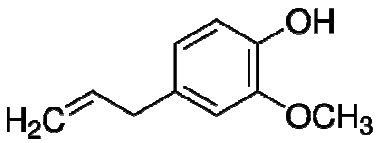
Ćwiczenie 6

Zastosowanie destylacji z parą wodną oraz ekstrakcji ciecz-ciecz do izolacji eugenolu z goździków

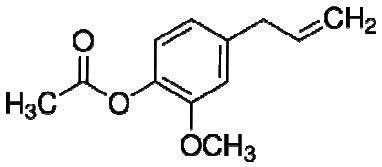
Wstęp

Celem ćwiczenia jest zapoznanie się z destylacją z parą wodną oraz ekstrakcją w układzie ciecz-ciecz jako technikami służącymi do separacji produktów naturalnych a także produktów syntez chemicznych. Pomysł eksperymentu został zaadaptowany z publikacji Ntamila i Hassanali „*Isolation of oil of clove and separation of eugenol and acetyl eugenol*”.

Goździki są to wysuszone pąki kwiatowe drzewa goździkowego (*Syzygium aromaticum* dawniej *Eugenia caryophyllata*). Są używane jako przyprawa do kompotów, konfitur, marynat i wyrobów cukierniczych. Olejek eteryczny izolowany z goździków za pomocą destylacji z parą wodną znajduje zastosowanie w przemyśle perfumeryjnym, medycynie i dentystyce. Olejek uzyskiwany z goździków pochodzących z Zanzibaru zawiera głównie eugenol (80-90%) i octan eugenolu (9-10%).



eugenol



octan eugenolu

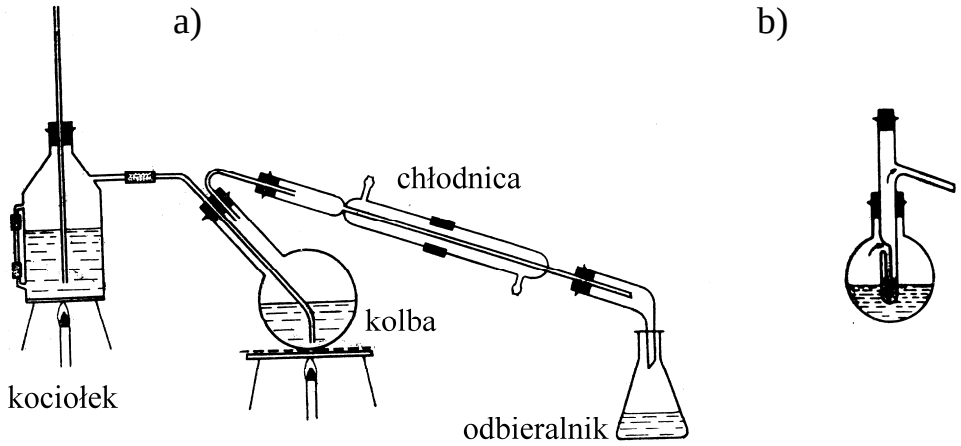
Rys. 1. Składniki olejku eterycznego z goździków.

Olejki eteryczne z roślin izoluje się metodą destylacji z parą wodną. Następnie stosuje się ekstrakcję w układzie ciecz-ciecz, aby wydobyć olejek z destylatu.

Destylacja z parą wodną jest metodą izolacji substancji stałych i ciekłych nie mieszających się z wodą, ale lotnych z parą wodną czyli wykazujących znaczną prężność pary w temperaturze bliskiej 100°C. Proces polega na przemianie substancji zawieszonej w wodzie w stan gazowy dzięki działaniu strumienia pary wodnej. Służy do wyodrębniania produktów syntez chemicznych oraz związków pochodzących ze źródeł naturalnych.

Prężności par substancji całkowicie nie mieszających się ze sobą podlegają prawu Daltona czyli prężność pary nasyconej w takim układzie równa się sumie prężności cząstkowych składników mieszaniny: $p = p_1 + p_2$. Mieszanina osiągnie temperaturę wrzenia gdy suma prężności par nasyconych składników zrównoważy ciśnienie atmosferyczne. Uzyskana temperatura wrzenia mieszaniny jest niższa od temperatury wrzenia składnika

bardziej lotnego czyli o większej prężności par. W efekcie sumowania się prężności par substancja destylowana z parą wodną osiąga temperaturę wrzenia i destyluje, pomimo że jej własna prężność par jest niższa niż ciśnienie atmosferyczne. Podsumowując: destylacja z parą wodną umożliwia destylację izolowanej substancji w temperaturze niższej niż jej temperatura wrzenia.



Rys. 2. Zestaw do destylacji z parą wodną (*a*) oraz destylacja z parą wodną w skali półmikro (*b*). Wg Zofia Jerzmanowska, *Preparatyka organicznych związków chemicznych*, 1972.

Jedną z najczęściej stosowanych technik izolacji i wzbogacania analitu jest ekstrakcja. Fazą ekstrahującą (ekstrahentem) dla próbek stałych i ciekłych może być gaz, ciecz lub ciało stałe. W ćwiczeniu wykorzystano ekstrakcję w układzie ciecz – ciecz do izolacji eugenolu i octanu eugenolu z destylatu zawierającego olejek goździkowy a następnie do rozdzielenia obu substancji.

Rozdział składników próbki na składniki kwaśne i zasadowe może być przeprowadzony za pomocą ekstrakcji ciecz-ciecz. Separację związków o charakterze kwaśnym (kwasy organiczne i fenole) od związków zasadowych i obojętnych (aminy, węglowodory aromatyczne, chlorowcopochodne) przy zastosowaniu odpowiedniego pH fazy wodnej przeprowadza się w następujący sposób:

- ekstrakt w rozpuszczalniku organicznym jest ekstrahowany wodą o odczynie silnie zasadowym,
- w tych warunkach związki zasadowe i obojętne pozostają w rozpuszczalniku organicznym,
- kwasy organiczne i fenole przechodzą do warstwy wodnej, gdzie są zakwaszane i ekstrahowane powtórnie rozpuszczalnikiem organicznym.

Eugenol, który jest pochodną fenolu, może być wyekstrahowany z roztworu organicznego za pomocą 5 % roztworu NaOH. W tych warunkach w fazie organicznej pozostaje octan eugenolu. Wydzieloną fazę wodną po zakwaszeniu ekstrahuje się następną fazą organiczną w celu izolacji eugenolu.

Celem ćwiczenia jest izolacja eugenolu oraz octanu eugenolu z goździków a następnie sprawdzenie czystości wydzielonych substancji za pomocą TLC.

Część doświadczalna

Destylacja z parą wodną

Należy zmiażdżyć około 6 g goździków w moździerzu porcelanowym. Zmiażdżone goździki zważyć z dokładnością do 0,1 g, zanotować masę próbki i umieścić w zestawie do destylacji z parą wodną a następnie dodać 20 ml wody. W kolbie okrągłodennej o pojemności 1000 ml powinno znajdować się około 500 ml wody (proszę pamiętać o dodaniu kamyczków wrzennych). Wodę w kolbie doprowadzić do wrzenia (regulator mocy ustawiony na 6-7) i przeprowadzić destylację z parą wodną przez 1 godz.

Ekstrakcja ciecz-ciecz

Otrzymany destylat ekstrahować 3 porcjami po 25 ml chloroformu w rozdzielaczu. Wydzielić warstwę organiczną (dolną) zawierającą wyekstrahowane związki i połączyć ekstrakty w kolbce płaskodennej.

Pobrać 2 mL ekstraktu do małej kolbki, wysuszyć bezwodnym siarczanem sodu i przesączyć przez sączek do naczynka (*A*) o pojemności 1,5 ml, zatężyć do około 0,1 ml w strumieniu azotu i pozostawić do analizy TLC.

Pozostałą część ekstraktu chloroformowego (73 mL) ekstrahować 3 porcjami po 25 ml wodnego roztworu NaOH (5%) w rozdzielaczu.

Warstwa chloroformowa zawiera głównie octan eugenolu. Warstwę chloroformową przenieść do kolbki płaskodennej, wysuszyć bezwodnym siarczanem sodu i przesączyć przez sączek do kolbki. Pobrać 1,5 mL ekstraktu do naczynka (*B*) o pojemności 1,5 ml, zatężyć do około 0,1 ml w strumieniu azotu i pozostawić do analizy TLC. Następnie odparować rozpuszczalnik za pomocą odparowywacza obrotowego do objętości około 1 ml i pipetą Pasteura przenieść ilościowo ekstrakt do uprzednio zważonego naczynka (*C*) o pojemności 1,5 ml. Wysuszyć w strumieniu azotu do stałej masy i zważyć dokładnie na wadze analitycznej. Policzyć zawartość octanu eugenolu (mg/g masy goździków).

Połączone ekstrakty alkaliczne zebrać w kolbce płaskodennej, zakwasić dodając

ostrożnie kwas solny, sprawdzić odczyn próbki i ponownie wyekstrahować chloroformem. Ekstrahować 3 porcjami po 25 ml chloroformu w rozdzielaczu. Wydzielić warstwę organiczną (dolną) zawierającą eugenol i połączyć ekstrakty w kolbce płaskodennej. Wysuszyć ekstrakt bezwodnym siarczanem sodu i przesączyć przez sączek do kolbki. Pobrać 1,5 mL ekstraktu do naczynka (*D*) o pojemności 1,5 ml, zatężyć do około 0,1 ml w strumieniu azotu i pozostawić do analizy TLC. Następnie odparować rozpuszczalnik za pomocą odparowywacza obrotowego do objętości około 1 ml i pipetą Pasteura przenieść ilościowo ekstrakt do uprzednio zważonego naczynka (*E*) o pojemności 1,5 ml. Wysuszyć w strumieniu azotu do stałej masy i zważyć dokładnie na wadze analitycznej. Policzyć zawartość eugenolu (mg/g masy goździków).

Analiza TLC

Napełnić komorę chromatograficzną fazą ruchomą chloroform-heksan (3:4, v/v) (V = 3 ml). Przygotować płytki TLC, czyli narysować delikatnie miękkim ołówkiem:

- linię startową około 1 cm od dolnego brzegu płytki i zaznaczyć na niej punkty nanoszenia próbek,
- linię końcową około 1 cm od górnego brzegu płytki.

Nanieść na płytkę po około 2-3 μL badanych roztworów (*A*, *B*, *D*) uważając, aby plamka nie miała średnicy większej niż 2 mm. Rozwinąć chromatogram. Wywołać płytkę TLC za pomocą par jodu i delikatnie obrysować plamki ołówkiem. Następnie policzyć wartości współczynników opóźnienia (R_F). Ocenić jakość rozdziału eugenolu i octanu eugenolu za pomocą ekstrakcji ciecz-ciecz na podstawie wykonanej analizy TLC.

Literatura

1. M.S. Ntamila, A. Hassanali. Isolation of oil of clove and separation of eugenol and acetyl eugenol. *J. Chem. Educ.*, 1976, 53, str. 263. http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ed053p263

2. Piotr Stepnowski, Elżbieta Synak, Beata Szafranek, Zbigniew Kaczyński. *Techniki separacyjne*. Wydawnictwo Uniwersytetu Gdańskiego, Gdańsk 2010,

3. Zofia Jerzmanowska. *Preparatyka organicznych związków chemicznych*. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1972.

4. Somenath Mitra. *Sample preparation techniques in analytical chemistry*. Wiley. 2003.

Szkło i odczynniki

Destylacja z parą wodną

- zlewka V = 50 mL
- łyżka metalowa mała
- moździerz porcelanowy średni
- goździki
- kamyczki wrzenie
- folia aluminiowa
- zestaw do mikrodestylacji z parą wodną z wydajną chłodnicą i kolbą V = 1 L

Ekstrakcja ciecz-ciecz

- pipeta miarowa o obj. 2 lub 1 ml (2 szt)
- pompka do pipet
- lejek średni + odpowiednie sączki + pasujący statyw
- rozdzielacz V = 200 ml + pasujący statyw
- cylinder miarowy V = 50 ml (2 szt.)
- kolbka z dnem konicznym do odparowywacza V = 100 ml (2 szt) + 2 podkładki gumowe + pasujący reduktor,
- kolbka płaskodenna V = 100 ml + korek szklany (4 szt)
- kolbka płaskodenna V = 10 ml + korek szklany
- 5% wodny roztwór NaOH V = 1 L,
- chloroform V = 0,5 L,
- bezwodny siarczan sodu,
- naczynka zakręcane 1,5 mL (5 szt) + mały lejek (1 szt) + pasujące sączki i statyw,
- kwas solny V = 100 mL + pipeta Pasteura + statyw do pipety
- papierki wskaźnikowe pH
- pipety Pasteura + sączki do pipet

TLC:

- płytki do TLC *silica gel* 60 firmy Merck, o wymiarach 4 × 6,5 cm,
- strzykawka do TLC,
- chlorek metylenu do mycia strzykawki V = 25 ml,
- komora chromatograficzna do TLC,
- metalowa pęseta,
- pipeta V = 5 ml,
- roztwór chloroform-heksan (3:4, v/v) V = 100 ml,
- linijka oraz miękki ołówek
- nożyczki
- słoik V = 1 L zawierający niewielką ilość jodu do wywoływania płytek TLC