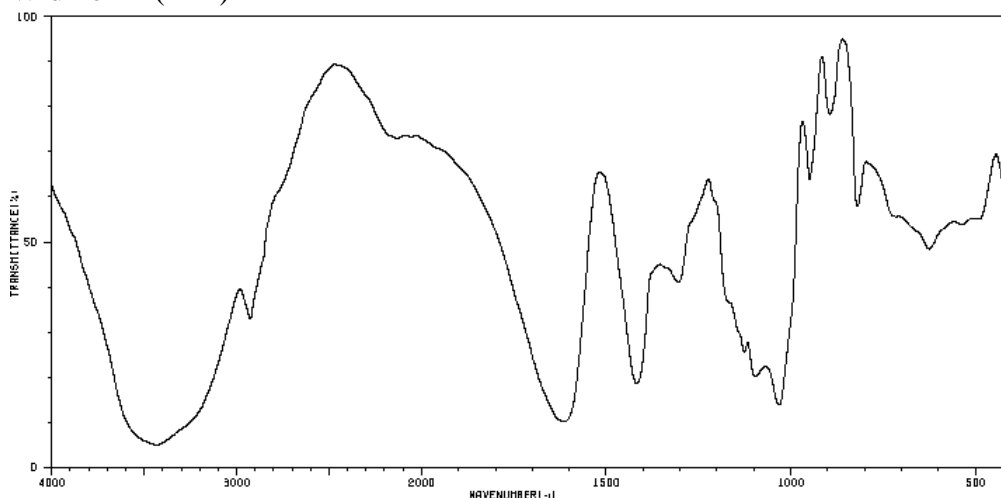
Przygotować 200 mL 1% wodnego roztworu chlorku wapnia w krystalizatorze, w którym należy umieścić też mieszadło magnetyczne, a krystalizator ustawić na mieszadle magnetycznym. Część masy alginianowej przenieść delikatnie do drugiej zlewki i dodać kilka kropli zapachowego olejku otrzymanego wg opisu na str. 5, 68, 71, 74 i 82. Olejki nie mogą zawierać rozpuszczalników organicznych ponieważ ich obecność wpływa niekorzystnie na formowanie się kapsulek.

Mieszać składniki bardzo powoli, tak aby nie powstały pęcherzyki powietrza, które przeszkodzą w prawidłowym formowaniu kapsulek.

Tak przygotowaną mieszaninę należy napełnić plastikową strzykawkę, umieścić na statywie 2 cm nad wcześniej uszykowanym krystalizatorem z roztworem chlorku wapnia i mieszadłem magnetycznym (umieszczonym na mieszadle magnetycznym) i powoli wkraplać, tak aby formowały się kształtne kuleczki. Po kilku minutach powstałe kulki można odsączyć i wypłukać w zlewce z wodą destylowaną.

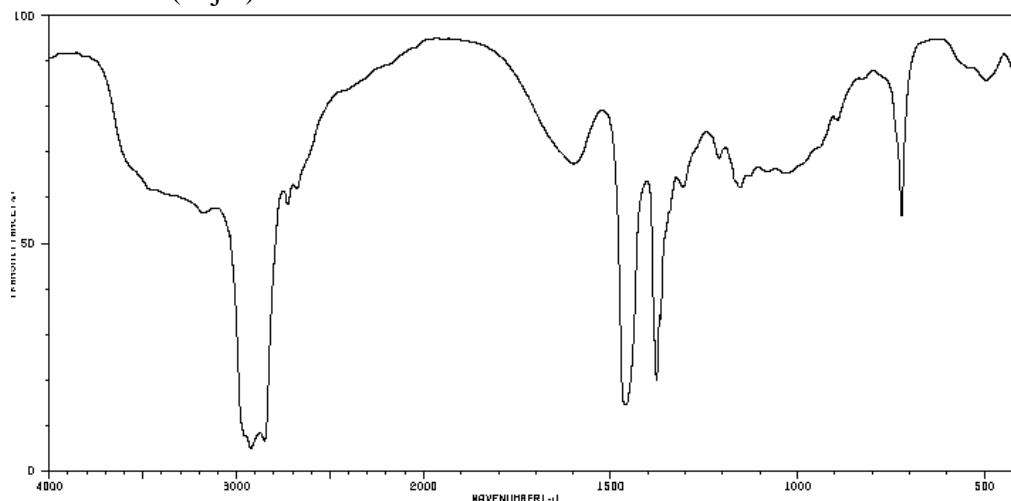
Dane spektroskopowe alginianu sodu

Widmo IR (KBr)



Wartości
liczb
falowych
(cm⁻¹)
2927
1620
1615
1418
1304
1126
1096
1032
949

Widmo IR (nujol)



Wartości
liczb
falowych
(cm⁻¹)
2943
2851
2825
1604
1599
1460
1377
1211
722

Zagadnienia

- Polisacharydy (podział, budowa, przykłady, właściwości, reaktywność)
- Zastosowanie alginianów

Literatura

Bartkowiak A., Brylak W. „Hydrożelowe mikrokapsułki z udziałem naturalnych i chemicznie modyfikowanych chitozanów – właściwości mechaniczne i porowate” *POLIMERY*, **2006**, *51*, 547.

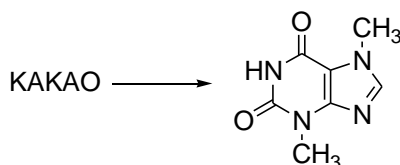
Wyłębska Ł., Szuster L., Stawska H. „Synteza i aplikacja nowych pochodnych wybranych polisacharydów. Część I: Przegląd literatury” *Technologia i Jakość Wyrobów*, **2014**, *59*, 3-16.

Pielesz A. „Algi i alginiany – leczenie, zdrowie i moda” 2010.

Khalil Saif El Din “Deposition and Structural Formation of 3D Alginate Tissue Scaffolds” PhD Thesis, Drexel University 2005.

7. Alkaloidy purynowe

7.1. Izolacja teobrominy z kakao



Metoda A

Odczynniki:

kakao	10 g
tlenek magnezu	3 g
metanol	10 mL
chlerek metylenu	350 mL
eter dietylowy	65 mL
jod	1 g
jodek potasu	2 g
etanol	100 mL

Aparatura i szkło:

kolba kulista poj. 250 mL
czasza grzejna
kolba stożkowa z korkiem
cylinder miarowy
kolba kulista poj. 100 mL
chłodnica zwrotna
łyżka metalowa
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
zlewka poj. 500 mL
szkiełko zegarkowe

Izolację należy przeprowadzić pod wyciągiem.

W kolbie o poj. 250 mL wymieszać tlenek magnezu (3g), 10 mL wody, 10 mL metanolu oraz kakao (10 g). Mieszaninę ostrożnie ogrzewać w czaszy grzejnej, obracając kolbę i mieszać bagietką tak długo, aż masa stanie się sucha (ok. 1 godz). Otrzymaną suchą masę ochłodzić do temperatury pokojowej, dodać do niej 175 mL chlorku metylenu, kamyczki wrzenne i ogrzewać do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 30 min. Następnie przesączyć mieszaninę na gorąco na lejku Büchnera. Otrzymany osad rozkruszyć, przenieść do kolby okrągłodennej i ponownie zalać 175 mL chlorku metylenu. Mieszaninę ogrzewać do wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 30 min i znów przesączyć na lejku Büchnera. Połączone roztwory osuszyć nad bezw. Na₂SO₄. Następnie odsączyć środek suszący i przesącz przenieść (porcjami) do wytarowanej kolby o poj. 100 mL, zateżyć pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce obrotowej. W kolbie musi pozostać ok. 10 mL roztworu, który należy ochłodzić do temperatury pokojowej, dodać 45 mL eteru dietylowego i pozostawić do krystalizacji. Otrzymany mikrokryształiczny osad odsączyć na lejku Büchnera i przemywać pięciokrotnie 10 mL porcjami eteru dietylowego. Otrzymuje się ok. 0,15 g teobrominy o t.t. 351 °C.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluenty: chloroform-metanol (9:1, v/v).

Płytkę zanurzyć w świeżo przygotowanym odczynniku do wykrywania alkaloidów purynowych (1,2 g I₂, 2 g KI, w 100 mL EtOH). Po wysuszeniu płytki – najpierw pomiędzy papierowymi ręcznikami, a

następnie w ciepłym strumieniu powietrza suszarki – zanurzyć ją w mieszaninie 25% kwasu solnego i etanolu w stosunku 1:1 (v/v). Plamka pochodząca od teobrominy wybarwia się na kolor szaroniebieski.

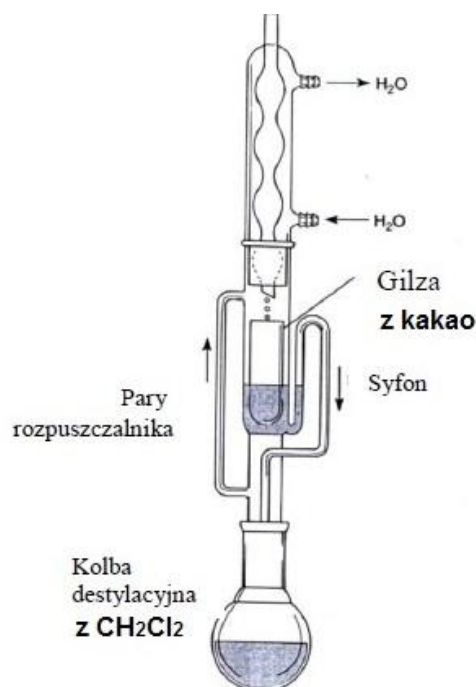
Metoda B

Odczynniki:

kakao	10 g
tlenek magnezu	3 g
metanol	10 mL
chlorek metylenu	350 mL
eter etylowy	50 mL
jod	1 g
jodek potasu	2 g
etanol	100 mL
Celit	

Aparatura i szkło:

Aparat Soxhletha z kolbą kulistą poj. 250 mL
czasza grzejna
cylinder miarowy
kolba kulista poj. 50 mL
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem



Rysunek. Aparat Soxhletha i mechanizm działania.

W zlewce zmieszać tlenek magnezu (3g) z 10 mL wody, do tej zawiesiny dodać kakao (10 g) i ponownie wymieszać, tak aby nie było jasnych grudek. Następnie dodać 4,5 g ziemi okrzemkowej (Celit) i mieszać do uzyskania sypkiej mieszaniny. Otrzymany osad przenieść do gotowej gilzy (lub do uformowanej z bibuły) włożyć do aparatu Soxhletha (pamiętać o włożeniu kamyczków wrzennych do kolby destylacyjnej). Do układu z gilzą delikatnie wprowadzić 100 mL chlorku metylenu, tak aby doszło do pierwszego przemycia gilzy z mieszaniną kakao i Celitu. Poczekać, aż rozpuszczalnik przeleje się przez syfon do kolby i powtórzyć proces z kolejną porcją 100 mL chlorku metylenu. Gdy kolba destylacyjna

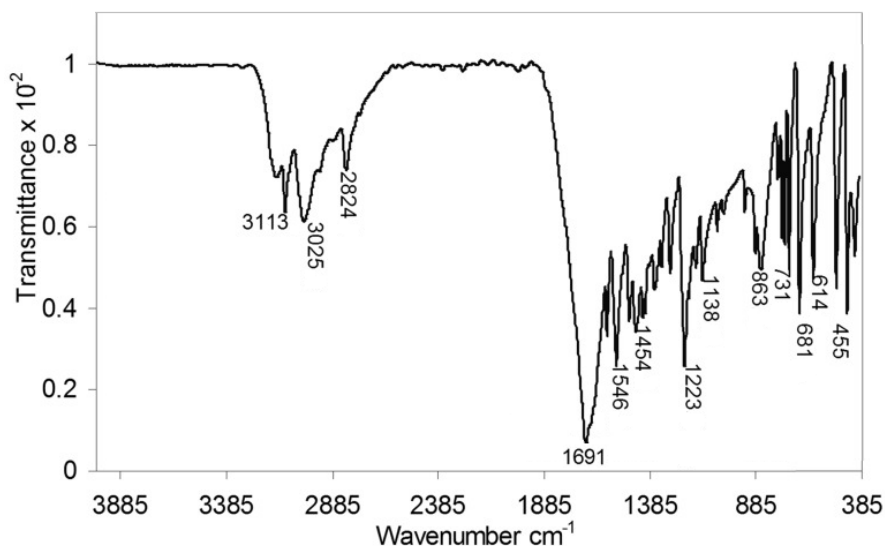
zapełni się do połowy rozpocząć ogrzewanie układu. Ogrzewać w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną przez 1 godz. Po ostudzeniu do kolby dodać środek suszący (bezw. Na_2SO_4) i po wysuszeniu roztwór przesączyć bezpośrednio do wytarowanej kolby okrągłodennej. Przeprowadzić analizę czystości otrzymanego surowego produktu (TLC), a następnie rozpuszczalnik odparować na wyparce próżniowej i zważyć surowy produkt.

Przeprowadzić krystalizację otrzymanego związku z mieszaniny chlorek metylenu-eter dietylowy (5:20, v/v). Otrzymany mikrokrystaliczny osad odsączyć na małym lejku Büchnera i przemyć 10 mL eteru dietylowego. Otrzymaną teobrominę zważyć i obliczyć jej zawartość w kakao (t.t. 351 °C).

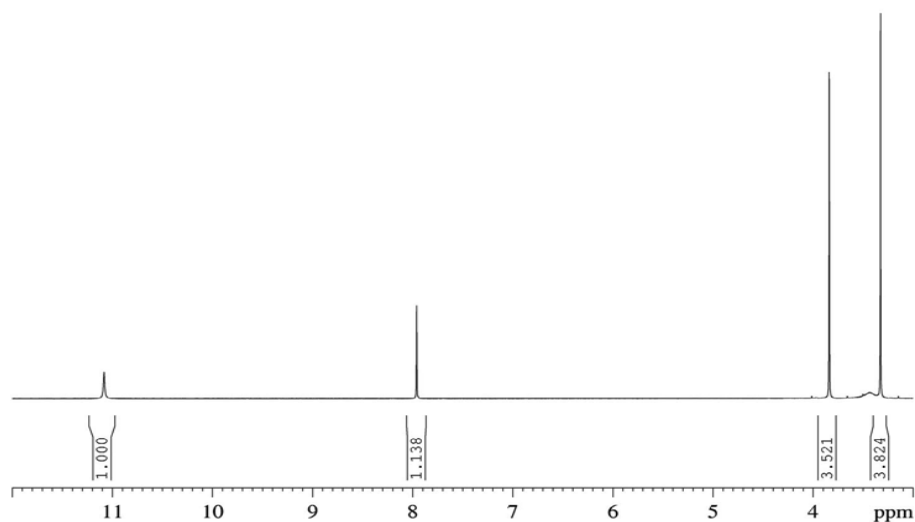
Porównać uzyskane masy i czystości (TLC) produktu otrzymanego metodą A i metodą B.

Dane spektroskopowe teobrominy

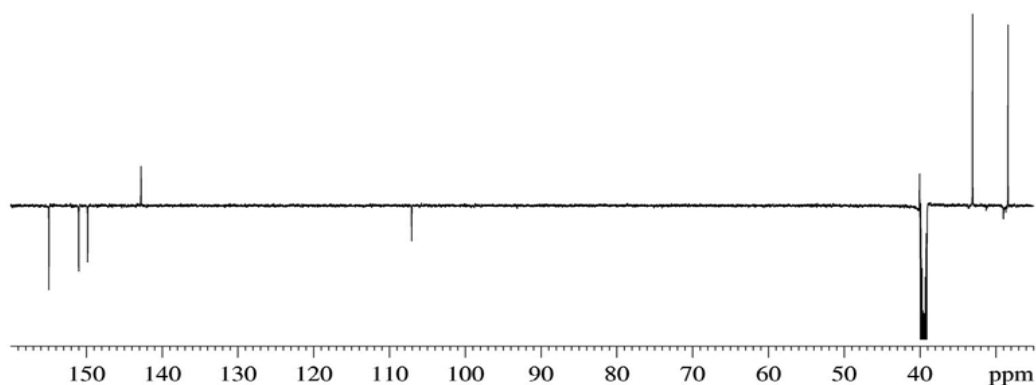
Widmo IR (KBr)



Widmo ¹H NMR w DMSO-d₆ (400 MHz)



Widmo APT ^{13}C NMR w DMSO-d_6 (400 MHz)



Zagadnienia

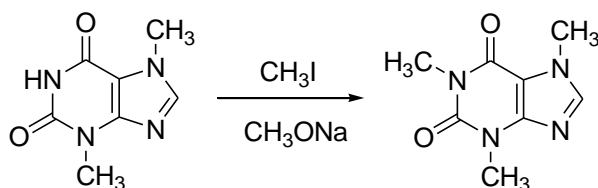
- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Alkaloidy purynowe; reakcje charakterystyczne; modyfikacje chemiczne
- Rozróżnienie teobrominy od kofeiny na podstawie reakcji barwnych oraz widm IR i NMR

Literatura

http://pl.wikipedia.org/wiki/Plik:Soxhlet_mechanism.gif (09.01.2020)

<http://www.e-biotechnologia.pl/Artykuly/ekstrakcja> (09.01.2020)

7.2. Metylowanie teobrominy do kofeiny



Odczynniki:

teobromina	0,20 g
sód	0,05g
bezw. metanol	12 mL
jodek metylu	2,4 mL

Aparatura i szkło:

kolby okrągłodenne poj. 25 mL (2 szt.)
 chłodnica zwrotna
 rurka na środek suszący (bezw. CaCl₂)
 łaźnia olejowa
 rozdzielacz
 lejek do sączenia
 kolba stożkowa 100 mL

Reakcję prowadzić pod wyciągiem w warunkach bezwodnych

Metoda A

W kolbie okrągłodennej o pojemności 25 mL sporządzić zawiesinę teobrominy (0,20 g) w bezwodnym metanolu (6 mL) i do całości wprowadzić świeżo przygotowany roztwór metanolanu sodu, otrzymany w wyniku reakcji 0,05 g sodu z 6 mL bezwodnego metanolu [1]. Całość mieszać na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez kilka minut aż teobromina rozpuści się i roztwór przybierze barwę żółtą. Następnie wprowadzić do kolby jodek metylu (2,4 mL). Po 60 i 90 minutach postęp reakcji skontrolować za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem, do kolby dodać wodę (15 mL) i przeprowadzić trzykrotną ekstrakcję chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty organiczne osuszyć nad bezwodnym Na₂SO₄, środek suszący odsączyć i przesącz odparować pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się surową kofeinę w postaci brązowego ciała stałego, którą można krystalizować z acetonu lub układu rozpuszczalników aceton-eter naftowy. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i obliczyć wydajność reakcji. Zmierzyć temperaturę topnienia czystego związku (lit. t.t. 234-236 °C).

Metoda B

W kolbie okrągłodennej o pojemności 25 mL sporządzić zawiesinę teobrominy (0,20 g) w bezwodnym metanolu (6 mL) i do całości wprowadzić świeżo przygotowany

roztwór metanolanu sodu, otrzymany w wyniku reakcji 0,05 g sodu z 6 mL bezwodnego metanolu [1]. Całość mieszać na mieszadle magnetycznym w temperaturze pokojowej przez kilka minut aż teobromina rozpuści się i roztwór przybierze barwę żółtą. Następnie wprowadzić do kolby jodek metylu (2,4 mL) i ogrzewać pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 50-60 °C (łaźnia olejowa). Po 40 minutach postęp reakcji kontrolować za pomocą TLC. Po zakończeniu reakcji rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem, do kolby dodać wodę (15 mL) i przeprowadzić trzykrotną ekstrakcję chlorkiem metylenu. Połączone ekstrakty organiczne osuszyć nad bezwodnym Na₂SO₄, środek suszący odsączyć i przesącz odparować pod zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się surową kofeinę w postaci brązowego ciała stałego, którą można krystalizować z acetonu lub układu rozpuszczalników aceton-eter naftowy. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i obliczyć wydajność reakcji. Zmierzyć temperaturę topnienia czystego związku (lit. t.t. 234-236 °C).

Uwagi

[1] Roztwór metanolanu sodu przygotować w kolbie zabezpieczonej przed dostępem wilgoci rurką z środkiem suszącym (bezw. CaCl₂). Do kolby okrągłodennej o pojemności 25 mL zawierającej 4 mL bezwodnego metanolu stopniowo (w 3-4 porcjach) dodać 0,05 g sodu. Kolejną porcję sodu można wprowadzić po rozтворzeniu się poprzedniej porcji. Gdy szybkość roztwarzania sodu znacznie się zmniejszy, do kolby wprowadzić ostrożnie dodatkową ilość (ok. 2 mL) bezwodnego metanolu. W razie potrzeby kolbę chłodzić w łaźni woda-lód.

Chromatografia cienkowarstwową (TLC)

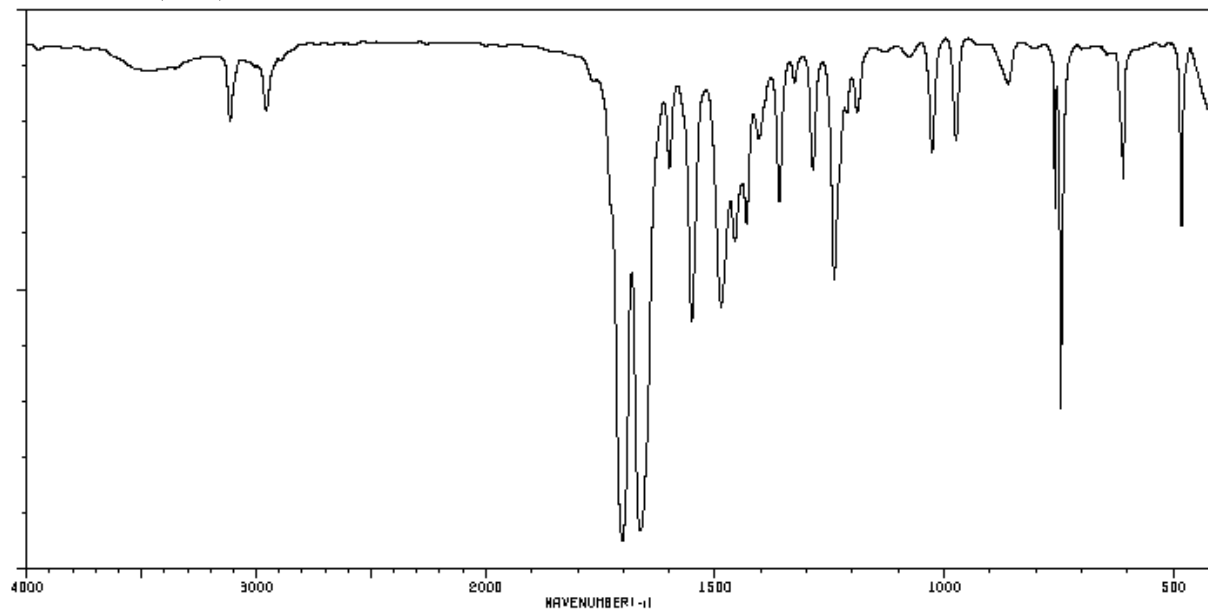
Eluenty: chloroform; chlorek metylenu: metanol (97:3, v/v)

Płytkę zanurzyć w odczynniku do wykrywania alkaloidów purynowych (1,2 g I₂, 2 g KI, w 100 mL EtOH). Po wyschnięciu płytki zanurzyć ją w mieszaninie 25% roztworu kwasu solnego i etanolu w stosunku (1:1, v/v). Plamka pochodząca od kofeiny wybarwia się na kolor ciemnobrunatny, a plamka pochodząca od teobrominy wybarwia się na kolor szaroniebieski.

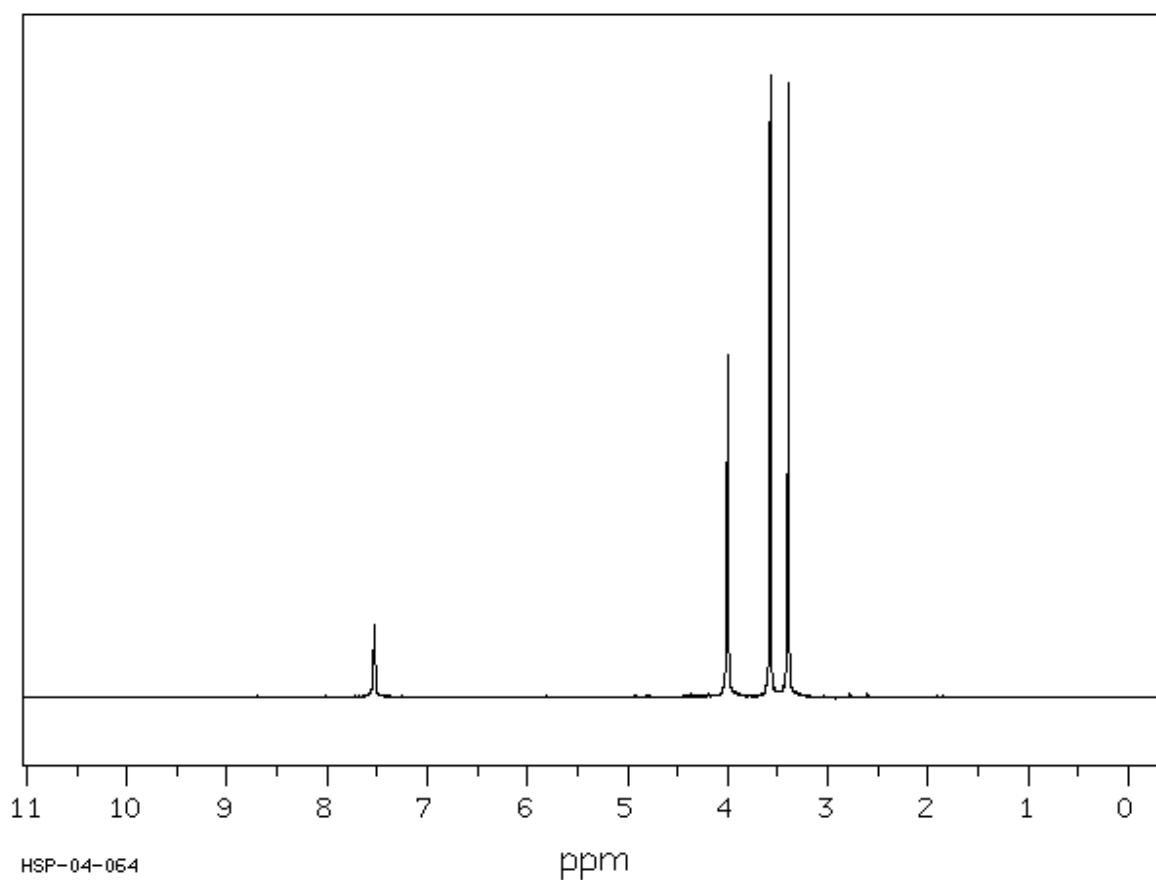
Dane spektroskopowe kofeiny

Baza SDBS, <https://sdb.sdb.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 17. 09. 2019)

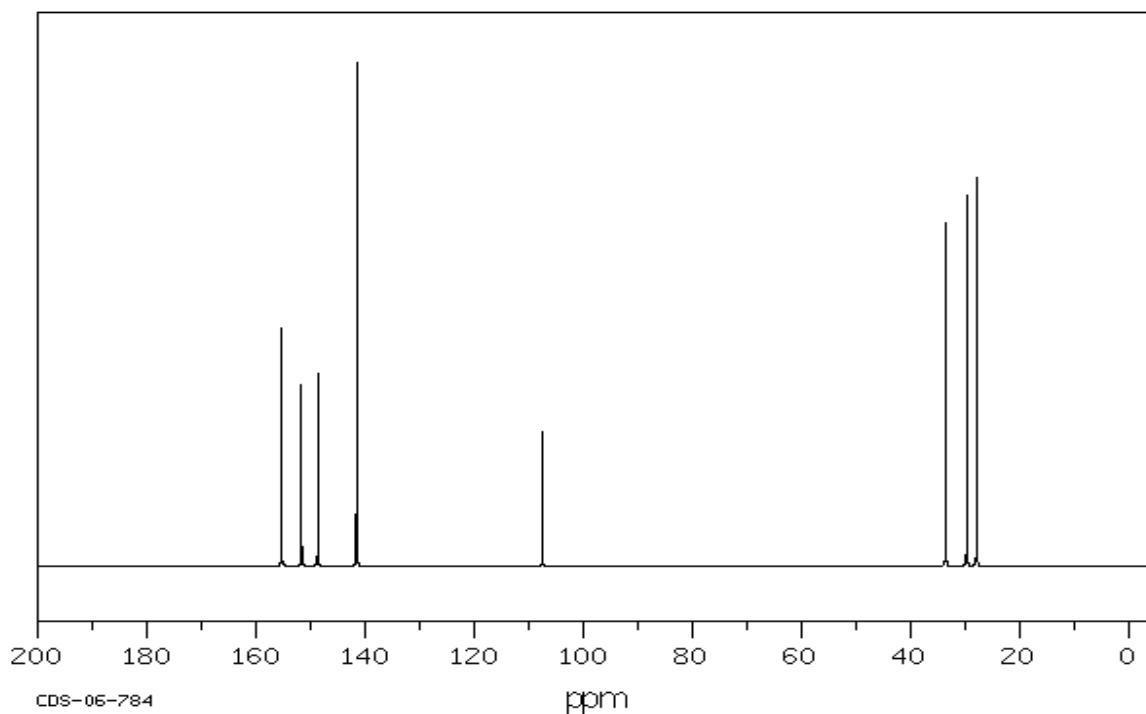
Widmo IR (KBr)



Widmo ^1H NMR w CDCl_3



Widmo ^{13}C NMR w CDCl_3



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Alkaloidy purynowe; reakcje charakterystyczne; modyfikacje chemiczne
- Rozróżnienie teobrominy od kofeiny na podstawie widm IR i NMR

Literatura

González-Calderón D., González-González C. A., Fuentes-Benites A., González-Romero C. "Synthesis of caffeine from theobromine: bringing back an old experiment in a new setting" *Educ. Quím.*, **2015**, 26 (1), 9-12.

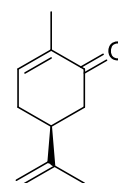
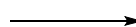
Clarke, R. J. "The Flavour of Coffee" *Dev. Food Science*, **1986**, 3B, 1-47.

8. Terpeny

8.1. Izolacja olejku kminkowego



NASIONA KMINKU



(+)-KARWON

Celem ćwiczenia jest porównanie dwóch metod: A i B izolacji produktów naturalnych.

Metoda A

Odczynniki:

nasiona kminku	20 g
chloroform	60 mL
bezw. Na ₂ SO ₄	
wanilina	

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
kolby okrągłodenne poj. 500 mL, poj. 250 mL
rozdzielacz poj. 500 mL
kolba stożkowa poj. 250 mL

W kolbie o poj. 500 mL umieścić 20 g zmielonego kminku i dodać 150 mL wody. Następnie należy zmontować układ do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1 (str. 5). Przeprowadzić destylację olejku kminkowego. Zebrać około 200 mL destylatu. Destylat zawiera karwon, który należy wyekstrahować chloroformem (4 x 30 mL). Połączone ekstrakty przemyć wodą destylowaną (2 x 20 mL) i suszyć nad bezw. siarczanem sodu (ok. 30 min, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego), odsączyć środek suszący. Osuszony roztwór przenieść do wytarowanej kolby o poj. 250 mL i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce. Otrzymuje się olejek kminkowy zawierający (S)-(+)-karwon. Zważyć i obliczyć zawartość olejku kminkowego w materiale roślinnym.

Metoda B

Odczynniki:

nasiona kminku	20 g
eter dietylowy	150 mL
wanilina	

Aparatura i szkło:

kolba stożkowa poj. 500 mL
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
kolby okrągłodenne poj. 250 mL, poj. 50 mL

Do kolby stożkowej o poj. 500 mL wsypać zmielone nasiona kminku i zalać całość eterem dietylowym (150 mL). Wymieszać dokładnie tak, aby cały wsad był zanurzony w rozpuszczalniku i odstawić mieszaninę na 30 minut, od czasu do czasu wstrząsając i mieszając zawartość kolby.

Następnie przygotować zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem i przesączyć mieszaninę. Kolbę i osad na lejku dodatkowo przepłukać eterem dietylowym.

Otrzymany klarowny przesącz przelać do wytarowanej kolby okrągłodennej i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce.

Zważyć otrzymany olejek kminkowy i obliczyć jego zawartość w zmielonym kminku.

Na podstawie analizy TLC porównać czystość otrzymanych produktów metodami A i B.

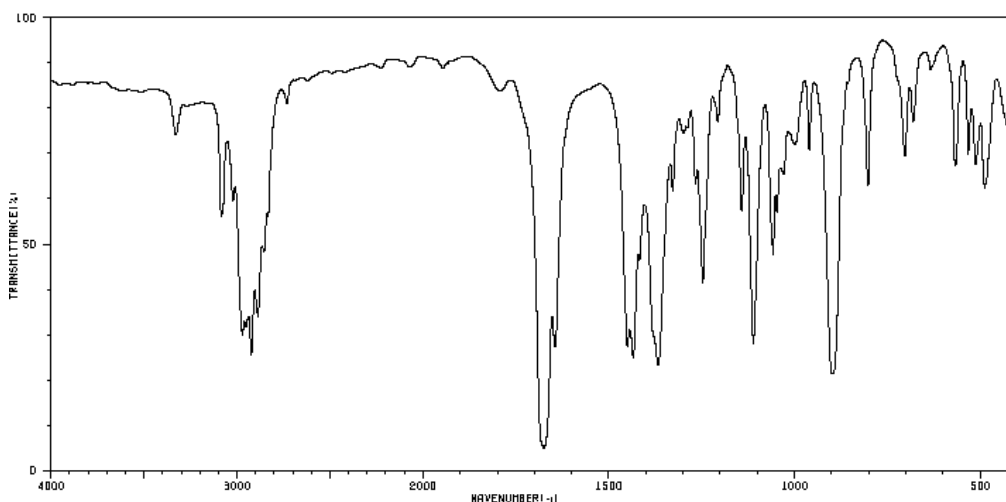
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC).

Eluent: heksan-octan etylu (9:1, v/v).

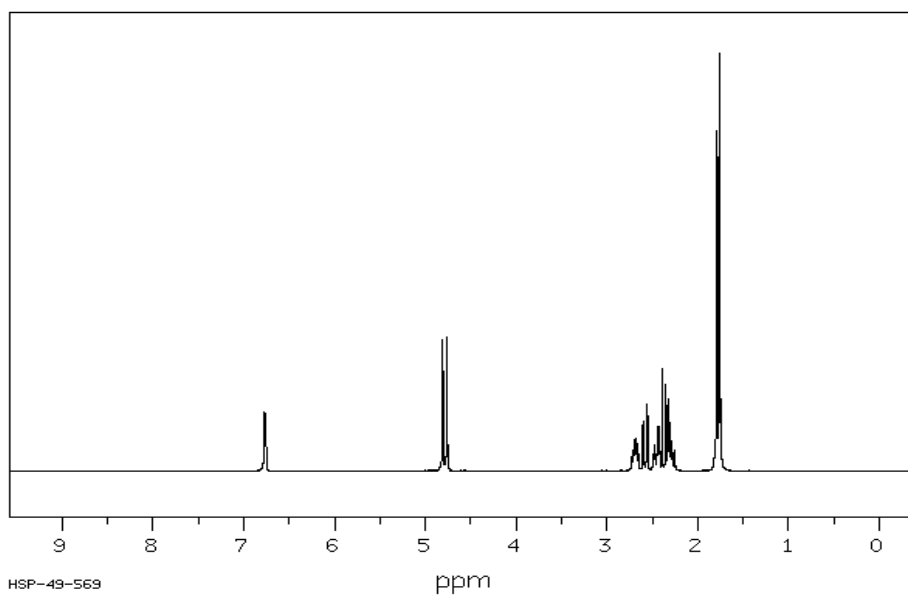
Po wysuszeniu płytkę zanurzyć w roztworze waniliny (1 g waniliny rozpuścić w 100 mL stężonego kwasu siarkowego). Osuszyć płytkę i wywołać termicznie poprzez delikatne podgrzanie na płytce elektrycznej. Plamka pochodząca od karwonu wykazuje zabarwienie różowe. Pozostałe plamki, o zabarwieniu żółtym i brązowym, pochodzą od antocyjanów, limonenu oraz barwników – pigmentów, m. in. chlorofilu.

Dane spektroskopowe karwonu

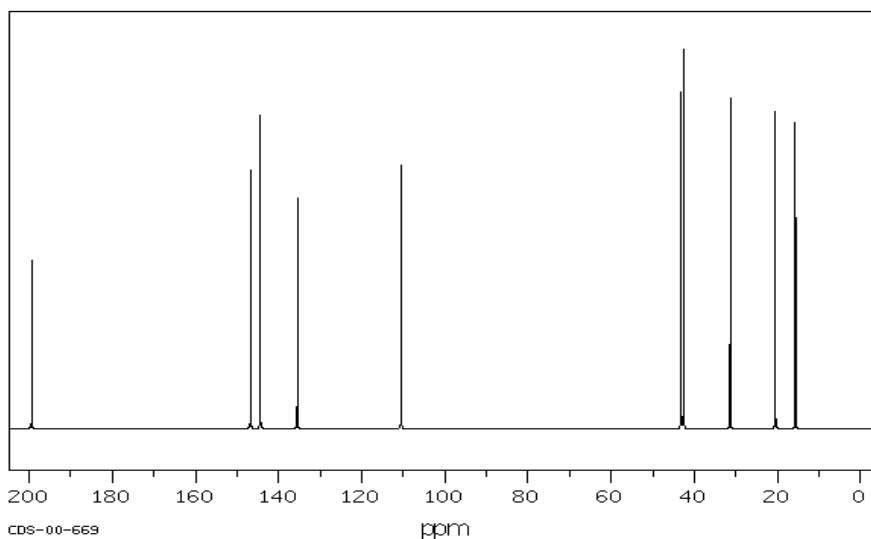
Widmo IR (film)



Widmo ^1H NMR w CDCl_3 (400 Hz)



Widmo ^{13}C NMR w CDCl_3



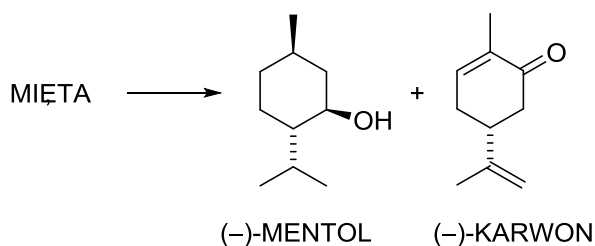
Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Olejki eteryczne (przykłady, zastosowanie)
- Terpeny (budowa, podział, synteza i modyfikacja)
- Stereochemia
- Analiza widm produktu

Literatura

<http://cnx.org/content/m15591/latest/> (23.12.2019)

8.2. Izolacja olejku mięty pieprzowej



Celem ćwiczenia jest porównanie dwóch metod: A i B izolacji produktów naturalnych.

Metoda A

Odczynniki:

świeża mięta pieprzowa	20 g
chloroform	60 mL
bezw. Na ₂ SO ₄	
wanilina	1 g
kwas fosfomolibdenowy	10 g
etanol	50 mL

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
rozdzielacz poj. 500 mL
kolba stożkowa poj. 250 mL
kolba okrągłodenna poj. 250 mL
kolba okrągłodenna poj. 50 mL

W kolbie umieścić 20 g mięty i zalać 150 mL wody. Przeprowadzić destylację z parą wodną według opisu w ćwiczeniu 1 (str. 5). Zebrać 200 mL destylatu.

Destylat zawiera m. in. (-)-mentol i (-)-karwon, które należy wyekstrahować kilkoma porcjami chlorku metylenu (5 x 30 mL). Połączone ekstrakty suszyć nad bezw. siarczanem sodu (ok. 30 min, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego). Osuszony roztwór odsączyć od środka suszącego do wytarowanej kolby o poj. 250 mL i rozpuszczalnik oparować pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce. Otrzymuje się ok. 0,2 g olejku zawierającego m. in. (-)-mentol i (-)-karwon.

Metoda B

Odczynniki:

świeża mięta pieprzowa	20 g
chloroform	50 mL
etanol	50 mL
wanilina	1 g
kwas fosfomolibdenowy	10 g

Aparatura i szkło:

kolba stożkowa poj. 500 mL
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
kolba okrągłodenna poj. 250 mL
kolba okrągłodenna poj. 50 mL

W kolbie stożkowej o poj. 500 mL umieścić miętę (20 g) i zalać ją chloroformem (50 mL). Wymieszać dokładnie, tak aby cały wsad był zanurzony w rozpuszczalniku.

Odstawić mieszaninę na 30 minut i od czasu do czasu wstrząsnąć i zamieszać zawartość kolby. Następnie przygotować zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem i przesączyć mieszaninę. Przemyć kolbę chloroformem i wylać pozostałość na miętę na lejku, przemywając ją ponownie. Następnie miętę przenieść do kolby stożkowej i zalać chloroformem. Pozostawić na 30 min. Całą operację powtórzyć jeszcze raz.

Otrzymane klarowne przesącze połączyć i zatężyć na wyparce pod zmniejszonym ciśnieniem, następnie pipetką przenieść do wytarowanej fiołki. Po całkowitym odparowaniu rozpuszczalnika, zważyć otrzymany olejek i obliczyć zawartość procentową olejku w stosunku do masy liści mięty.

Przeprowadzić porównawczą analizę TLC produktów otrzymanych metodami A i B.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) – wykrywanie mentolu:

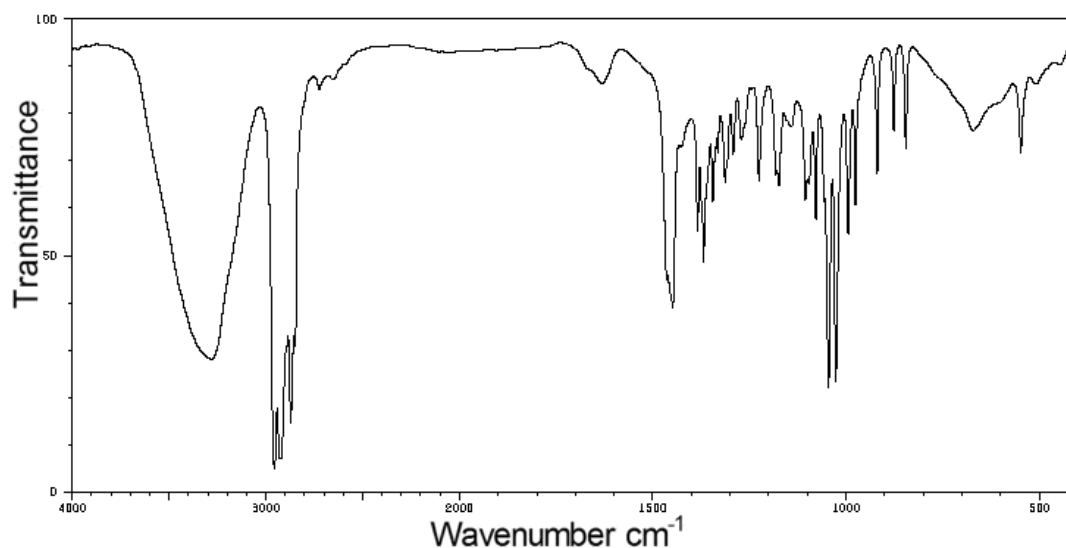
Eluent: heksan-metanol-chloroform (8:2:2, v/v/v). Po wysuszeniu płytkę zanurzyć w roztworze kwasu fosfomolibdenowego (10 g kwasu rozpuścić w 50 mL etanolu). Następnie płytkę ogrzewać kilka minut w temp. ok. 100 °C. Plamka pochodząca od mentolu wykazuje niebieskie zabarwienie.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) – wykrywanie karwonu:

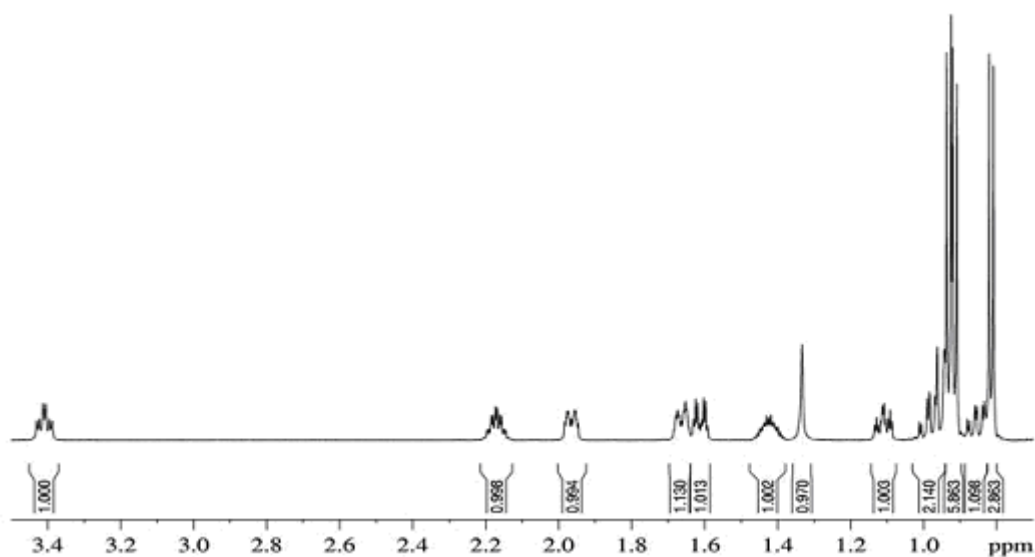
Eluent: heksan-octan etylu (9:1, v/v). Po wysuszeniu płytkę zanurzyć w roztworze waniliny (1 g waniliny rozpuścić w 100 mL stężonego kwasu siarkowego albo 0,5 g waniliny w 100 mL mieszaniny stęż. kwasu siarkowego i EtOH 4:1, v/v). Osuszyć płytkę i wywołać termicznie poprzez delikatne podgrzanie na płytce elektrycznej. Plamka pochodząca od karwonu wykazuje zabarwienie różowe.

Dane spektroskopowe mentolu

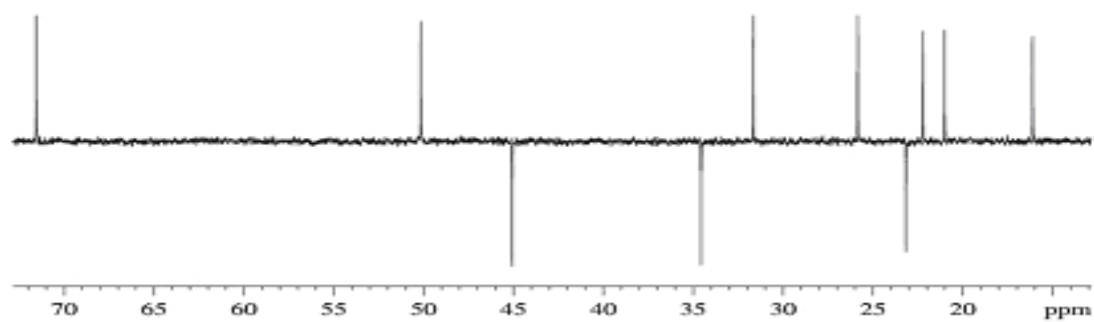
Widmo IR (KBr)



Widmo ^1H NMR w CDCl_3 (600 MHz)



Widmo APT ^{13}C NMR w CDCl_3 (150 MHz).

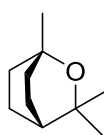


Zagadnienia

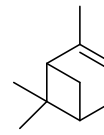
- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Olejki eteryczne (przykłady, zastosowanie)
- Terpeny (budowa, podział, synteza i modyfikacja)
- Stereochemia
- Analiza widm produktów (mentolu i karwonu)

8.3. Izolacja olejku rozmarynowego

LIŚCIE ROZMARYNU → OLEJEK ROZMARYNOWY



EUKALIPTOL



α -PINEN

Odczynniki:

liście rozmarynu 20 g
chloroform
bezw. Na₂SO₄

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
rozdzielacz
płytką grzejną
kolbki stożkowe poj. 250 mL

Destylacja z parą wodną liści rozmarynu

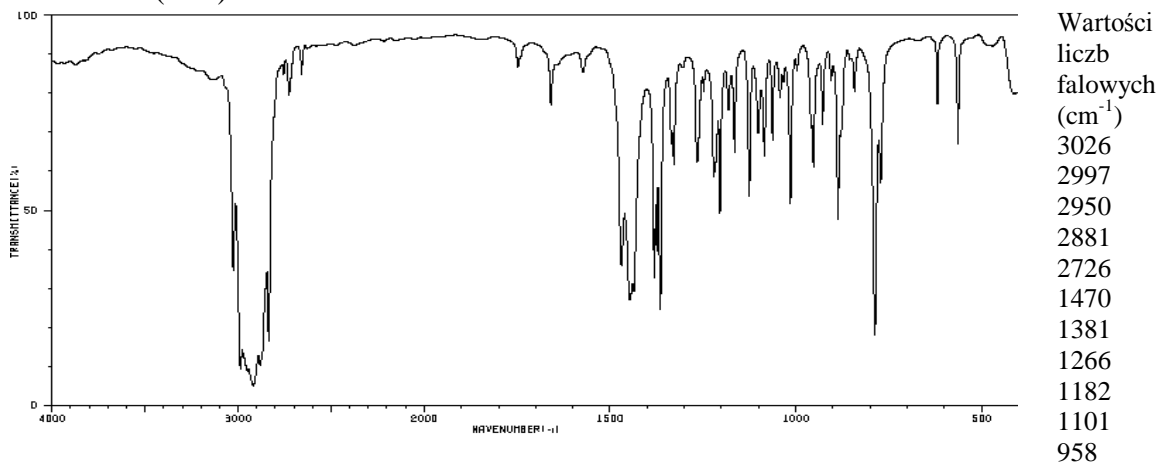
Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1, str. 5. W kolbie o pojemności 500 mL umieścić 20 g liści rozmarynu i dodać 100-150 mL wody destylowanej. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 150-200 mL destylatu, objętość zebranego destylatu zanotować. Następnie destylat przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chloroformem (6 x 50 mL). Otrzymane ekstrakty połączyć i suszyć nad bezw. siarczanem sodu (ok. 30 min, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego), odsączyć środek suszący. Następnie przesącz odparować pod zmniejszonym ciśnieniem w wytarowanej kolbie. Obliczyć procentową zawartość otrzymanego olejku w liściach rozmarynu.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

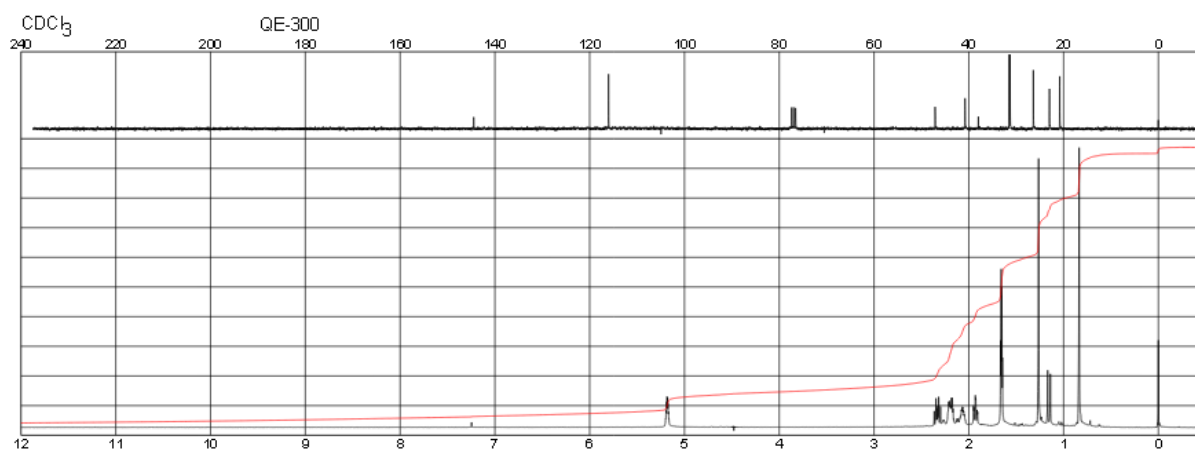
Eluenty: eter dietylowy-heksan (1:9, v/v) lub toluen-octan etylu (93:7, v/v).
Chromatogram wywołać w komorze z jodem.

Dane spektroskopowe α -pinenu

Widmo IR (film)

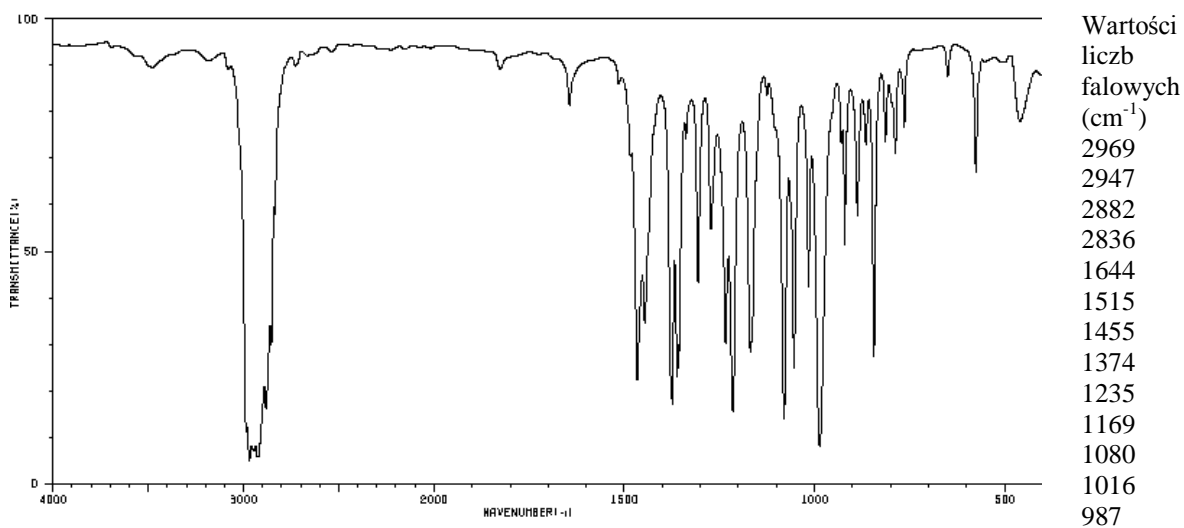


Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)

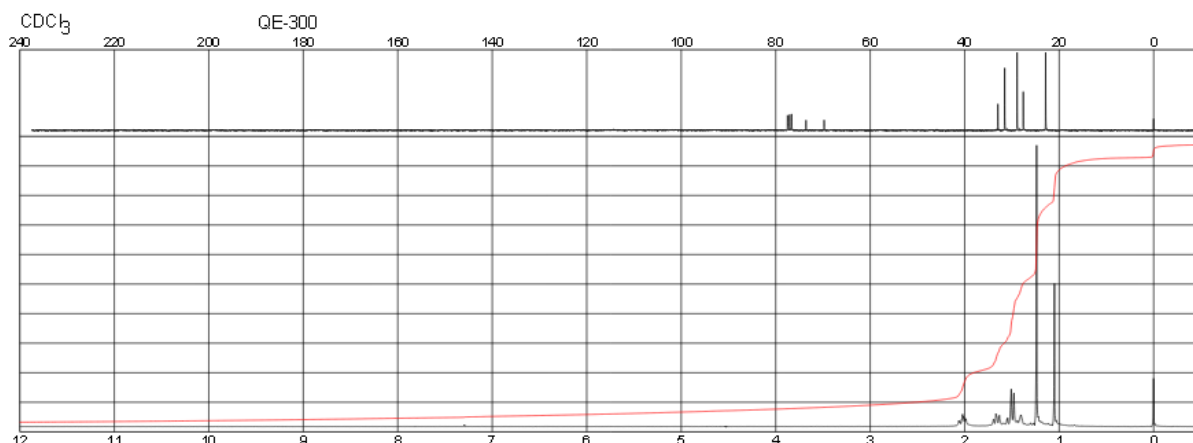


Dane spektroskopowe eukaliptolu

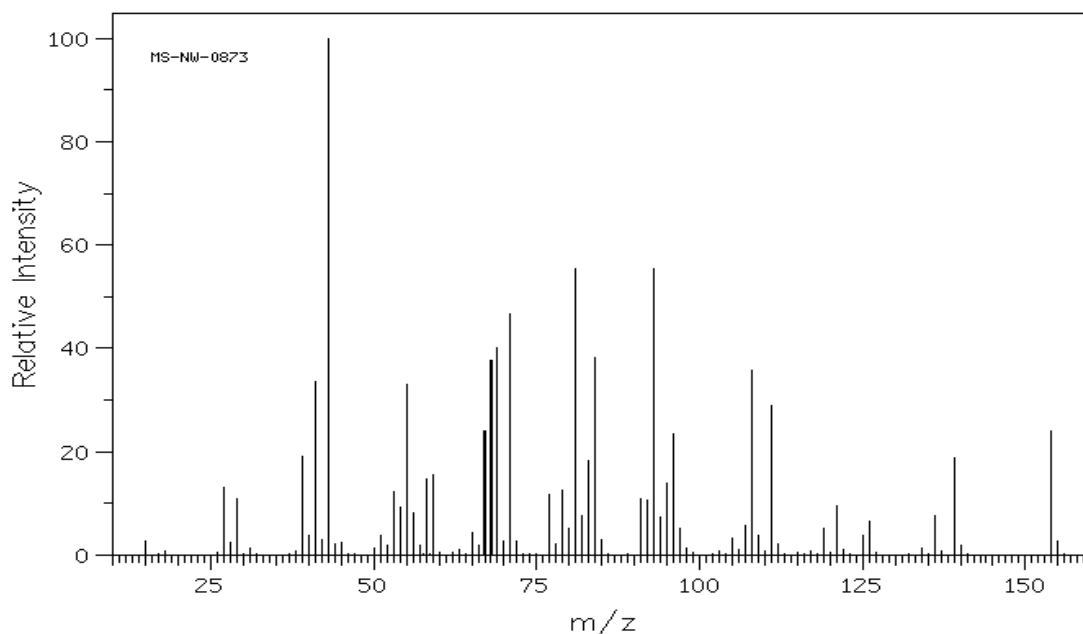
Widmo IR (film)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



Widmo EI-MS ($M=154$ g/mol)



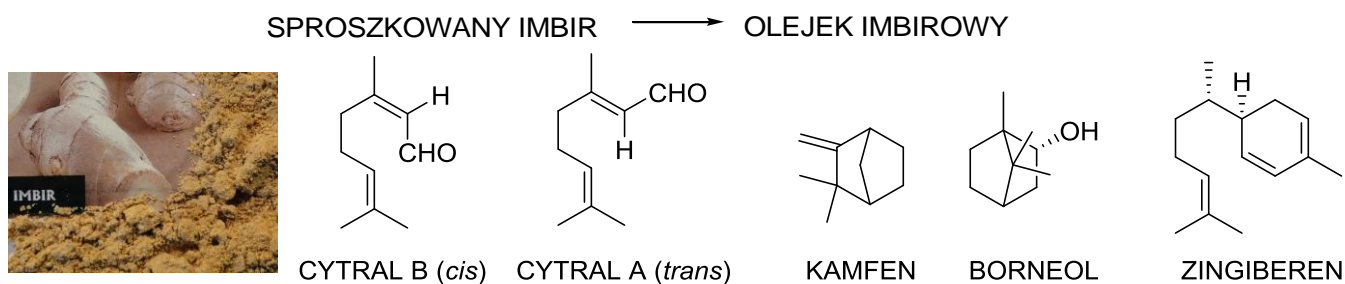
Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Olejki eteryczne (przykłady, zastosowanie)
- Terpeny (budowa, podział, synteza i modyfikacja)
- Analiza widm produktów

Literatura

Wolski T., Hołderna-Kędzia E., Ludwiczuk A. „Ocena składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków eterycznych i preparatów galenowych otrzymywanych z liści rozmarynu i szalwii lekarskiej” *Postępy Fitoterapii*, **2001**, 4, 6-11.

8.4. Izolacja olejku imbirowego



Odczynniki:

sproszkowany imbir 10 g
chloroform
bezw. Na₂SO₄

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
rozdzielacz
płyta grzejna
kolbki stożkowe poj. 250 mL

Celem ćwiczenia jest otrzymanie olejku imbirowego.

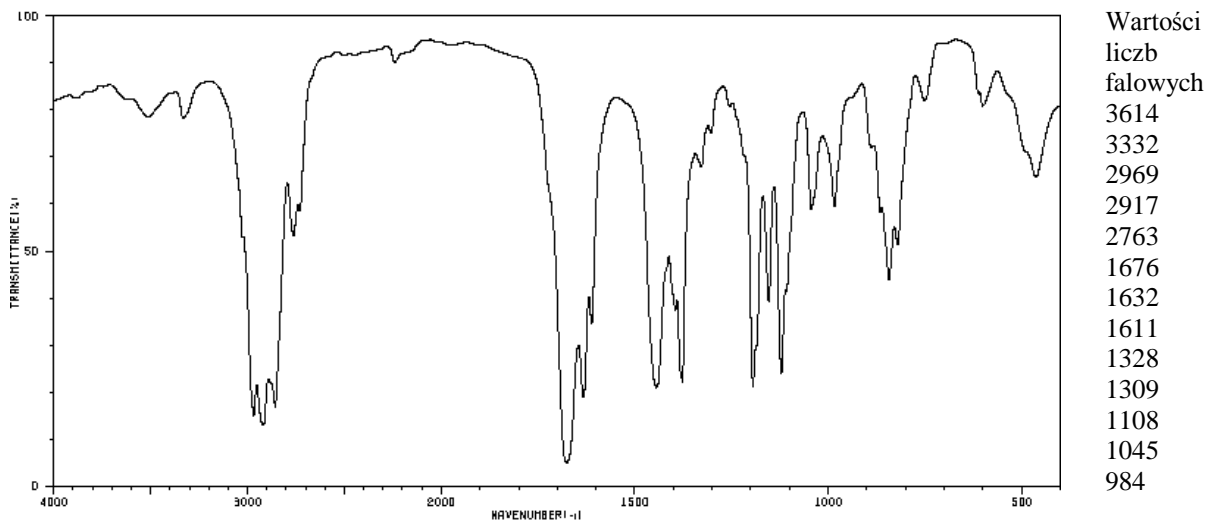
Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1, str. 5. W kolbie o pojemności 500 mL umieścić 10 g sproszkowanego imbiru i dodać 100-150 mL wody destylowanej. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 150-200 mL destylatu, zanotować objętość zebranego destylatu. Następnie destylat przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chloroformem (6 x 50 mL). Otrzymane ekstrakty suszyć nad bezw. siarczanem sodu (ok. 30 min, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego), odsączyć środek suszący. Następnie rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem w wytarowanej uprzednio kolbie. Obliczyć zawartość olejku w imbirze.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC):

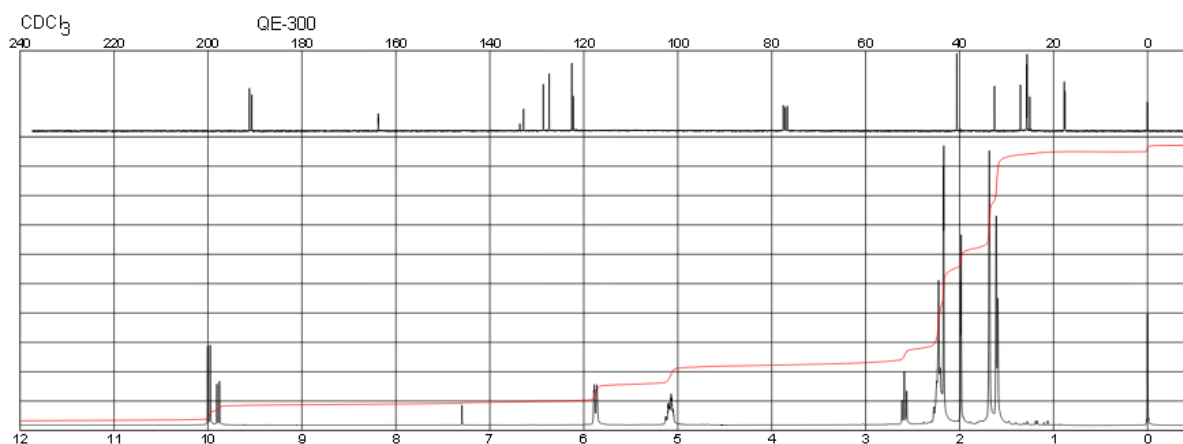
Eluent: heksan-octan etylu (9:1, v/v). Po wysuszeniu płytkę zanurzyć w roztworze waniliny (1 g waniliny rozpuścić w 100 mL stężonego kwasu siarkowego albo 0,5 g waniliny w 100 mL mieszaniny stęż. kwasu siarkowego i EtOH 4:1, v/v). Osuszyć płytkę i wywołać termicznie poprzez delikatne podgrzanie na płytce elektrycznej.

Dane spektroskopowe cytralu (mieszanka izomerów *cis* i *trans*)

Widmo IR (film)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Olejki eteryczne (przykłady, zastosowanie)
- Analiza widm produktu

Literatura

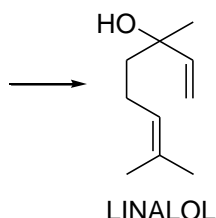
- Glinka R. Receptura kosmetyczna, wyd. I, Oficyna Wydawnicza MA Łódź 2003.
Nartowska J. „Imbir lekarski”, *Panacea* **2008**, 3 (24), 6-8.

8.5. Linalol

8.5.1. Izolacja linalolu z nasion kolendry



KOLENDRA



Odczynniki:

nasiona kolendry	2 x 15 g
chlorek metylenu	270 mL
bezw. Na ₂ SO ₄	

Aparatura i szkło:

moździerz
zestaw do destylacji z parą wodną
kolba stożkowa poj. 250 mL
lejek
rozdzielacz poj. 250 mL
aparat Soxhleta

Metoda A

Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1, str. 5. W kolbie umieścić 15 g świeżo utartych w moździerzu nasion kolendry i 100 mL wody. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 150 mL destylatu. Destylat przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chlorkiem metylenu (4 x 40 mL). Otrzymane ekstrakty połączyć i suszyć nad bezw. siarczanem sodu. Środek suszący odsączyć i odparować przesącz pod zmniejszonym ciśnieniem. Obliczyć zawartość otrzymanego olejku w nasionach kolendry. Wykonać chromatografię cienkowarstwową i porównać otrzymany produkt ze syntetycznym wzorcem linalolu.

Metoda B

Zmontować aparat Soxhleta tak, jak to przedstawiono na rysunku w ćwiczeniu 7.1. W kolbie o pojemności 250 mL umieścić 110 mL chlorku metylenu i dodać kilka kamyczków wrzennych. W gilzie umieścić 15 g świeżo utartych w moździerzu nasion kolendry. Ekstrakcję prowadzić przez godzinę. Następnie z kolby okrągłodennej odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem, zważyć produkt i obliczyć zawartość olejku w nasionach kolendry.

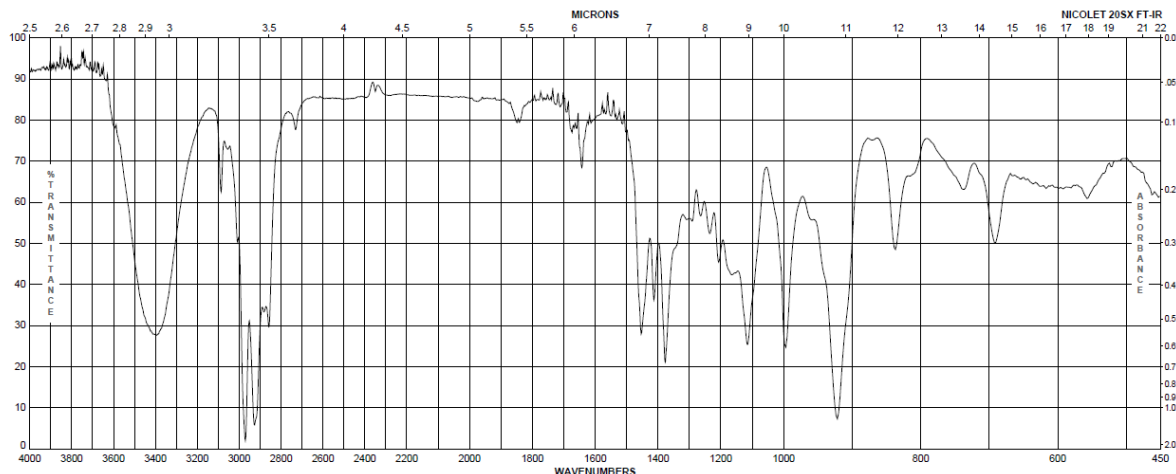
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluenty: eter dietylowy-heksan (1:9, v/v) lub toluen-octan etylu (93:7, v/v).

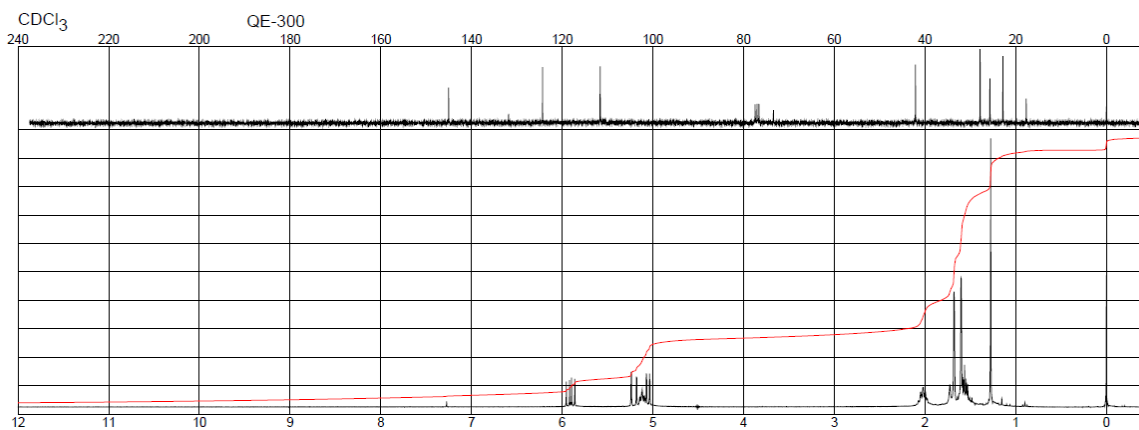
Chromatogram można wywołać w komorze z jodem.

Dane spektroskopowe linalolu

Widmo IR (katalog Sigma Aldrich)



Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

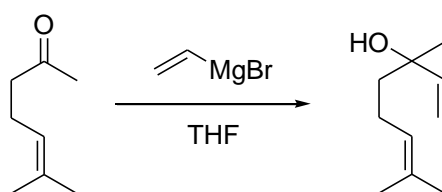
- Metody pozyskiwania olejków eterycznych z materiału roślinnego
- Destylacja z parą wodną: podstawy fizyczne i zastosowanie
- Zastosowanie linalolu i jego pochodnych
- Analiza widm linalolu

Literatura

Zeković Z., Adamović D., Četković G., Radojković M., Vidović S. *Acta Period. Technol.* **2011**, 42, 281-288.

Mandal S., Mandal M. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* **2015**, 5 (6), 421-428.

8.5.2. Synteza linalolu



Odczynniki:

6-metylohept-5-en-2-on	1,0 g
bromek winylomagnezowy (1M roztwór w THF)	15 mL
THF bezw.	3 mL
metanol	2 mL
eter dietylowy	

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
rozdzielacz
kolba stożkowa
lejek

Reakcję prowadzić w warunkach bezwodnych w atmosferze gazu obojętnego

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 mL zaopatrzonej w septę umieścić 6-metylohept-5-en-2-on (1,0 g) i rozpuścić go w bezwodnym THF (3 mL) [1], świeżo destylowanym z nad LiAlH₄. Roztwór ochłodzić do 0 °C (łaznia woda-lód) i do kolby powoli wprowadzić za pomocą strzykawki 1M roztwór bromku winylomagnezowego [2] w THF (15 mL). Reakcję prowadzić w temperaturze 0 °C przez 15 minut po czym kontynuować mieszanie w temperaturze pokojowej przez godzinę. Po tym czasie wprowadzić do mieszaniny reakcyjnej 2 mL metanolu (kroplami) i 5 mL nasyconego roztworu NH₄Cl. Następnie do kolby dodać eter dietylowy, fazy rozdzielić i fazę wodną ekstrahować eterem dietylowym (2 x 25 mL). Połączone fazy organiczne suszyć nad bezwodnym Na₂SO₄, środek suszący odsączyć i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem. Przeprowadzić analizę TLC produktu porównując go z próbką linalolu otrzymaną od prowadzącego ćwiczenia i wyizolowanym ekstraktem z nasion kolendry.

Analityczną próbkę produktu można uzyskać wykonując chromatografię kolumnową [eluent: eter dietylowy-heksan (1:9 v/v)].

Uwagi:

[1] W razie potrzeby ilość rozpuszczalnika można zwiększyć.

[2] Roztwór bromku winylomagnezowego przechowywany jest w lodówce. Przed pobraniem roztworu poczekać aż osiągnie on temperaturę pokojową. Roztwór pobierać w temperaturze pokojowej w atmosferze gazu obojętnego.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: eter dietylowy-heksan (1:9, v/v). Chromatogram można wywołać w komorze z jodem.

Zagadnienia

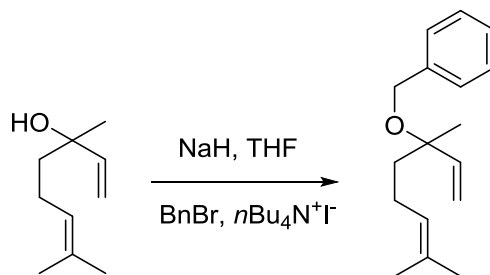
- Mechanizm syntezy linalolu
- Metody syntezy alkoholi
- Występowanie linalolu w materiałach roślinnych, właściwości i zastosowanie

Literatura

Burkhard D., Mosandl A. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 7391-7395.

Zhang Q., Catti L., Pleiss J., Tiefenbacher K. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 11482-11492.

8.5.3. Synteza eteru benzyłowego linalolu (benzyloksylinalol)



Odczynniki:

linalol	0,380 g
wodorek sodu	0,066 g
THF bezw.	8 mL
bromek benzylu	0,355 mL
jodek tetrabutylamoniowy	0,055 mg
eter dietylowy	

Aparatura i szkło:

kolba dwuszyjna poj. 25 mL
wkraplacz z rurką do wyrównywania ciśnienia

UWAGA! Praca z NaH wymaga zachowania ostrożności, bezwodne środowisko reakcji.

W kolbie dwuszyjnej o pojemności 25 mL sporządzić zawiesinę wodoroku sodu (0,066 g) [1] w bezwodnym THF (5 mL) i z wkraplacza dodać roztwór linalolu (0,380 g) w 1 mL THF. Zawartość kolby mieszać przez 1h w temperaturze pokojowej po czym ochłodzić ją do 0 °C i wprowadzić do niej zimny (ochłodzony w łaźni woda-lód) roztwór bromku benzylu (0,355 mL) w 2 mL THF oraz dodać $n\text{Bu}_4\text{N}^+\text{I}^-$ (0,055 g). Mieszanie kontynuować w temperaturze pokojowej przez 4 godz. Po tym czasie do mieszaniny reakcyjnej dodać wodę (10 mL), rozdzielić fazy i warstwę wodną trzykrotnie ekstrahować eterem dietylowym (3 x 10 mL). Połączone ekstrakty eterowe przemyć nasyconym roztworem wodorowęglanu sodu, następnie nasyconym roztworem NaCl i suszyć nad bezwodnym Na_2SO_4 . Środek suszący odsączyć i odparować rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem.

Przeprowadzić analizę TLC produktu. Analityczną próbkę czystego produktu można uzyskać wykonując chromatografię kolumnową [eluent: heksan-EtOAc (50:1 v/v)].

Uwagi

[1] Wodorek sodu przechowywany jest w oleju mineralnym. Należy obliczyć potrzebną ilość wodoroku sodu uwzględniając jego stężenie w oleju mineralnym.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluenty: eter dietylowy-heksan (1:9, v/v)

Dane spektroskopowe eteru benzyłowego linalolu

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (*Org. Lett.* **2005**, 7, 3379-3381.)

^1H NMR: (400 MHz, CDCl_3) 7,33 (m, 4H); 7,24 (m, 1H); 5,88 (dd, 1H, $J = 18,0; 10,8$ Hz); 5,21 (m, 2H); 5,13 (tt, 1H, $J = 7,0; 1,2$ Hz); 4,39 (s, 2H); 2,07 (q, 2H, $J = 8,0$ Hz); 1,68 (s, 3H), 1,65 (m, 2H); 1,61 (s, 3H); 1,34 (s, 3H).

^{13}C NMR: (100 MHz, CDCl_3) 143,2; 139,8; 131,4; 128,2; 127,2; 127,0; 124,5; 114,7; 64,4; 39,9; 25,7; 22,4; 22,3; 17,6.

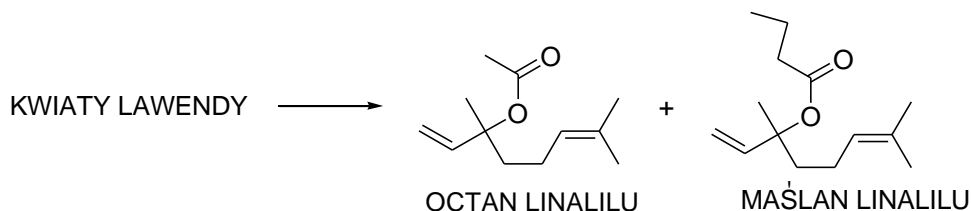
Zagadnienia

- Mechanizm syntezy eteru benzyłowego linalolu
- Metody syntezy eterów
- Występowanie linalolu w materiałach roślinnych, właściwości i zastosowanie

Literatura

Kerber W. D., Gagné M. R. *Org. Lett.* **2005**, 7, 3379-3381.

8.5.4. Izolacja olejku lawendowego z kwiatów lawendy



Odczynniki:

Metoda A

suszone kwiaty lawendy	15 g
chlerek metylenu	450 mL
bezw. Na ₂ SO ₄	

Metoda B

suszone kwiaty lawendy	15 g
chlerek metylenu	300 mL
bezw. Na ₂ SO ₄	

Aparatura i szkło:

kolbka okrągłodenna poj. 250 mL
chłodnica zwrotna
czasza grzejna
lejek
rozdzielacz poj. 250 mL
zestaw do destylacji z parą wodną
kolba stożkowa poj. 250 mL (2 szt.)

Celem ćwiczenia jest wyizolowanie z suszonych kwiatów lawendy olejku z zastosowaniem dwóch metod, A i B, a następnie porównanie wydajności tych procesów. Głównymi składnikami nadającymi charakterystyczny zapach lawendzie są dwa estry: octan linalilu i maślan linalilu.

Metoda A

W kolbie umieścić 15 g kwiatów lawendy i 100 mL chlorku metylenu (pamiętać o kamyczkach wrzennych!). Całość ogrzewać przez godzinę pod chłodnicą zwrotną w temperaturze wrzenia rozpuszczalnika. Następnie usunąć czaszę i ochłodzić kolbę. Oddzielić kwiaty od roztworu poprzez odsączenie na lejku z sączkiem z bibuły. Otrzymany zielonkawy przesącz odparować pod zmniejszonym ciśnieniem i zważyć pozostałość. Obliczyć zawartość procentową olejku w surowcu.

Metoda B

Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1 (str. 5). W kolbie umieścić 15 g kwiatów lawendy i 100 mL wody. Destylację

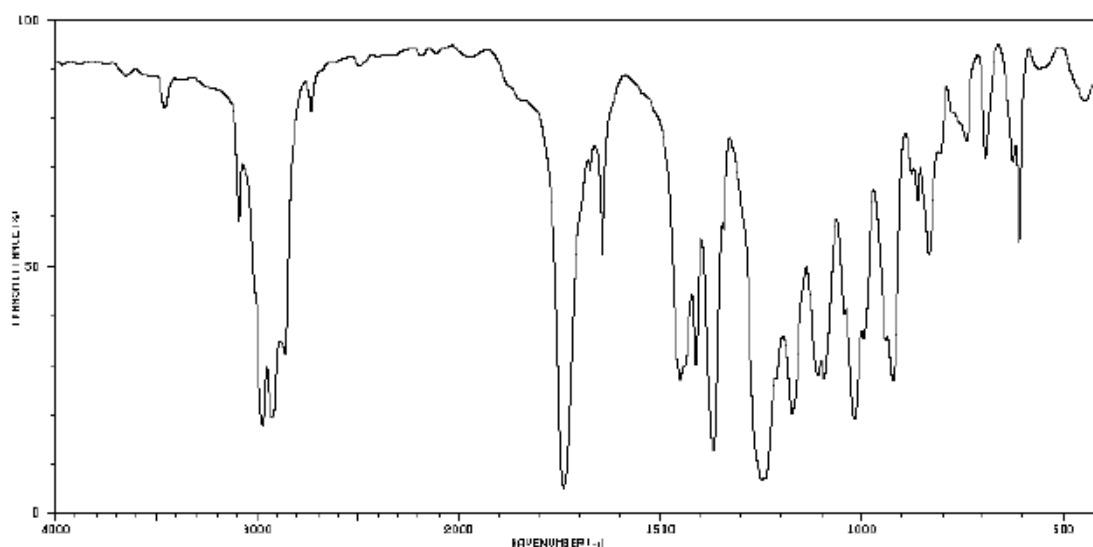
prowadzić do momentu uzyskania 250 mL destylatu. Destylat przenieść do rozdzielacza i ekstrahować chlorkiem metylenu (6 x 50 mL). Otrzymane ekstrakty połączyć i suszyć nad bezw. siarczanem sodu (ok. 30 min, mieszając za pomocą mieszadła magnetycznego), odsączyć środek suszący. Następnie zatężyć przesącz pod zmniejszonym ciśnieniem w uprzednio zważonej kolbie. Obliczyć zawartość otrzymanego olejku w surowcu. Następnie porównać ilości olejku lawendowego uzyskanego metodą A i B.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: heksan-octan etylu (3:1, v/v). Na płytkę nanieść rozpuszczony w metanolu otrzymany produkt. Wysuszyć i płytkę wstawić do kuwety z eluentem. Po wysuszeniu płytki chromatogram wywołać w świetle UV i w komorze z jodem.

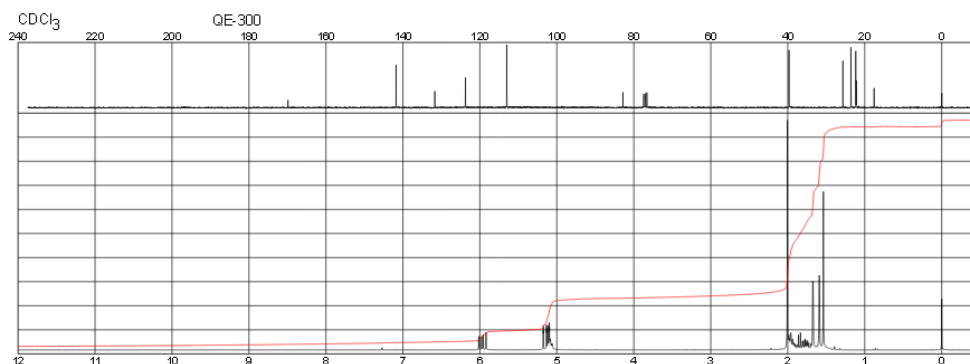
Dane spektroskopowe octanu linalilu

Widmo IR (film)

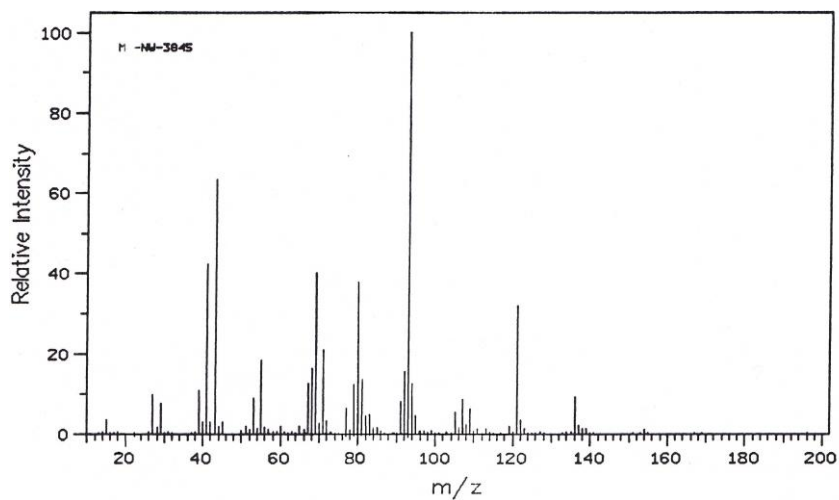


Wartość liczb
falowych
(cm⁻¹)
3650
3457
3090
2972
2860
1738
1676
1413
1358
1241
996

Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich)

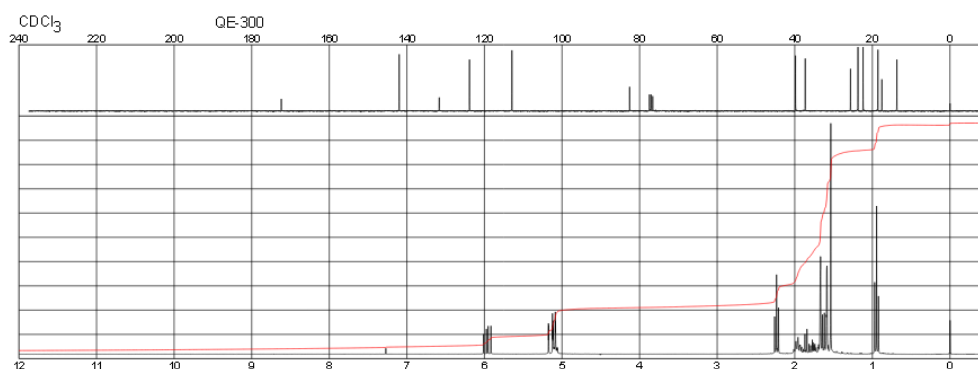


Widmo EI-MS (M=196 g/mol)



Dane spektroskopowe maślanu linalolu

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



Zagadnienia

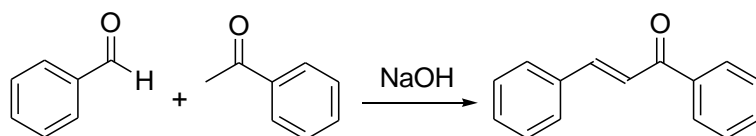
- Metody wyodrębniania składników z surowca roślinnego
- Estry (budowa, metody otrzymywania, zastosowanie)
- Analiza widm produktów

Literatura

Filly A., Fabiano-Tixier A. S., X. Fernandez X., Chemat F. "Water as a green solvent combined with different techniques for extraction of essential oil from lavender flowers" *Comptes Rendus Chimie* **2016**, 19 (6), 707-717.

http://agritech.tnau.ac.in/horticulture/extraction_methods_natural_essential_oil.pdf
(23.12.2019)

9. Benzylidenoacetofenon (chalkon)



Odczynniki:

wodorotlenek sodu	2,2 g
etanol	13 mL
acetofenon	5 mL
aldehyd benzoesowy	4,4 mL

Aparatura i szkło:

kolba dwuszyjna okrągłodenna poj. 100 mL
mieszadło magnetyczne
chłodnica zwrotna
termometr
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

UWAGA! Praca z tym związkiem wymaga zachowania ostrożności (rękawice ochronne) ponieważ działa drażniąco na skórę.

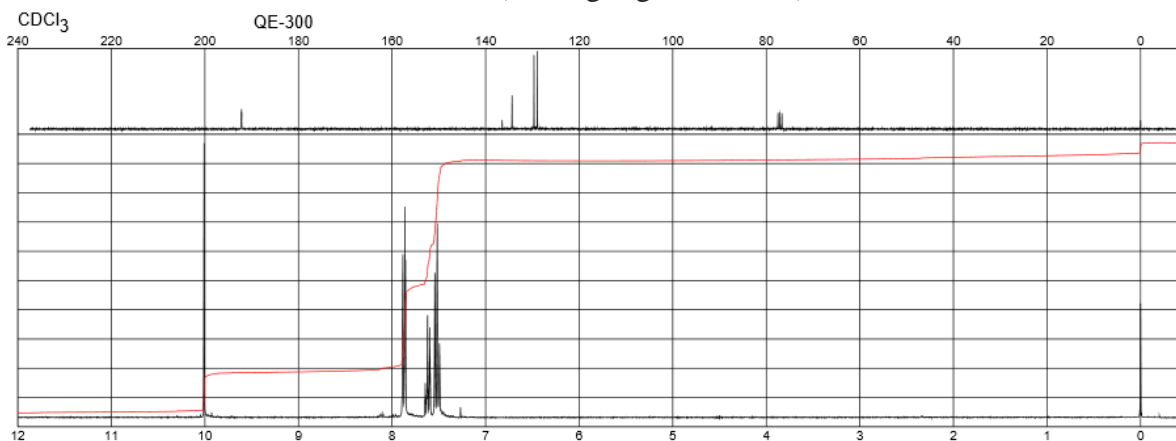
Do kolby dwuszyjnej o pojemności 100 mL, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne i chłodnicę zwrotną, wlać roztwór 2,2 g wodorotlenku sodu w 20 mL wody i 13 mL etanolu. Kolbę umieścić w łaźni z drobno pokruszonym lodem i dodać z wkraplacza 5 mL acetofenonu, a następnie 4,4 mL aldehydu benzoesowego. Utrzymując temperaturę mieszaniny ok. 25 °C (dopuszczalne granice temperatury 15-30 °C) mieszać energicznie tak długo, aż stanie się ona gęsta (2-3 godziny). Mieszaninę pozostawić na noc w lodówce. Następnie produkt odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera i przemywać zimną wodą tak długo, aż odczyn przesącza wobec papierka uniwersalnego będzie obojętny. Następnie osad przemyć porcją zimnego etanolu (8 mL). Po wysuszeniu osadu na powietrzu otrzymuje się 8,8 g surowego chalkonu o t.t. 50-54 °C. Produkt krystalizować z etanolu stosując około 5 mL na 1 g chalkonu. Wydajność po krystalizacji wynosi 87%. Benzylidenoacetofenon otrzymuje się w postaci jasnożółtych kryształów o t.t. 56-57 °C.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: chlorek metylenu-etanol-heksan (6:1:3, v/v/v). Na płytkę nanieść rozcieńczone metanolem substraty oraz otrzymany produkt. Wysuszyć i płytkę wstawić do kuwety z eluentem. Po wysuszeniu płytki chromatogram wywołać w świetle UV i w komorze z jodem.

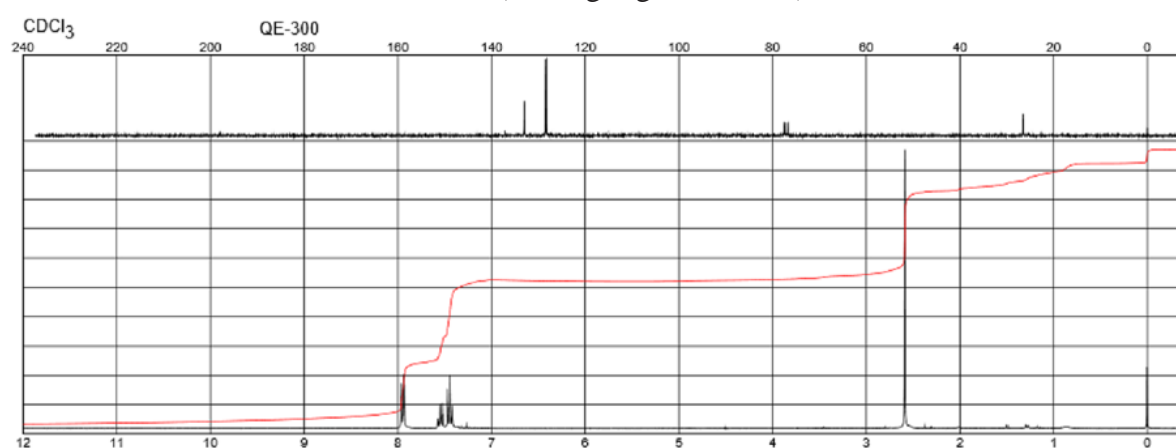
Dane spektroskopowe aldehydu benzoowego

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



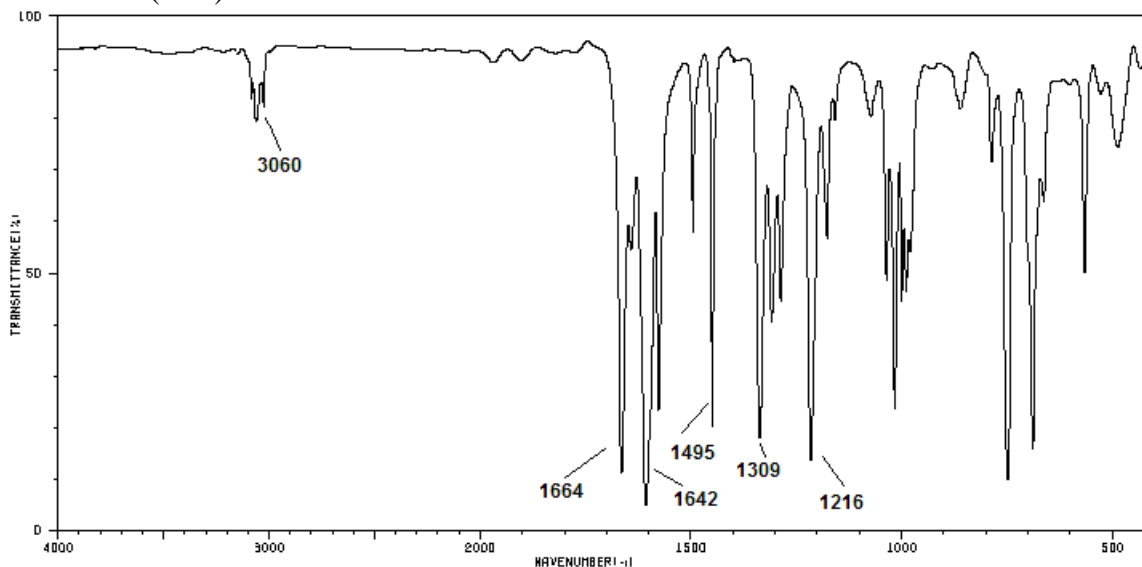
Dane spektroskopowe acetofenonu

Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)

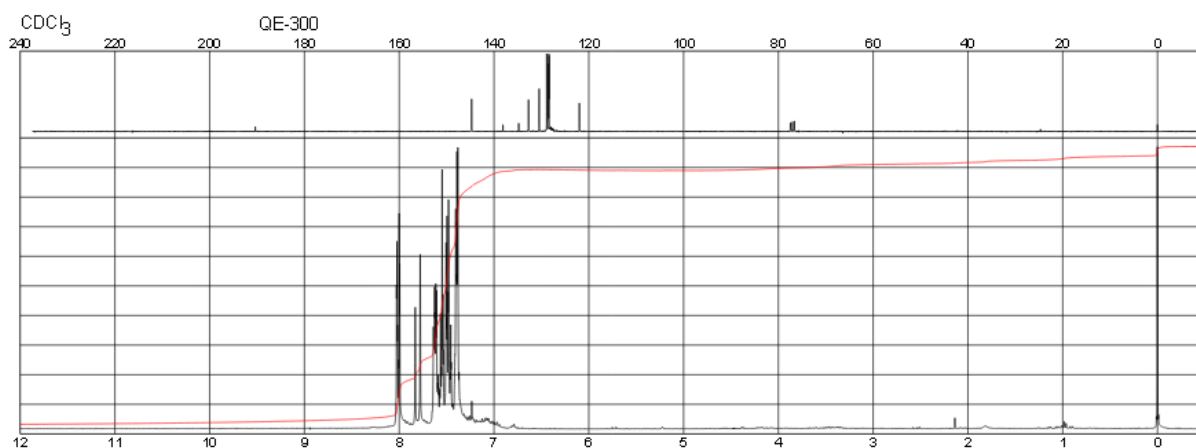


Dane spektroskopowe chalkonu

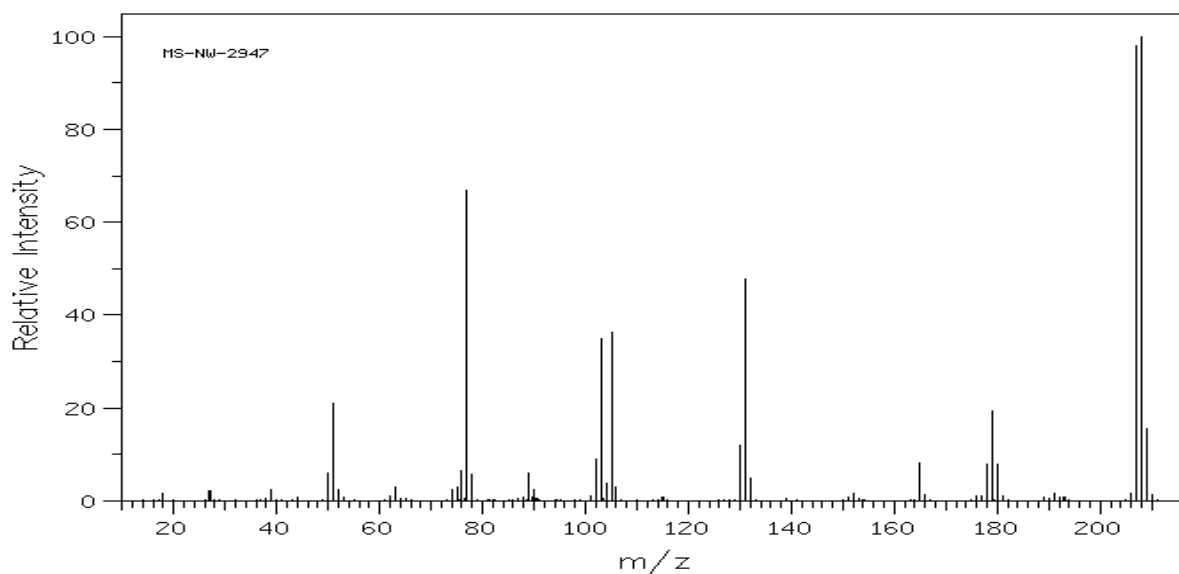
Widmo IR (KBr)



Widma ^1H NMR i ^{13}C NMR w CDCl_3 (katalog Sigma Aldrich)



Widmo EI-MS ($M=208$ g/mol)



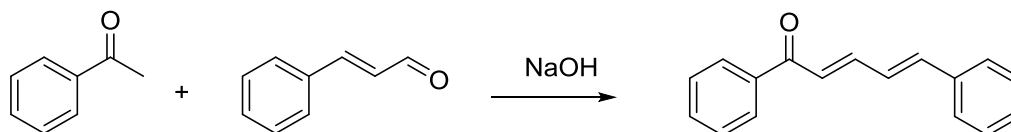
Zagadnienia

- Mechanizm syntezy chalkonu
- Modyfikacja chemiczna struktury chalkonu – reakcje redukcji
- Zastosowanie pochodnych chalkonu
- Analiza widm – porównanie właściwości substratów i produktu

Literatura

Zhuang C, Zhang W, Sheng C, Zhang W, Xing C, Miao Z. “Chalcone: A Privileged Structure in Medicinal Chemistry” *Chem. Rev.* **2017**, *117* (12), 7762-7810.

10. 1,5-Difenylopenta-2,4-dien-1-on (analog chalkonu)



Odczynniki:

wodorotlenek sodu	0,040 g
etanol	3 mL
acetofenon	0,120 g
aldehyd cynamonowy	0,132 g
2,5 M HCl	

Aparatura i szkło:

kolba dwuszyjna okrągłodennej poj. 50 mL
mieszadło magnetyczne
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem
moździerz

UWAGA! Praca z tym związkiem wymaga zachowania ostrożności (rękawice ochronne) ponieważ działa drażniąco na skórę.

Metoda A

W kolbie okrągłodennej o pojemności 50 mL, zaopatrzonej w mieszadło magnetyczne umieścić świeżo sporządzony roztwór wodorotlenku sodu (0,040 g NaOH w 0,35 mL H₂O) i 1,5 mL etanolu. Następnie roztwór ochłodzić do temperatury 0 °C w łaźni woda-lód i do kolby wprowadzić acetofenon (0,120 g) w 1,5 mL etanolu. Całość mieszać przez 20 minut w temperaturze 0 °C. Następnie do kolby dodać aldehyd cynamonowy (0,132 g) i całość mieszać przez 24 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym czasie mieszaninę zakwasić za pomocą 2,5 M roztworu HCl, osad [1] odsączyć i przemywać zimną wodą tak długo, aż odczyn przesącza wobec papierka uniwersalnego będzie obojętny.

Po wysuszeniu osadu na powietrzu surowy produkt krystalizować z etanolu. Temperatura topnienia: 97-99,5 °C.

Metoda B

W moździerzu umieścić równomolową (1 mmol) mieszaninę aldehydu cynamonowego (0,132 g), acetofenonu (0,120 g) i stałego NaOH (0,040 g). Całość ucierać w temperaturze pokojowej przez 5-10 minut, a następnie zakwasić za pomocą 2,5 M roztworu

kwasu solnego, osad [1] odsączyć i przemywać zimną wodą tak długo, aż odczyn przesącza wobec papierka uniwersalnego będzie obojętny.

Po wysuszeniu osadu na powietrzu surowy produkt krystalizować z etanolu.

Uwagi

[1] Jeżeli osad nie wytrąci się, należy wyizolować produkt przez ekstrakcję fazy wodnej chlorkiem metylenu.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: chlorek metylenu

Dane spektroskopowe aldehydu cynamonowego: ćwiczenie 1

Dane spektroskopowe acetofenonu: ćwiczenie 9

Dane spektroskopowe 1,5-difenylopenta-2,4-dien-1-onu

IR (film) ν_{\max} 3059, 3027, 1676, 1594, 1448, 1034, 776, 700 cm^{-1} .

^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) 8,03-7,93 (m, 2H); 7,63- 7,22 (m, 10H); 7,13-6,92 (m, 2H).

^{13}C NMR (75 MHz, CDCl_3) 190,3; 144,7; 141,8; 138,1; 135,9; 132,5; 129,1; 129,0; 128,8; 128,7; 128,5; 128,4; 128,3; 127,2; 126,8; 125,2.

Zagadnienia

- Chalkony (zastosowanie, synteza, struktura)
- Mechanizm reakcji kondensacji
- Spektroskopia substratów i produktu

Literatura

Begum N. A., Roy N., Laskar R. A., Roy K. *Med. Chem. Res.* **2011**, 20, 184-191.

Santos L., Pedrosa R. C., Correa R., Filho V. C., Nunes R. J., Yunes R. A. *Arch. Pharm. Chem. Life Sci.* **2006**, 339, 541-546.

Silva, W. A., Andrade, C. K. Z., Napolitano, H. B., Vencato, I., Lariucci, C., de Castro, M. R. C., Camargo, A. J. *J. Braz. Chem. Soc.* **2013**, 24, 133-144.

11. Synteza flawonu

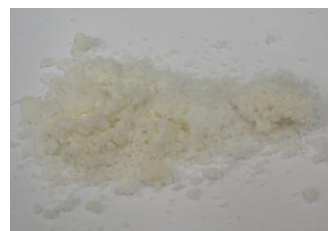
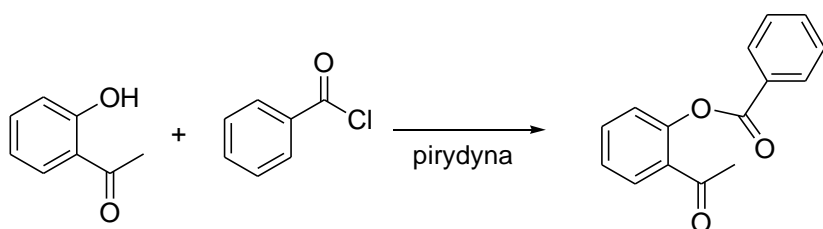
Synteza flawonu przebiega w trzech etapach:

Etap 1 *o*-Benzoiloksyacetofenon

Etap 2 *o*-Hydroksydibenzoilometan

Etap 3 Flawon

11.1 *o*-Benzoiloksyacetofenon



Odczynniki:

<i>o</i> -hydroksyacetofenon	3,4 g
chlorek benzoilu	4 mL
bezw. pirydyna	5 mL
1 M HCl	120 mL
metanol	15 mL
chlorek metylenu	15 mL
10% Na ₂ CO ₃	
bezw. Na ₂ SO ₄	

Aparatura i szkło:

kolba stożkowa ze szlifem poj. 50 mL
korek plastikowy
zlewka poj. 250 mL
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

UWAGA! Należy pracować pod sprawnie działającym wyciągiem i w rękawicach ochronnych

Do 3,4 g *o*-hydroksyacetofenonu umieszczonego w kolbie stożkowej o pojemności 50 mL dodać 4 mL (4,9 g) chlorku benzoilu i 5 mL bezwodnej, świeżo destylowanej pirydyny i kolbę zamknąć plastikowym korkiem. Kolbę wytrząsać tak, aby jej zawartość uległa wymieszaniu, przy czym należy zwrócić uwagę, że temperatura mieszaniny nieco wzrasta. Po 20 minutach zawartość kolby, cały czas mieszając, wlać do zlewki z 1 M HCl oraz pokruszonym lodem (50 g). Wydzielony produkt odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem pod dygestorium i przemyć najpierw 5 mL metanolu oziębionego w łaźni z lodem, a następnie 5 mL wody destylowanej. Następnie produkt rozpuścić w 5 mL chlorku metylenu, przenieść do rozdzielacza i przemyć wodnym roztworem 10% Na₂CO₃. Warstwę organiczną osuszyć bezwodnym siarczanem sodu, odsączyć środek suszący i rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem na wyparce próżniowej. Uzyskany produkt krystalizować z metanolu (6-8 mL). Ochłodzić otrzymaną mieszaninę w łaźni z lodem i osad odsączyć pod

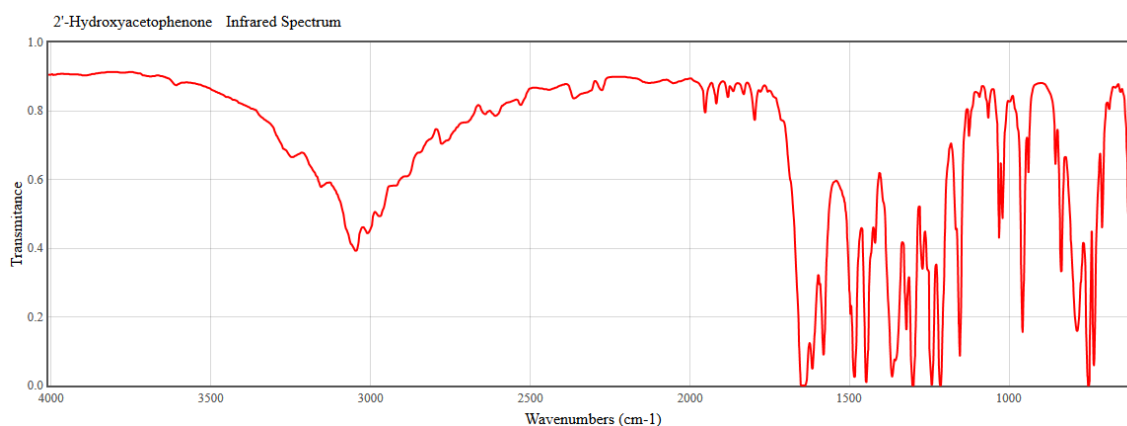
zmniejszonym ciśnieniem. Otrzymuje się *o*-benzoiłoksyacetofenon o t.t. 87-88 °C. (Wyd. 80%).

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC):

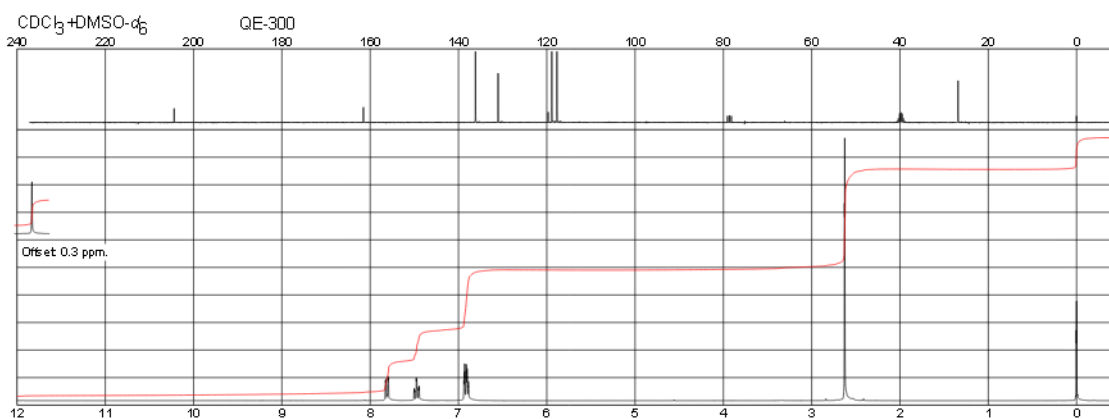
Eluenty: chloroform; chloroform-metanol (5:1, v/v); toluen-metanol (40:1, v/v). Na płytkę TLC nanieść rozcieńczone w metanolu roztwory *o*-hydroksyacetofenonu i *o*-benzoiłoksyacetofenonu. Wysuszyć i płytkę wstawić do kuwety z eluentem. Po wysuszeniu płytki chromatogram wywołać w świetle UV i w komorze z jodem.

Dane spektroskopowe *o*-hydroksyacetofenonu

Widmo IR

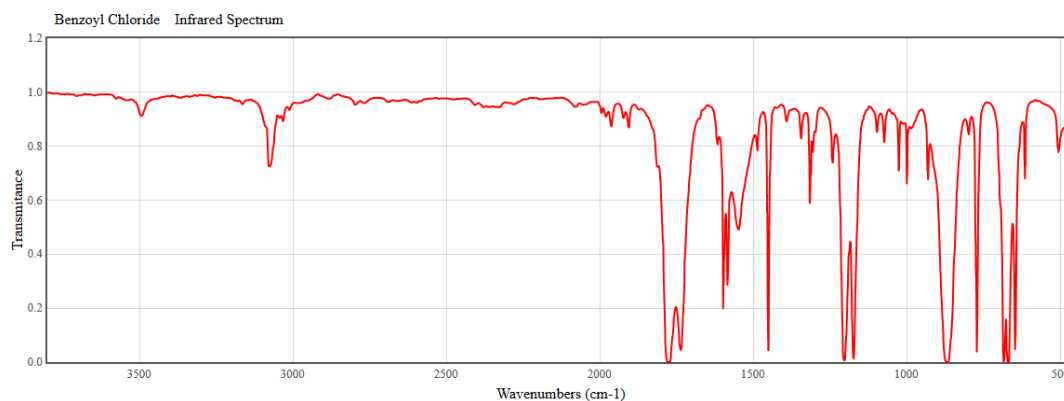


Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ (katalog Sigma Aldrich))



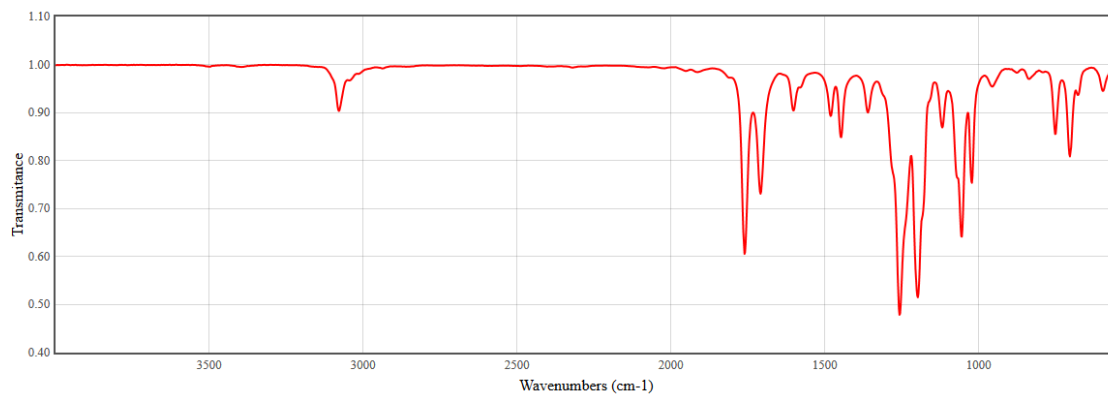
Dane spektroskopowe chlorku benzoilu

Widmo IR

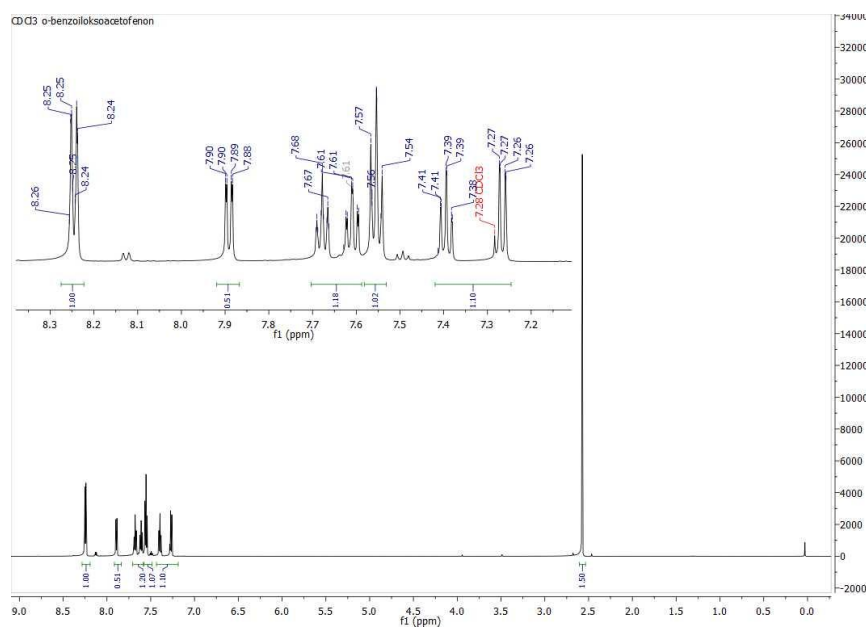


Dane spektroskopowe o-benzoiloksyacetofenonu

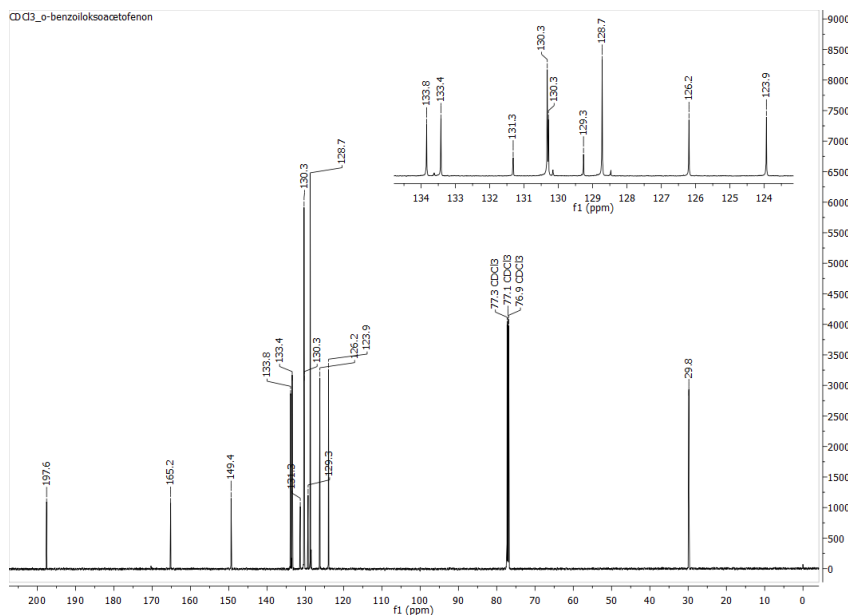
Widmo IR



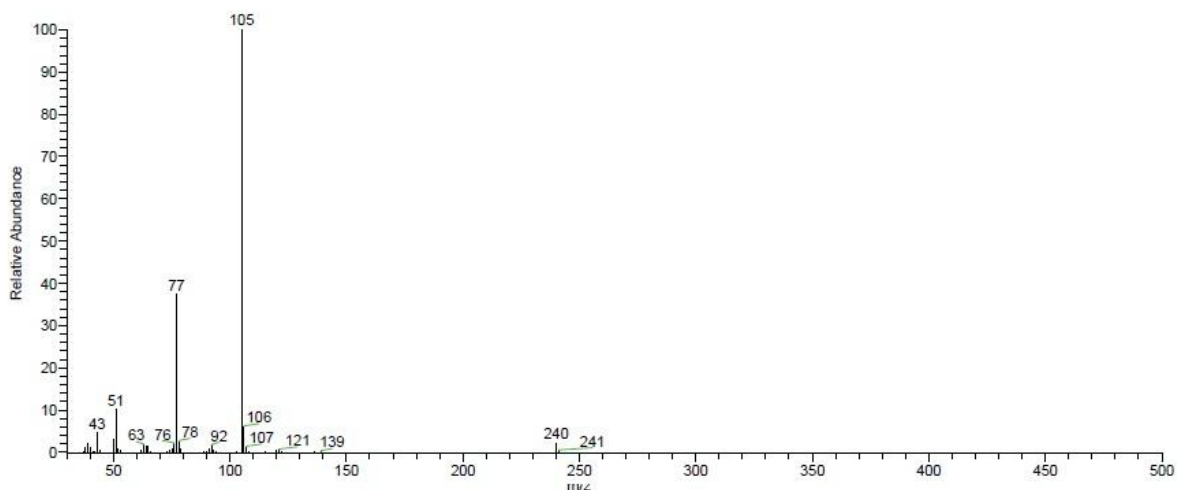
Widmo ¹H NMR w CDCl₃



Widmo ^{13}C NMR w CDCl_3



Widmo MS (M=240 g/mol)



Zagadnienia

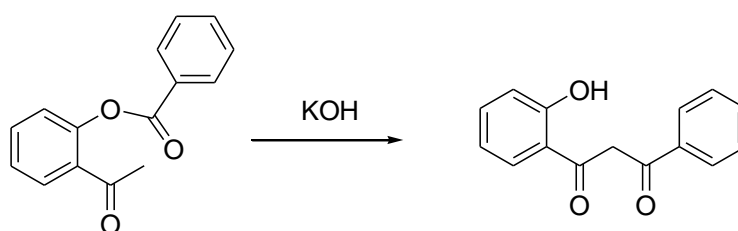
- Flawonoidy
- Mechanizm syntezy flawonu (3 etapy)
- Modyfikacja chemiczna struktury flawonu
- Zastosowanie pochodnych flawonu
- Analiza widm – porównanie właściwości substratów i produktu

Literatura

Bansal M., Kaur K., Tomar J., Kaur L. "Synthesis of Flavones" *Biomed J Sci & Tech Res.*, **2017**, 1 (6), 1752-1755.

Kshatriya R. B., Shaikh Y. I., Nazeruddin G. M. "Synthesis Of Flavone Skeleton By Different Methods" *Orient. J. Chem.*, **2013**, 29(4), 1475-1487.

11.2. *o*-Hydroksydibenzoilometan



Odczynniki:

<i>o</i> -benzoiloksyacetofenon	4 g
bezw. pirydyna	15 mL
wodorotlenek potasu	1,4 g
10% kwas octowy	21 mL
metanol	

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
chłodnica zwrotna
łaznia wodna
mieszadło magnetyczne
bagietka
zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

UWAGA! Wszystkie czynności należy wykonywać pod wyciągiem

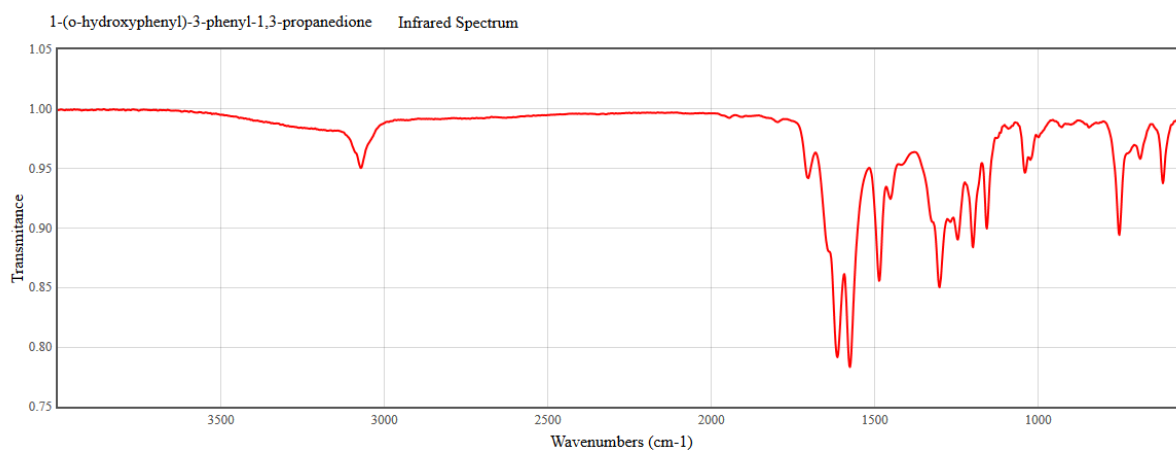
Kolbę o pojemności 50 mL, zaopatrzoną w chłodnicę zwrotną, umieścić w łaźni wodnej na mieszadle magnetycznym. Do kolby dodać 4 g *o*-benzoiloksyacetofenonu w 15 mL pirydyny i mieszając ogrzewać do temperatury 50 °C. Dodać 1,4 g wodorotlenku potasu i całość mieszać przez 15 minut. Jeżeli wydzielający się żółty osad soli potasowej uniemożliwi mieszanie przy pomocy mieszadła magnetycznego, to należy mieszać ręcznie przy pomocy bagietki. Następnie mieszaninę ochłodzić do temperatury pokojowej i zakwasić, dodając, w trakcie mieszania, 21 mL 10% wodnego roztworu kwasu octowego. Wydzielony jasnożółty osad odsączyć pod zmniejszonym ciśnieniem i suszyć w suszarce w temperaturze 50 °C. Wydajność *o*-hydroksydibenzoilometanu o t.t. 117-120 °C wynosi 80%. Czystość związku jest wystarczająca, aby mógł być użyty w kolejnym etapie syntezy. Po krystalizacji z metanolu można otrzymać czysty związek o t.t. 121-122 °C.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC):

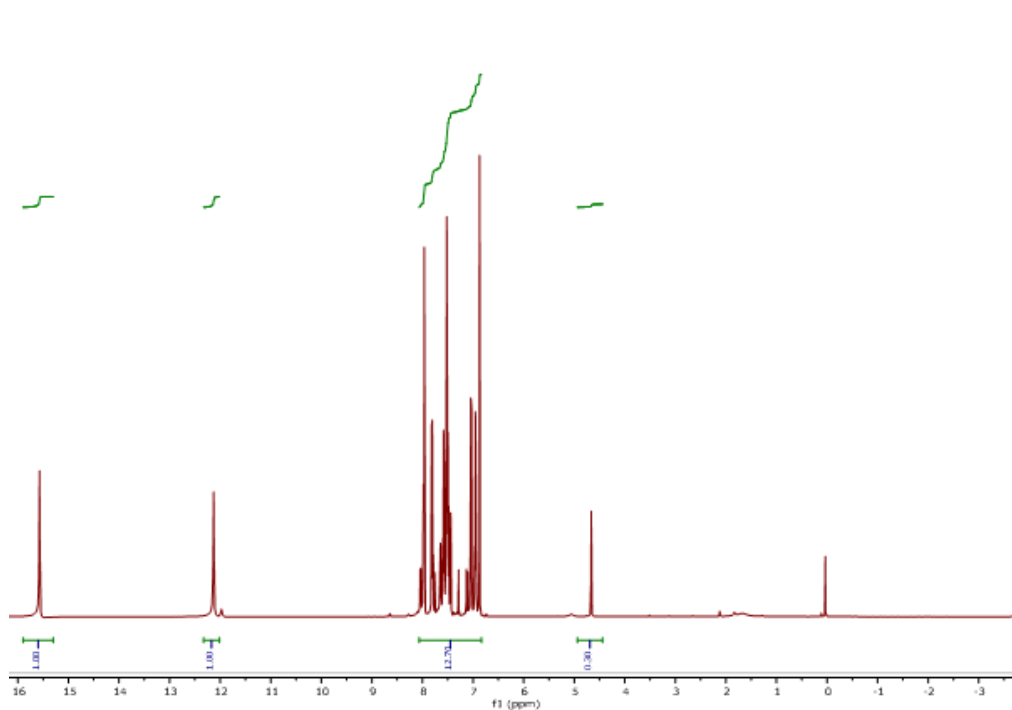
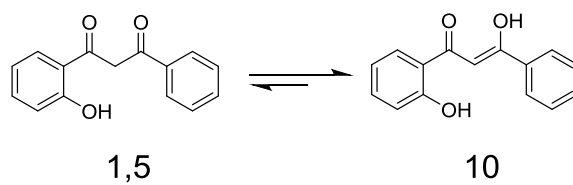
Eluenty: chloroform; heksan-aceton (7:3, v/v). Na płytkę nanieść roztwory *o*-benzoiloksyacetofenonu i *o*-hydroksydibenzoilometanu. Wsuszyć i płytkę wstawić do kuwety z eluentem. Po wysuszeniu płytki chromatogram wywołać w świetle UV i w komorze z jodem.

Dane spektroskopowe *o*-hydroksydibenzoilometanu

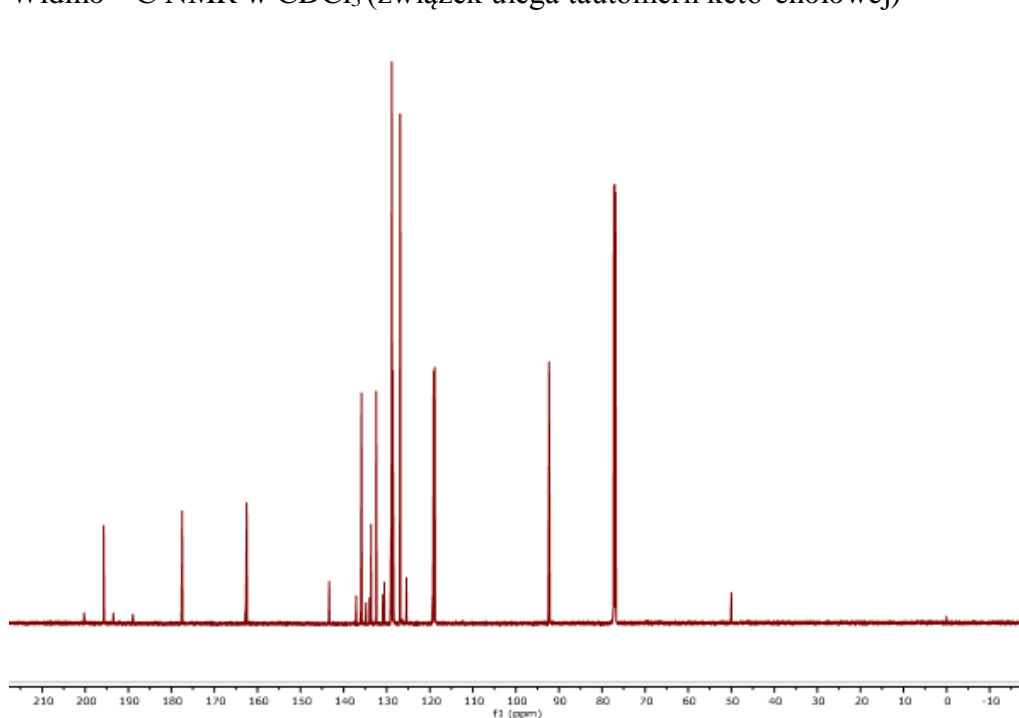
Widmo IR



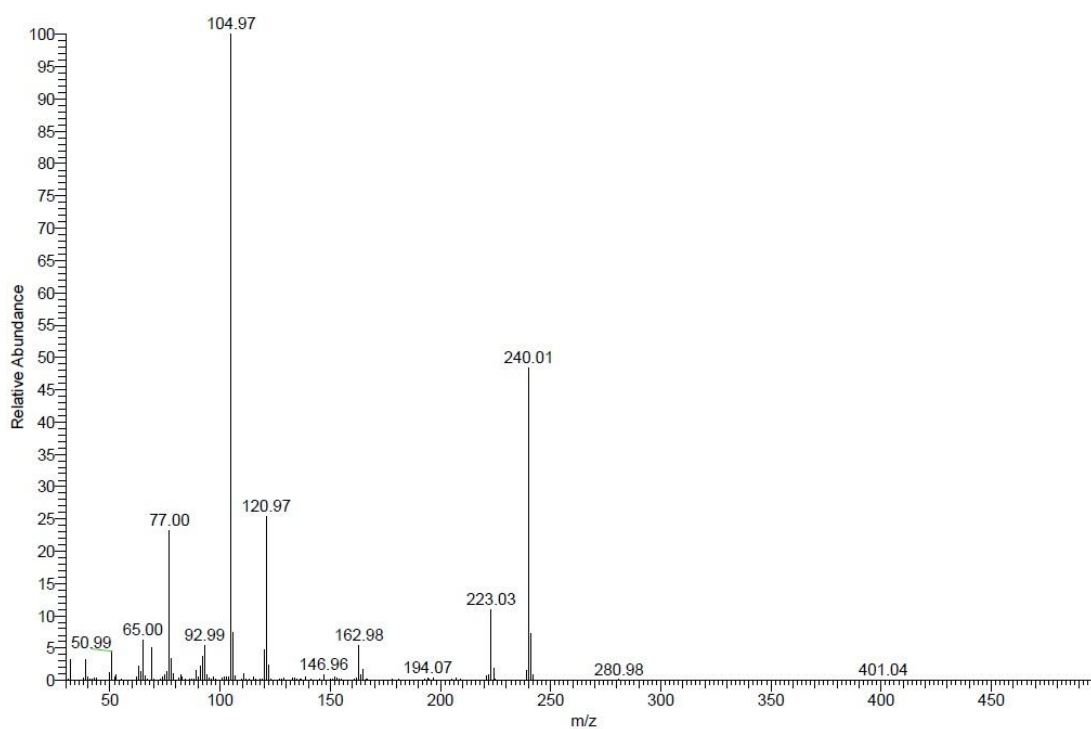
Widmo ^1H NMR w CDCl_3 (związek ulega tautomerii keto-enolowej)



Widmo ^{13}C NMR w CDCl_3 (związek ulega tautomerii keto-enolowej)



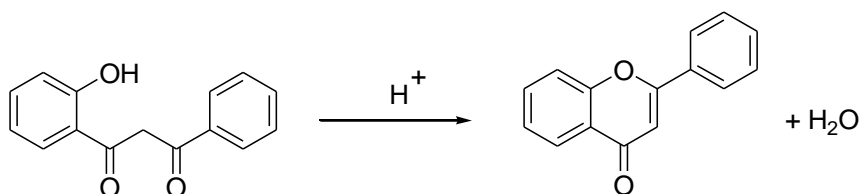
Widmo MS ($M=240$ g/mol)



Zagadnienia

- Flawonoidy
- Mechanizm syntezy flawonu (3 etapy)
- Modyfikacja chemiczna struktury flawonu
- Zastosowanie pochodnych flawonu
- Analiza widm – porównanie właściwości substratu i produktu

11.3. Flawon



Odczynniki:

o-hydroksydibenzoilometan 3 g
 lodowaty kwas octowy 17 mL
 stężony kwas siarkowy 0,7 mL
 eter naftowy

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 50 mL
 chłodnica zwrotna
 łaźnia wodna
 zlewka poj. 200 mL
 zestaw do sączenia pod zmniejszonym ciśnieniem

Do roztworu 3 g *o*-hydroksydibenzoilometanu w 17 mL lodowatego kwasu octowego przygotowanego w kolbie okrągłodennej o pojemności 50 mL zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną i umieszczonej w łaźni wodnej, dodać, wstrząsając, 0,7 mL stężonego kwasu siarkowego. Roztwór ogrzewać przez 1 godzinę w wrzącej łaźni wodnej (lub czaszy grzejnej), co jakiś czas wstrząsając delikatnie kolbą. Następnie zawartość kolby wylać do zlewki o pojemności 200 mL zawierającej 80 g pokruszonego lodu i pozostawić, aż lód ulegnie całkowitemu roztopieniu. Wydzielony flawon odsączyć i przemywać wodą tak długo, aż przesącz wykaże odczyn obojętny (około 170 mL wody). Osad suszyć w suszarce w temperaturze 50 °C. Po krystalizacji z eteru naftowego otrzymuje się czysty flawon w postaci bezbarwnych igieł.

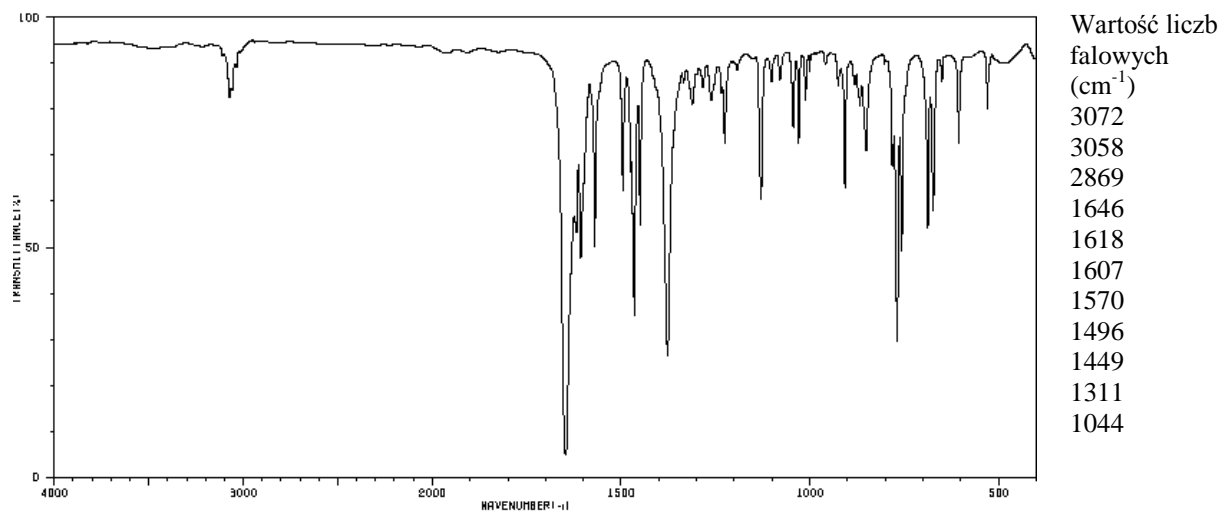
Zważyć otrzymany produkt i obliczyć wydajność ostatniego etapu oraz wydajność całego procesu. Zmierzyć temperaturę topnienia (lit. t.t. 98 °C).

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC):

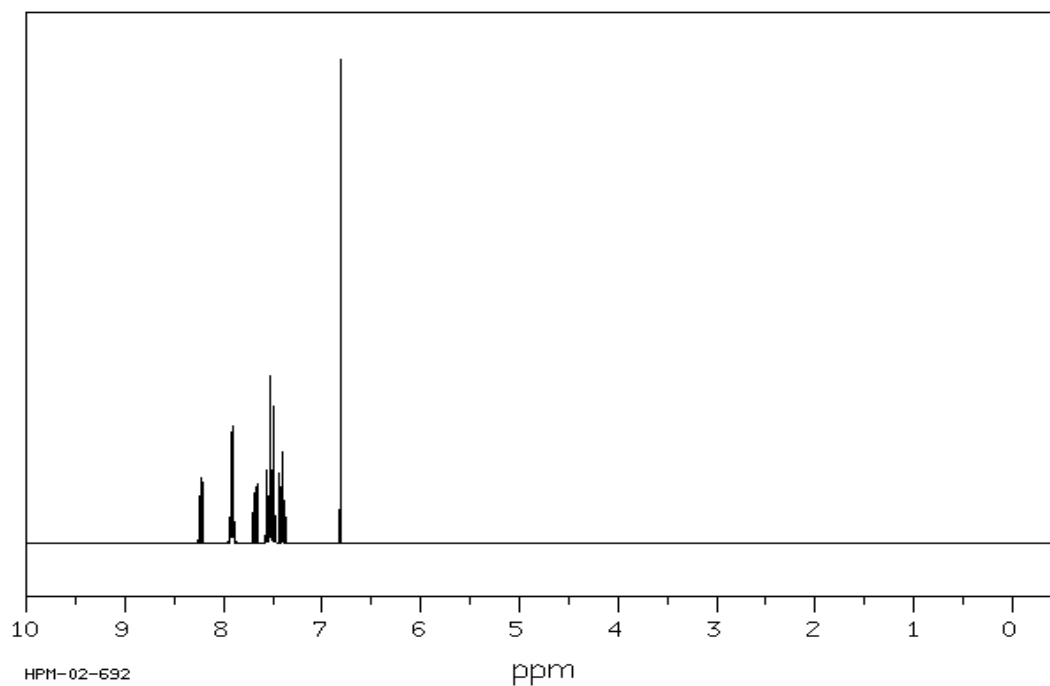
Eluenty: chloroform; heksan-aceton (7:3, v/v). Na płytkę nanieść metanolowe roztwory *o*-hydroksydibenzoilometanu i flawonu. Wysuszyć i płytkę wstawić do kuwety z eluentem. Po wysuszeniu płytki chromatogram wywołać w świetle UV i w komorze z jodem. Podać wartości R_f dla substratu i produktu.

Dane spektroskopowe flawonu

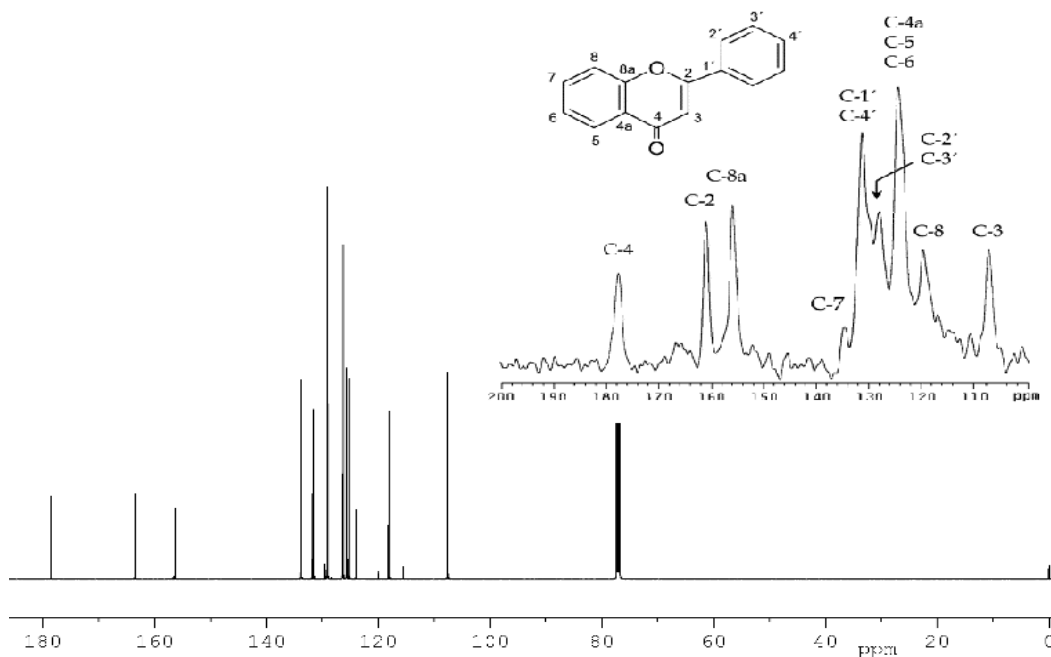
Widmo IR (KBr)



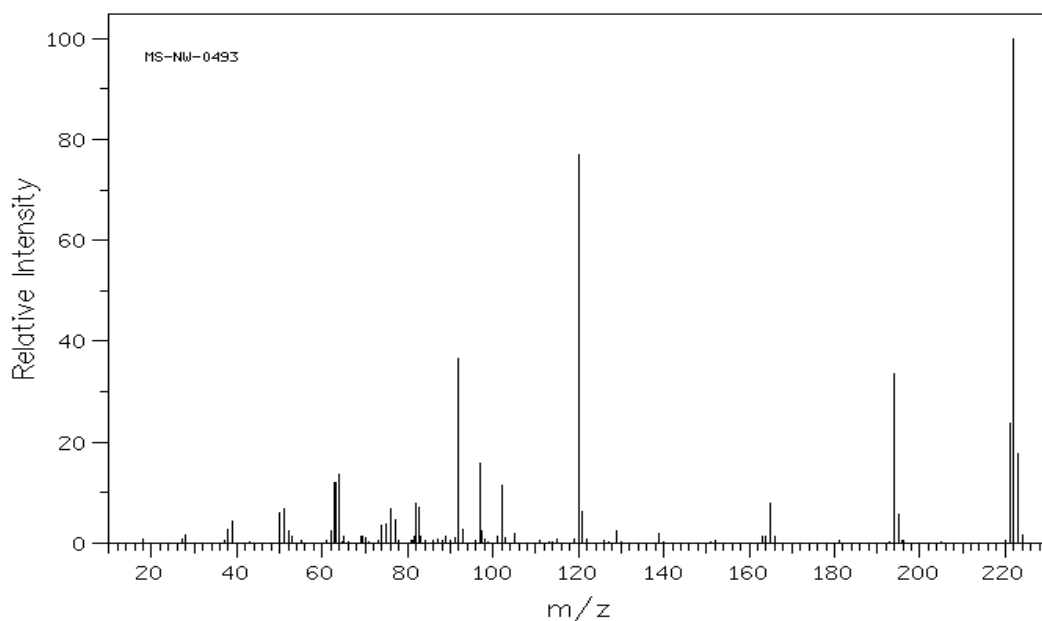
Widmo ¹H NMR w CDCl₃ (300 Hz)



Widmo ^{13}C NMR w CDCl_3



Widmo EI-MS ($M=222$ g/mol)



Zagadnienia

- Flawonoidy
- Mechanizm syntezy flawonu (3 etapy)
- Modyfikacja chemiczna struktury flawonu
- Zastosowanie pochodnych flawonu
- Analiza widm – porównanie właściwości substratu i produktu

Literatura

Bansal M., Kaur K., Tomar J., Kaur L. "Synthesis of Flavones" *Biomed J Sci & Tech Res.*, **2017**, 1 (6), 1752-1755.

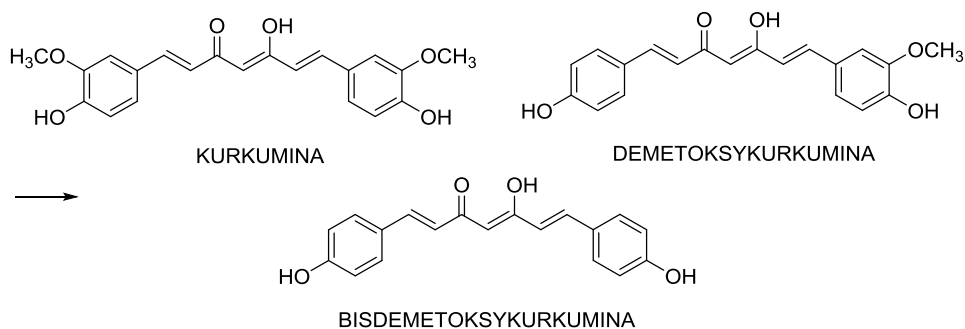
Kshatriya R. B., Shaikh Y. I., Nazeruddin G. M. "Synthesis of Flavone Skeleton by Different Methods" *Orient. J. Chem.*, **2013**, 29(4), 1475-1487.

12. Kurkuminoidy

12.1. Izolacja kurkuminoidów z kurkumy



KURKUMA



Odczynniki:

kurkuma	20 g
chlerek metylenu	50 mL
heksan	20 mL

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodenna poj. 100 mL i 50 mL
chłodnica zwrotna
czasza grzejna

Izolacja kurkuminoidów z kurkumy

W kolbie okrągłodennej o pojemności 100 mL, zaopatrzonej chłodnicę zwrotną umieścić 20 g sproszkowanej kurkumy i rozpuścić ją w 50 mL chlorku metylenu. Całość ogrzewać przez 1 godzinę w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną. Po tym czasie mieszaninę ostudzić, przesączyć i rozpuszczalnik odparować pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość trawić heksanem (20 mL) i odsączyć osad pod zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskany produkt zważyć i obliczyć zawartość kurkuminoidów w kurkumie. Wykonać chromatografię cienkowarstwową.

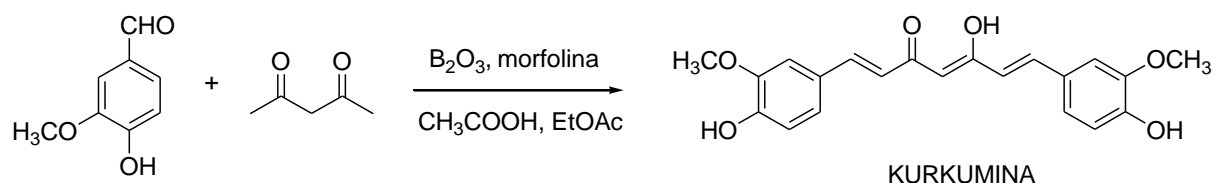
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: chlerek metylenu-metanol (97:3, v/v).

Izolacja kurkuminy za pomocą preparatywnej chromatografii cienkowarstwowej

Surową kurkuminę (200 mg), otrzymaną po trawieniu heksanem, rozpuścić w 1 mL 99% roztworu metanolu w chlorku metylenu (v/v) i nanieść na preparatywną płytę TLC (20 x 20 cm). Chromatogram rozwijać trzy razy używając 99% roztworu metanolu w chlorku metylenu (v/v). Odpowiednią warstwę żelu zeszkrobać, przenieść do kolbki okrągłodennej o pojemności 50 mL, dodać 25 mL 99% roztworu metanolu w chlorku metylenu (v/v) i całość mieszać przez 5 minut. Osad odsączyć (grawitacyjnie) i przesączyć, zawierający kurkuminę, odparować pod zmniejszonym ciśnieniem.

12.2. Synteza kurkuminy



Odczynniki:

trójtlenek boru	0,365 g
acetyloaceton	0,500 g
wanilina	1,430 g
morfolina	0,033 g
kwasy octowy lodowaty	0,036 g
octan etylu	2,56 mL
metanol	

Aparatura i szkło:

probówka typu G10
reaktor mikrofalowy

W probówce typu G10 umieścić trójtlenek boru (0,365 g) i acetyloaceton (0,500 g). Mieszaninę sonikować przez 15 minut w łaźni ultradźwiękowej po czym do probówki dodać uprzednio przygotowany w fiolce roztwór waniliny (1,430 g), morfoliny (0,033 g) i lodowatego kwasu octowego (0,036 g) w 1,56 mL octanu etylu. Fiolkę przepłukać 1 mL octanu etylu i dodać go do probówki. Probówkę zamknąć kapslem i umieścić w reaktorze mikrofalowym na 10 minut, w temperaturze 210 °C. Postęp reakcji kontrolować za pomocą chromatografii cienkowarstwowej.

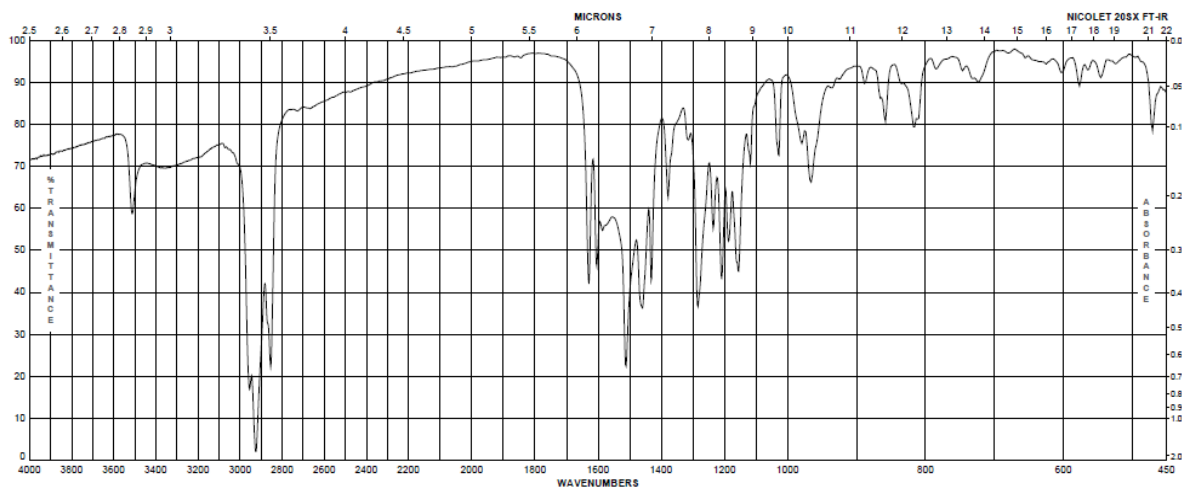
Do probówki z surowym produktem wprowadzić metanol (5 mL), mieszać przez kilka minut, (opcjonalnie, w przypadku utrudnionej rozpuszczalności, probówkę umieścić w łaźni ultradźwiękowej na kilka minut) i metanolowy roztwór przenieść do kolby okrągłodennej. Czynność powtórzyć jeszcze 4-5 krotnie. Połączone metanolowe roztwory odparować pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostałość krystalizować z metanolu lub oczyszczać za pomocą chromatografii kolumnowej (eluent: chlorek metylenu, chlorek metylenu-MeOH).

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

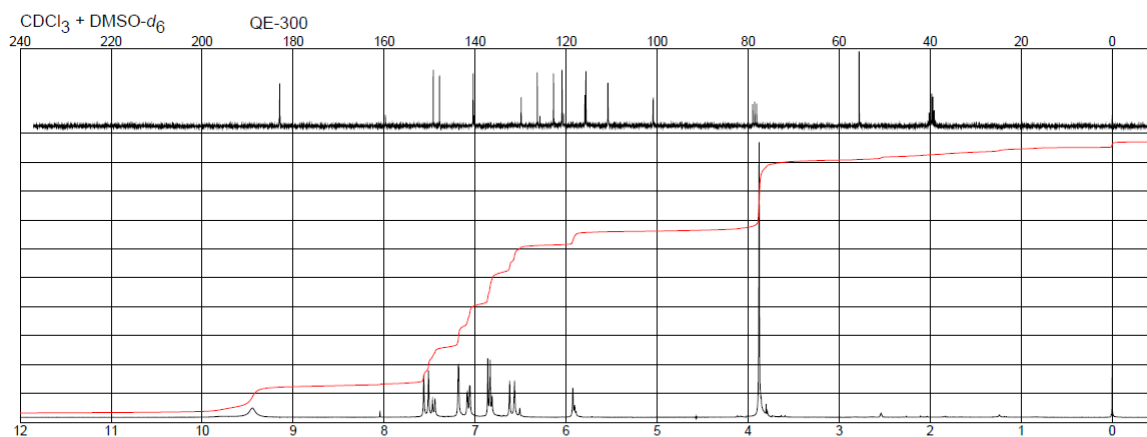
Eluent: chlorek metylenu.

Dane spektroskopowe kurkuminy

Widmo IR (katalog Sigma Aldrich)



Widma ¹H NMR i ¹³C NMR w CDCl₃ i DMSO-d₆ (katalog Sigma Aldrich)



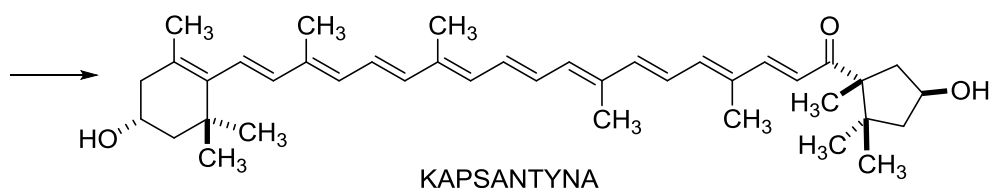
Zagadnienia

- Kurkuminoidy, budowa, występowanie, zastosowanie
- Analiza widm produktu
- Mechanizm reakcji syntezy kurkuminy

13. Izolacja kapsantyny ze słodkiej papryki



PAPRYKA
SUSZONA



Odczynniki:

suszona słodka papryka	100 g
eter naftowy	400 mL
eter dietylowy	300 mL
30% roztwór KOH w metanolu	100 mL
bezw. MgSO ₄	

Aparatura i szkło:

kolba okrągłodennej poj. 500 mL
rozdzielacz poj. 1 L
zestaw do sączenia pod
zmniejszonym ciśnieniem

Wszystkie czynności wykonywać z ograniczonym dostępem światła (naczynia na każdym etapie owijać folią aluminiową).

W kolbie okrągłodennej o pojemności 500 mL umieścić 100 g sproszkowanej słodkiej papryki i 250 mL eteru naftowego. Całość mieszać w temperaturze pokojowej przez 4 godziny po czym przesączyć przez lejek Büchnera. Osad przemyć eterem naftowym (100 mL). Do przesączu dodać eter dietylowy (300 mL) i 30% roztwór KOH w metanolu (100 mL). Całość mieszać w temperaturze pokojowej przez 8 godzin. Następnie roztwór przenieść do rozdzielacza, fazy rozdzielić i fazę organiczną przemyć wodą (3 x 100 mL). Fazę organiczną suszyć nad bezwodnym MgSO₄, odsączyć środek suszący i przesącz zatężyć pod zmniejszonym ciśnieniem do objętości 20 mL. Do roztworu dodać następnie 50 mL eteru naftowego i całość pozostawić do krystalizacji w temperaturze 4 °C (lodówka) [1]. Kryształy surowej kapsantyny odsączyć, po wysuszeniu na powietrzu zważyć i obliczyć jej zawartość w suszonej papryce.

Uwagi

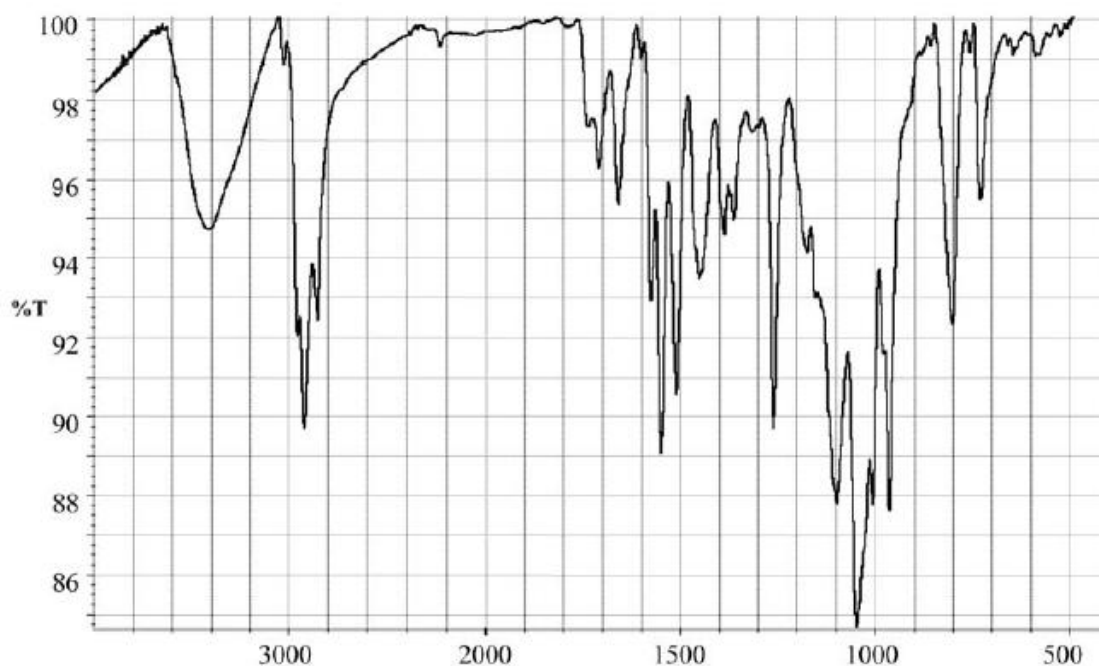
[1] W przypadku gdy kapsantyna nie wykryje, roztwór należy zatężyć.

Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

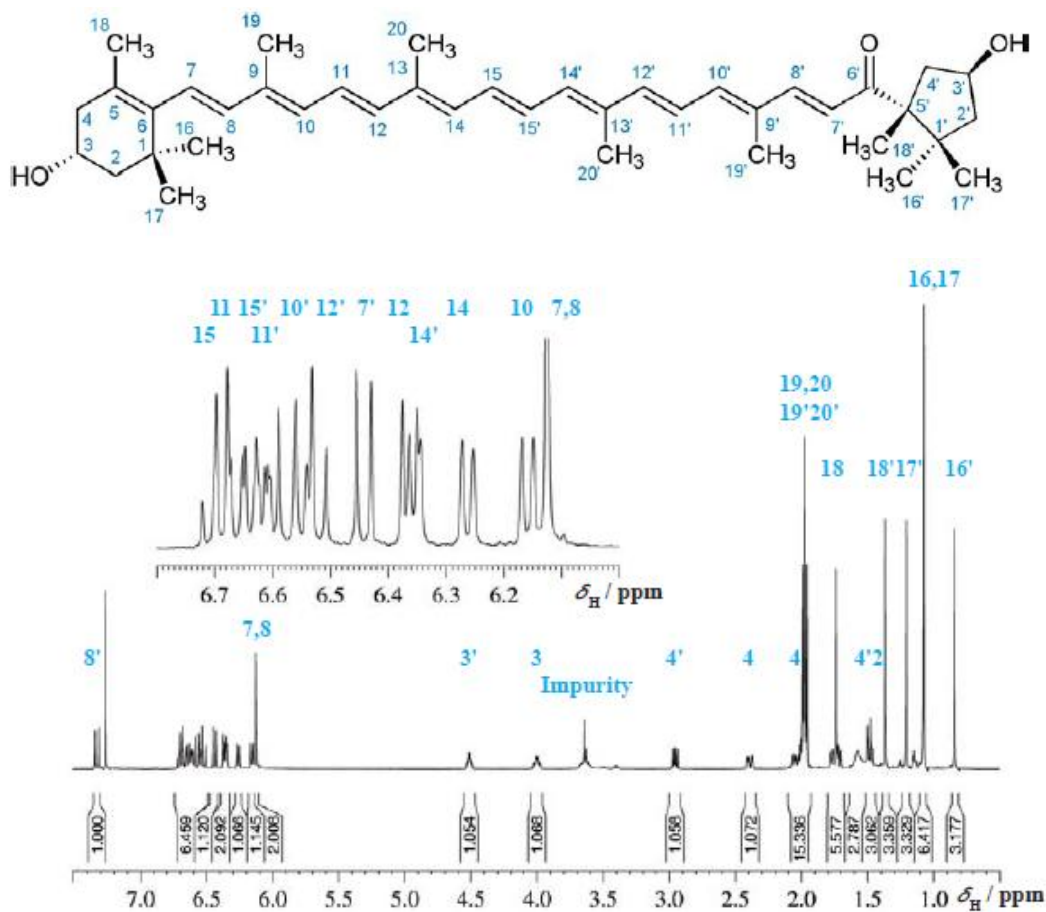
Eluenty: chlorek metylenu-octan etylu (2:1, v/v).

Dane spektroskopowe kapsantyny (Berger S., Sicker D. "Classics in Spectroscopy", 2009, 261-282, Willey-VCH Weinheim)

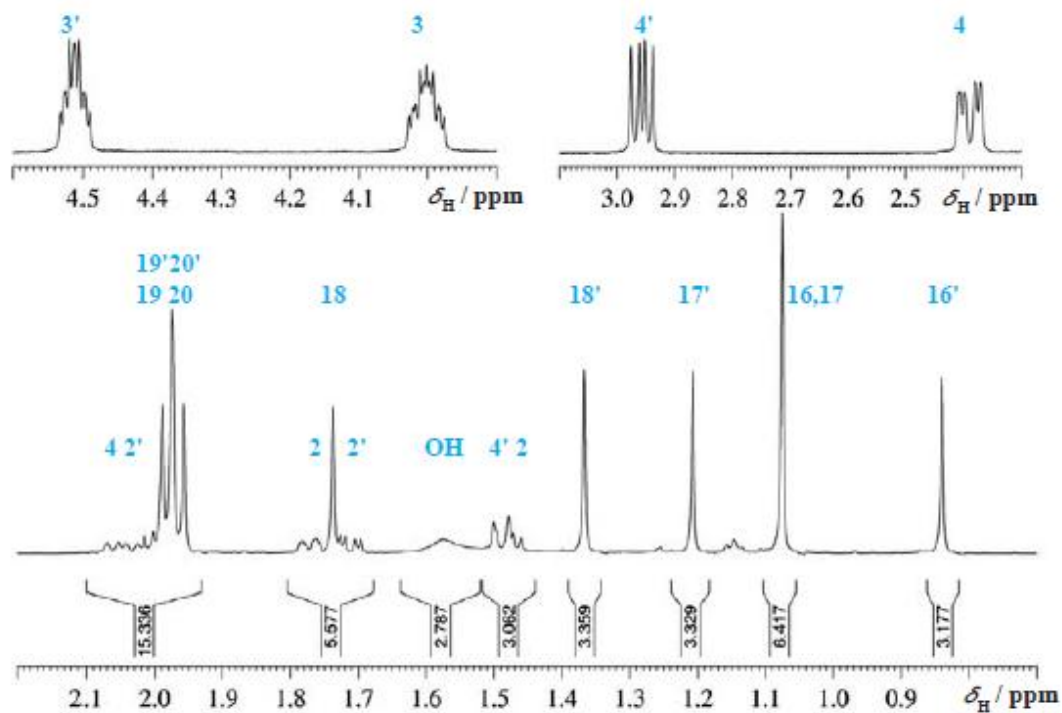
Widmo IR



Widmo ¹H NMR w CDCl₃ i numeracja atomów węgla w cząsteczce kapsantyny



Widmo ^1H NMR w CDCl_3 (rozciągnięcie)



Zagadnienia

- Karotenoidy (ogólna struktura, występowanie, funkcje, zastosowanie)
- Spektroskopia kapsantyny IR i NMR (oszacowanie położenia i multipletowości sygnałów)

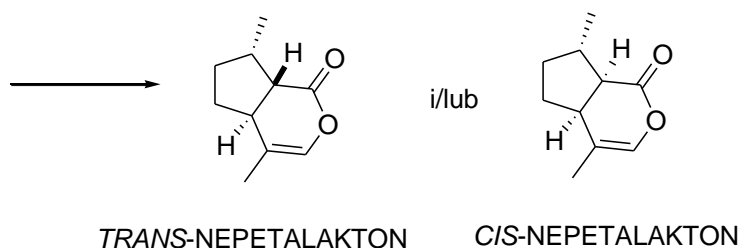
Literatura

Berger S., Sicker D. "Classics In Spectroscopy", 2009, 261-282, Willey-VCH Weinheim.

14. Izolacja olejku z kocimiętki (nepetalakton)



SUSZONA KOCIMIĘTKA
(NEPETA L.)



Odczynniki:

suszona kocimiętka	30 g
chlerek metylenu	120 mL
NaCl	100 g
NaHCO ₃ (nasycony roztwór)	
bezw. Na ₂ SO ₄	

Aparatura i szkło:

zestaw do destylacji z parą wodną
kolba stożkowa poj. 250 mL
lejek
rozdzielacz poj. 250 mL

Zmontować zestaw do destylacji z parą wodną tak, jak jest to pokazane na rysunku w ćwiczeniu 1, str. 5. W kolbie umieścić 30 g suszonej kocimiętki i dodać 150 mL wody destylowanej. Destylację prowadzić do momentu uzyskania 150 mL destylatu. Do destylatu dodać stałego NaCl (ok. 100 g) do momentu, aż kolejna porcja soli przestanie się rozpuszczać. Roztwór z nadmiaru soli zdekantować i przenieść do rozdzielacza. Przeprowadzić ekstrakcję chlorkiem metylenu (4 x 30 mL). Otrzymane ekstrakty organiczne połączyć, przemyć nasyconym roztworem NaHCO₃ i suszyć nad bezwodnym siarczanem sodu. Następnie przesącz zateżyć pod zmniejszonym ciśnieniem. Obliczyć zawartość olejku w suszonej kocimiętce i przeprowadzić analizę TLC produktu.

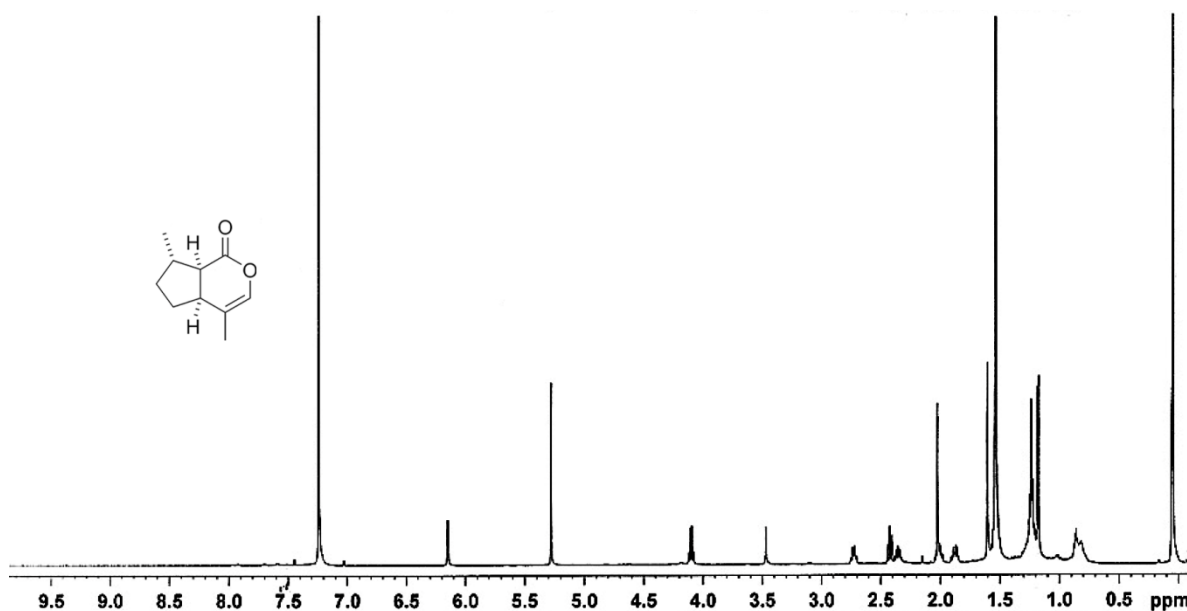
Chromatografia cienkowarstwowa (TLC)

Eluent: eter naftowy-octan etylu (20:1, v/v).

Dane spektroskopowe nepetalaktonu (Sim J., Yoon I., Yun H., An H., Suh Y. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 1244-1251.)

Widmo IR (film) ν_{\max} 2106, 1739, 1496, 1453, 1376 cm^{-1} .

Widmo ^1H NMR w CDCl_3



^1H NMR (CDCl_3 , 500 MHz) δ 6,15 (s, 1H); 2,73 (dd, $J = 16,1; 7,9$ Hz, 1H); 2,42 (m, 1H); 2,35 (m, 1H); 2,01 (m, 1H); 1,88 (m, 1H); 1,60 (s, 3H); 1,55 (m, 1H); 1,24 (m, 1H); 1,18 (d, $J = 6,22$ Hz, 3H).

Zagadnienia

- Destylacja z parą wodną: podstawy fizyczne i zastosowanie
- Stereochemia: enancjomery, diastereoizomery, konfiguracja absolutna
- Mechanizm hydrolizy zasadowej nepetalaktonu (z NaOH)

Literatura

Sim J., Yoon I., Yun H., An H., Suh Y. *Org. Biomol. Chem.*, **2016**, *14*, 1244-1251.

15. Literatura

- Matławska I., Bylka W., Gawron-Gzella A., Sikorska M., Szafer-Hajdrych M., Wójcińska M., Dudek-Makuch M., Witkowska-Banaszak E., „Farmakognozja”, Wydawnictwo Naukowe Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2006.
- Praca zbiorowa pod redakcją Stefana Malepszego, „Biotechnologia roślin”, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2001.
- Jerzmanowska Z., „Substancje roślinne – metody wyodrębniania”, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 1967.
- Wrzeciono W., Zaprutko L., „Chemia związków naturalnych”, Wydawnictwa Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu, Poznań 2001.
- Kołodziejczyk A., „Naturalne związki organiczne”, wyd. 3, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2013.
- Molski M., „Chemia piękna”, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2009.
- Vogel A. I., „Preparatyka organiczna”, wyd. 3, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2006.
- Kączkowski J., „Podstawy biochemii”, wyd. 14, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2004.
- Lewak S., Kopcewicz J., „Fizjologia roślin. Wprowadzenie”, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2009.
- Klimek R., „Olejki eteryczne”, Wydawnictwo Przemysłu Lekkiego i Spożywczego, Warszawa 1957.
- Nowak K., Rutkowski K., Suryło P., Mitka K., Kowalski P., Kowalska T., „Laboratorium chemii organicznej, techniki pracy i przepisy bhp”, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, Warszawa 2004.
- Berger S., Sicker D., “Classics in Spectroscopy. Isolation and structure elucidation of natural products”, Wiley-VCH, 2009.
- Dewick P. M., “Medicinal Natural Products: a Biosynthetic approach”, Wiley, 2nd ed., 2002.
- Bhat S. V., Nagsampagi B. A., Sivakumar M., “Chemistry of Natural Products”, Springer, 2005.
- **Widma:**
SDBSWeb : <http://riodb01.ibase.aist.go.jp/sdbs/> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, 22.10.2011)
<http://www.sigmaaldrich.com>
<http://webbook.nist.gov> (NIST Chemistry WebBook, 08.02.2016)

Fotografie: Agnieszka Grajewska, Joanna Kurek