

Naturstofkemi – øvelser

Plantepigmenter – Chromatografi

Plantepigmenter – Søjlechromatografi

Enzymatisk omdannelse af vanillin til vanillylalkohol

Curcumin - Introduktion

Curcumin - TLC af karry og gurkemeje

Curcumin - Isolering af curcumin

Curcumin - Undersøgelse af curcumins syre-baseegenskaber

Isolering af piperin fra peber

Ekstraktion af koffein fra te

Syntese af kanelaldehyd

Fremstilling af kaneltsyre

Indigo

Farvning med indigo

Syntese af methylsalicylat

Plantepigmenter – Chromatografi



Formål:

Formålet med øvelsen er, at adskille pigmenterne i grønne blade ved hjælp af tyndtlagschromatografi.

Apparatur:

Chromatografiplade, chromatografikar eller stort bægerglas dækket med alufolie, filtrerpapir, mikropipette, reagensglas, prop, morter med pristol.

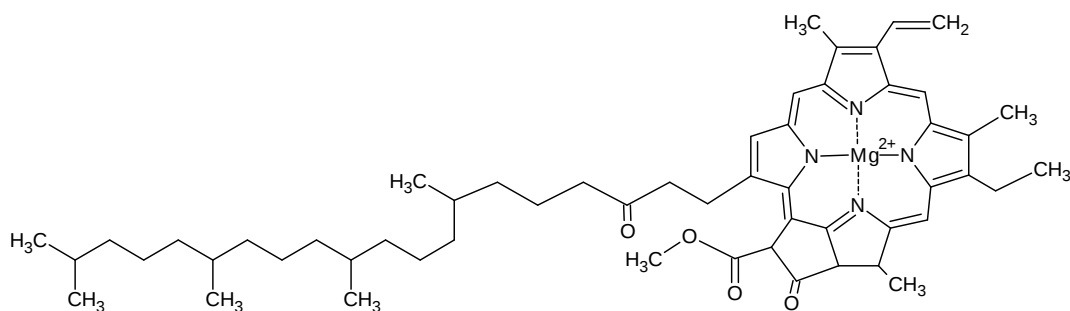
Kemikalier:

Eluent (løbevæske): heptan / acetone / ethanol (75:20:5), plantemateriale – grønne blade.

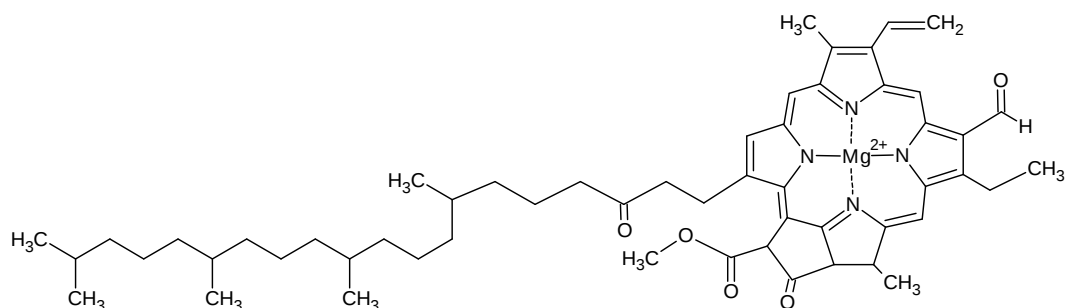
Teori:

Pigmenter har forskellige opgaver i planter. Det specielle ved grønne planter er deres evne til ved photosyntese at omdanne lysenergi til kemisk energi. Det sker ved at opbygge carbohydrater ud fra carbondioxid og vand. De primære pigmenter i photosyntesen er chlorophyll a og chlorophyll b, men også carotener og xanthophyller spille en vigtig rolle.

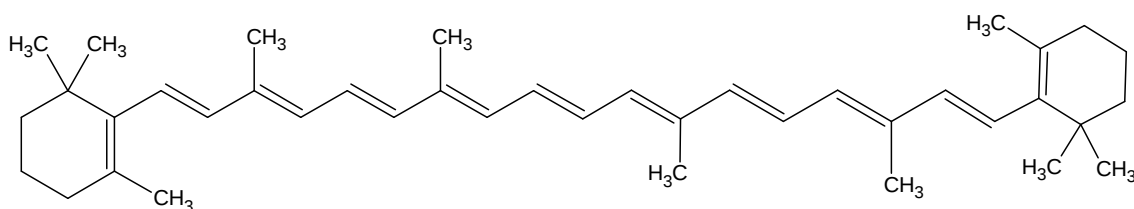
I øvelsen skilles plantepigmenterne ved hjælp af chromatografi



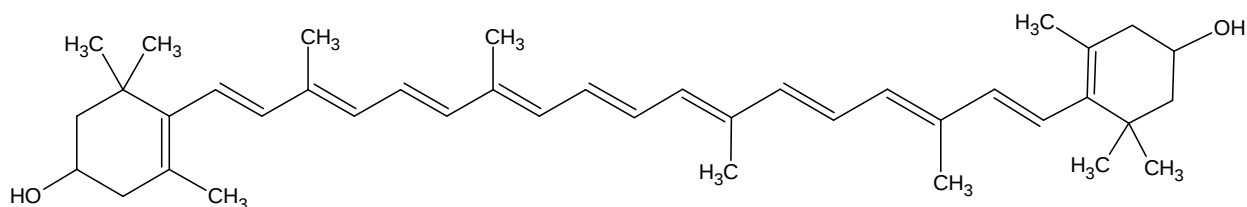
chlorophyll a



chlorophyl b



β -caroten



Xanthophyl

For at kunne sammenligne resultaterne fra forskellige TLC-plader, hvor løbevæsken og plettern ikke nødvendigvis løber lige lang, kan man beregne forholdet mellem den afstand løbevæsken har tilbagelagt l_{front} og den afstand l_{stof} de enkelte pletter har tilbagelagt. Dette forhold kaldes R_f og har en værdi mellem 0 og 1. Derfor ganges værdien ofte med 100. Herved fås hR_f som så kommer til at ligge mellem 0 og 100.

$$hR_f = 100 \cdot \frac{l_{stof}}{l_{front}}$$

Eksperimentelt:

Ekstraktion

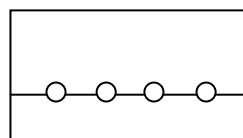
De forskellige øvelseshold fremstiller forskellige planteekstrakter, som derpå benyttes af flere hold. Afvej 1,5 g plantematerialet. Riv materialet i små stykker og læg dem i en morter sammen med ca. 8 mL af en blanding af heptan, acetone og ethanol (75:20:5) og mal dem grundigt med pistillen indtil opløsningsmidlet er mørkegrønt, men stadig gennemsigtigt. Dekanter så meget som muligt af dette ekstrakt over i et reagensglas uden at få de faste rester af blade med. Lad opløsningen stå et par minutter, så evt. bundfald falder til bunds. (evt. centrifugering). Brug en pipette til at overføre væsken til et rent reagensglas. Pas på ikke at få faste stoffer eller vand med fra bunden.

TLC

Forbered et chromatografikar (evt. et stort bægerglas) ved at fore det på siderne med et stort stykke filterpapir. Hæld derefter så meget løbevæske i, at der kommer til at stå ca. 0,5 cm i bunden af karret. Luk karret og skvulp forsigtigt med væsken, så papiret bliver vådt. Lad herefter karret stå mens chromatografipladen forberedes.

Klip en TLC-plade på 5 x 20 cm og tegn med blyant en linie ca. 1,5 cm fra bunden af pladen. Pas på ikke at ødelægge belægningen af kiselgel. Træk et kapillarrør tynd på midten ved at varme de over en bunsenbrænder. Knæk røret på det tynde sted. Brug kapillarrøret som mikropipette til at sætte planteekstrakt på pladen. Dyp mikropipetten i planteekstraktet og sæt en plet midt på blyantsstregen. Pletten må ikke være meget mere end 2 mm i diameter. Lad pletten tørre (brug evt. en hårtørrer). Sæt igen en plet af samme ekstrakt på samme sted – stadig uden at pletten bliver mere end 2 mm og lad igen pletten tørre. Forsæt på denne måde indtil der er en lille mørkegrøn (næsten sort) plet med en tydelig gul ring omkring.

Sæt derefter på samme måde pletter af planteekstrakterne fra de andre hold på stregen. Pletterne med de forskellige ekstrakter skal være 0,7 – 1 cm fra hinanden. De yderste pletter skal være mindst 0,7 cm fra kanten.



Sæt pladen ned i chromatografikarret med pletterne nedad og luk låget. Løbevæsken i bunden må ikke nå op til pletten. Løbevæsken vil nu trække op ad pladen. Lad pladen stå og betragt den af og til mens væskefronten stiger og adskiller stofferne på pladen. Når væskefronten er nået godt $\frac{3}{4}$ op ad pladen tages pladen op – det tager ca. 30 minutter. Væskefronten må ikke nå toppen af pladen (mindst 0,5 cm fra toppen). Tegn med blyant en linje langs fronten af løbevæsken. Læg pladen til tørre under udsugning.

Når pladen er tør markeres alle synlige pletter ved at tegne rundt om dem med blyant. Betragt derefter pladen under UV-lys og markér med blyant eventuelle nye pletter der kommer frem.

i Pas på. Kig ikke direkte ind i UV-lampen. UV-stråling er yderst skadelig for øjnene !

Efterbehandling

- Hvor mange farvede pletter er der på pladen? Hvilke stoffer/stoftyper svarer pletterne til ?
- Hvor mange andre "usynlige" pletter er der?
- Mål afstanden l_{front} fra startlinien til linien fra væskefronten.
- Mål afstandene l_{stof} fra startlinien til de enkelte pletter.
- Beregn R_F -værdien for de enkelte pletter.
- Sammenlign værdierne med værdier fra de andre øvelseshold – hvad kan evt. forskelle i R_F -værdierne hos de forskellige hold skyldes?
- Den stationære fase er mere polær end den mobile. Hvad kan man her ud fra slutte om polariteten af de forskellige pigmenter fra plantematerialet.
- Argumentér for den forskellige løbelængde for de stoffer, hvis struktur minder om hinanden.
- Chlorophyl a absorberer lys ved bølglængderne 430 nm og 662 nm, mens chlorophyl b absorberer ved 453 nm og 642 nm. Forklar hvorfor chlorophyl er grønt.

En typisk rækkefølge af bladpigmenter er:

Bladpigment	Farve
carotener	gylden
pheophytin ¹	olivengrøn
chlorophyl a	blågrøn
chlorophyl b	gulgrøn
Xanthophyl	gul
violaxanthin ²	gul
neoxanthin ³	gul

¹ chlorophyll uden magnesiumion

² ligner xanthophyll, men med 2 epoxygrupper

³ ligner violaxanthin, men med hydroxygrupper i stedet for epoxygrupper

Plantepigmenter – Søjlechromatografi



Formål:

Formålet med øvelsen er, at adskille pigmenterne i grønne blade ved hjælp af søjlechromatografi. Efterfølgende undersøges de opsamlede fraktioner spektrofotometrisk.

Apparatur:

Engangspipette, bægerglas 50 mL, 2 små reagensglas og enten færdiglavede kiselgelsøjler eller søjler man har fremstillet v.h.a. en pasteurpipette, glasuld, sand og kiselgel.

Kemikalier:

Heptan, propanon, plantemateriale.

Teori:

Plantepigmenterne opløses i en blanding af heptan og propanon. Herefter adskilles de ved hjælp af søjlechromatografi. Fraktioner af caroten og chlorophyl opsamles og stofferne identificeres ved hjælp af spektrofotometri.

Eksperimentelt:

Ekstraktion

Afvej 1,5 g plantematerialet. Riv materialet i små stykker og læg dem i en morter sammen med ca. 8 mL af en blanding af heptan, acetone (75:25) og mal dem grundigt med pistillen indtil opløsningsmidlet er mørkegrønt, men stadig gennemsigtigt. Dekanter så meget som muligt af dette ekstrakt over i et reagensglas uden at få de faste rester af blade med. Lad opløsningen stå et par minutter, så evt. bundfald falder til bunds. (evt. centrifugering). Brug en pipette til at overføre væsken til et rent reagensglas. Pas på ikke at få faste stoffer eller vand med fra bunden.

Chromatografi

Tag 2 små, rene reagensglas og mærk dem "1" og "2". De skal bruges til at opsamle pigmentfraktionerne fra søjlen.

- a) Hvis der bruges færdigpakkede chromatografisøjler spændes den op i et stativ. Gennemvæd kiselgelen ved at fylde heptan i den og tap derpå så meget ud, at væskeoverfladen står lige over kiselgelens

overflade. Fortsæt derpå fra b)

Bruges der ikke færdigfremstillede søjler, kan man fremstille en søjle på følgende måde:
Spænd en pasteurpipette op på et stativ (ligesom en burette). Fugt en lille tot glasuld med heptan og anbring den, så den danner en lille løs prop ($< 0,5$ cm) der, hvor pipetten snævrer ind.

Pas på. Glasuld irriterer huden. Tag let på den – brug evt. handsker – og vask hænder umiddelbart efter, at glasulden er anbragt.

Fyld søjlen næsten op med heptan. Hæld lidt sand i pipetten, så glasulden er dækket med et lag på ca. 3 mm. Anbring derpå et lag kiselgel på 3 – 6 cm oven på sandet og slut af med endnu et lag sand på 3 mm. Placer et lille bægerglas under søjlen og lad noget af væsken løbe ud af den og ned i et bægerglas. Fra nu af må det øverste lag sand i søjlen **ikke løbe tørt**.

- b) Når heptanen er i niveau med toppen af søjlematerialet, fyldes planteekstraktet forsigtigt i søjlen ved hjælp af en pipette. Tap væske af søjlen indtil overfladen igen er i niveau med overfladen af sandet. Hvis der stadig er planteekstrakt tilbage gentages proceduren, indtil alt ekstraktet er sat på søjlen. Fyld nu søjlen helt op med heptan og bliv ved med at tappe væske af søjlen, mens der hele tiden fyldes mere heptan i, så den ikke løber tør.

Nu vandrer pigmenterne ned gennem søjlen, og når den første farvede opløsning når bunden, skiftes bægerglasset ud med reagensglas "1". Hvad er farven på det pigment, der kommer ned i glas "1"? Hvad er farven på pigmentet på toppen af søjlen?

Når alt det første pigment er løbet igennem søjlen, skiftes glas "1" igen ud med bægerglasset. Lad væskeoverfladen løbe ned til toppen af sandlaget og fyld derefter søjlen med propanon. Bliv herefter ved med at tilsætte propanon. Når det andet pigment når bunden af søjlen skiftes bægerglasset ud med glas "2". Tilsæt propanon indtil det andet pigment er løbet igennem. Hvad er farven på dette pigment? Når det andet pigment er løbet igennem, erstattes glas "2" med bægerglasset og søjlen får lov til at løbe tør.

Spektroskopi

Optag spektre af indholdet i henholdsvis glas "1" (400 – 500 nm) og glas "2" (400 – 700 nm). Fremgangsmåden afhænger af det spektrofotometer, der benyttes. Vær opmærksom på, at plastikkuvetter kan være opløselige i propanon.

Efterbehandling:

Find absorptionsmaxima for pigmenterne i glas "1" og "2".

Sammenlign med spektroskopiske data for β -caroten og chlorophyll a og b.

Hvilke pigmenter tyder resultaterne på, at der er i de to glas?

Forklar sammenhængen mellem pigmenternes absorptionsspektre og deres farve.

Er der tegn på, at der er andre pigmenter i planteekstraktet?

Hvilke pigmenter kunne der i givet fald være tale om?

Enzymatisk omdannelse af vanillin til vanillylalkohol



Formål:

Formålet med øvelsen er, at omdanne vanillin til vanillylalkohol ved hjælp af enzymerne i bagegær. Omdannelsen følges ved hjælp af tyndtlagschromatografi.

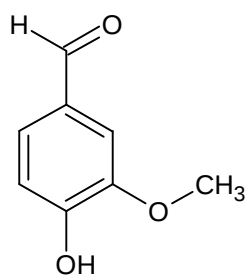
Apparatur:

Konisk kolbe 250 mL, magnetomrører, røremagnet, 16 små mærkede reagensglas, måleglas 50 mL, chromatografikar (evt. stort bægerglas dækket med alufolie), kiselgelplade, udtrukne kapillarrør (mikropipetter til at sætte stof på chromatografipladen).

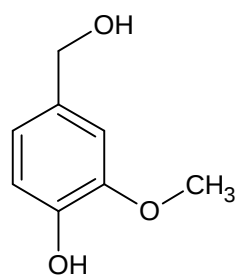
Kemikalier:

Vanillin, vanillylalkohol, sucrose, tørgær eller frisk gær, ethylethanoat, methylbenzen, diethylether.

Teori:



vanillin



vanillylalkohol

Vanillin er skyld i vaniljes aroma. Oprindeligt har man fået stoffet fra de tørrede frugter af vaniljeplanten (*Vanilla fragrans*), der vokser i Mexico og Mellemamerika. Det anvendes som smagsstof i bl.a. chokolade og som aromastof i parfumer. Også i egetræ dannes lidt vanillin. Det er med til at give aroma til vin under lagringen i egefade.

I denne øvelse benyttes enzymerne i gær til at omdanne vanillin til vanillylalkohol. Metoden er principielt som den, der i højere og højere grad benyttes til industriel fremstilling af ofte komplicerede, organiske forbindelser som vitaminer og lægemidler.

Reaktionen følges ved løbende at udtage prøver, der efterfølgende undersøges med tyndtlagschromatografi (TLC). Ved hjælp af chromatogrammet vil man kunne følge den enzymatiske omdannelse af vanillin til vanillylalkohol.

Pas På.

I denne øvelse arbejdes med sundhedsskadelige og brandfarlige stoffer. Derfor skal der hele tiden arbejdes med udsugning. Ved arbejde med diethylether må der ikke benyttes åben ild i rummet. Diethyletherdampe er yderst brandfarlige.

Eksperimentelt:

Øvelsen skal foretages under udsugning. Anbring en 250 mL konisk kolbe med en røremagnet på en magnetomrører. Afvej 0,20 g vanillin og 10 g sucrose og anbring det i kolben. Tilsæt 100 mL håndvarmt vand og rør om et par minutter – indtil al vanillin er opløst. Når vanillinet er helt opløst, tilsættes en pakke tørgær eller frisk gær.

Udtag en prøve (1 mL) af reaktionsblandingen indenfor det første minut efter at gæren er tilsat. Dette er prøven til tiden $t = 0$ min. Lad reaktionsblandingen stå med omrøring, og udtag tilsvarende prøver hvert 10. minut i en time. Alle de udtagne prøver behandles på følgende måde:

Anbring 1 mL af reaktionsblandingen i et lille reagensglas og tilsæt 1 mL diethylether. Bland de to faser grundigt ved hjælp af en pasteurpipette. Fjern derpå forsigtigt diethyletherlaget med en pipette og anbring det i et andet, rent reagensglas. Glasset henstår derpå til alle 7 prøver er udtaget.

Mens reaktionen forløber, forberedes udstyret til chromatografi. Et chromatografikar (eller et stort bægerglas dækket med alufolie) beklædes op ad siderne med filtrerpapir. Bland ethylethanoat og methylbenzen i forholdet 50 / 50 (mængden afhænger af chromatografikarrets størrelse), hæld det ned langs siden i chromatografikarret og læg låg på. Væsken skal stå 0,5 – 1 cm højt i bunden af karret – ikke mere. På en 10 cm bred kiselgelplade tegnes forsigtigt en linje langs den nederste kant – 1,5 cm fra kanten. Markér 9 prikker på linjen, hvor de udtagne prøver og referencer skal placeres: 7 til de udtagne prøver og 2 til referencestofferne vanillin og vanillylalkohol. Der skal bruges blyant når man tegner på kiselgelpladen, og man skal tegne på pladen – ikke ridse i den.

Kom lidt vanillin og lidt vanillylalkohol i hvert sit reagensglas og opløs i 1 mL diethylether. Disse to opløsninger skal bruges til reference på TLC-pladen.

Sæt pletter af de 7 diethyletheropløsninger på TLC-pladen ved hjælp af en mikropipette. På første blyantsprik afsættes en plet af opløsningen fra $t = 0$ min. Afsæt den samme opløsning 15 gange på samme sted på pladen. Lad hver gang pletten tørre før næste portion afsættes. Dernæst afsættes på samme måde en plet fra opløsningen fra $t = 10$ min. osv. Afsæt også pletter af vanillin og vanillylalkohol som reference. Placer herefter TLC-pladen i chromatografikarret.

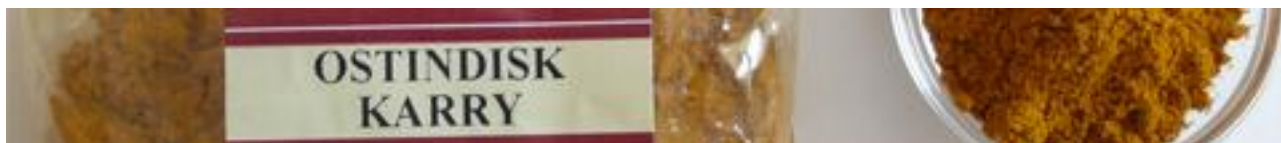
Når væskefronten er nået op i en højde på 1-2 cm fra toppen af TLC-pladen, tages pladen op og lægges til tørre under udsugning. Betragt pladen under UV-lys og marker de pletter, der bliver synlige ved at tegne deres omrids med blyant. Alternativt kan pladen stilles nogle minutter i et stort bægerglas tildækket med alufolie og med nogle få diiodkrystaller på bunden. Herved bliver pletterne synlige.

Opgaver:

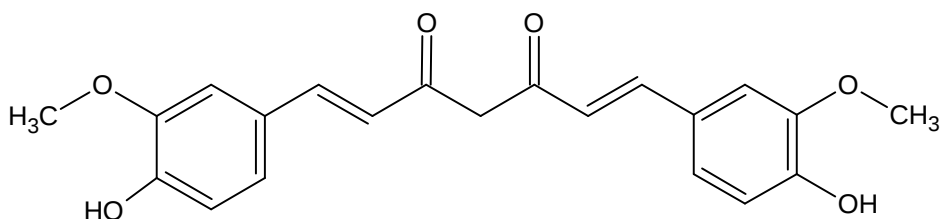
- Markér de funktionelle grupper i strukturerne for vanillin og vanillylalkohol. Konstruer de systematiske navne for stofferne.
- Kiselgelpladen (den stationære fase) er mere polær end løbevæsken (den mobile fase). Hvilket af stofferne vanillin og vanillylalkohol skal man forvente har den største R_F -værdi? Begrund svaret.
- Udmål afstandene på TLC-pladen og beregn R_F -værdier for vanillin og vanillylalkohol. Sammenlign de fundne R_F -værdier med forudsigelserne i foregående spørgsmål.
- Forsøg at vurdere – ud fra pletterernes intensitet – hvor lang tid det har taget at omdanne halvdelen af vanillin til vanillylalkohol ("halveringstiden").
- Hvilken type reaktion er der sket ved omdannelsen af vanillin til vanillylalkohol? Begrund svaret. Hvilket biokemisk reagens er sandsynligvis indgået i denne reaktion?
- Opskriv et reaktionsskema for reaktionen med anvendelse af dette reagens.
- Vanillin kan benyttes som udgangspunkt for dannelse af stofferne zingeron⁴ (det karakteristiske smagsstof i ingefær) og capsaicin (som findes i chili). Find strukturerne for de to stoffer og markér deres ligheder med hinanden og med vanillin.

⁴ I engelsksproget litteratur er der et ekstra "e" i mange navne – f.eks. zingerone

Curcumin



Karry er et blandingskrydderi, der indeholder en lang række enkeltkrydderier. Sammensætningen varierer fra produkt til produkt, men normalt er der som basiskrydderier brugt koriander (*Coriandrum sativum*), bukkehornsfrø (*Trigonella foenumgraecum*), spidskommen (*Cuminum cyminum*) og gurkemeje (*Curcuma longa*). Karrypulverets gule farve skyldes farvestoffet curcumin, der findes i gurkemeje.



Curcumin
1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-hepta-1,6-dien-3,5-dion

De 3 øvelser "TLC af karry og gurkemeje", "Isolering af curcumin" og "Undersøgelse af curcumins syre-baseegenskaber" kan udføres uafhængigt af hinanden.

TLC af karry og gurkemeje

Formål:

Formålet med øvelsen er, at påvise indholdet af curcumin i gurkemeje og karry ved hjælp af tyndtlagschromatografi (TLC).

Apparatur:

2 reagensglas, 2 prøveglas eller små reagensglas, chromatografikar eller stort bægerglas, kiselgelplader til TLC.

Kemikalier:

Karry, gurkemeje, ethanol, propanon, heptan.

Eksperimentelt

Afvej ca. 1g karry og ca. 1 g gurkemeje og kom det i hvert sit reagensglas. Tilsæt 5 mL ethanol til hvert glas og ryst grundigt i nogle minutter. Lad glassene stå lidt, så partiklerne bundfælder sig. Dekantér væsken fra de to reagensglas over i hver sit lille prøveglas. Fremstil mikropipetter ved at udtrække kapillarrør over en bunsenbrænder. Disse skal bruges til at sætte pletter af de to opløsninger på chromatografipladen.

Gør chromatografikarret klar ved at beklæde det indvendigt med filterpapir. Som løbevæske bruges en blanding af heptan og propanon 50/50. Hæld så meget af blandingen i karret, at det står 0,5 - 1 cm op i bunden.

Forbered en chromatografiplade på ca. 5x10 cm. Tegn forsigtigt (med blyant) en linje i en afstand på 1 – 1,5 cm fra den nederste kant på pladen. Afsæt små pletter af henholdsvis karryekstrakt og gurkemejeekstrakt på blyantslinjen. Pletterne skal være mindst 1 cm fra siden af pladen og fra hinanden. Det er nødvendigt at afsætte pletter af ekstrakterne flere gange på samme sted, så der kommer tydeligt farvede pletter.

Anbring chromatografipladen i karret og dæk det med et låg. (Løbevæskens overflade i bunden af karret må ikke nå op til pletterne). Lad pladen stå i karret, indtil væskefronten er nået op i en højde af ca. 1 cm fra toppen af pladen.

Tag chromatogrammet op af karret. Markér med en blyant, hvor væskefronten er nået til og lad derefter pladen tørre et par minutter under udsugning. Tegn med blyant rundt om hver af de pletter der ses på chromatogrammet. Betragt pladen i UV-lys og tegn rundt om hver af de pletter, der nu kommer frem.

Efterbehandling:

Mål afstanden fra startlinjen til væskefronten l_{front} på chromatogrammet.

Mål afstanden fra startlinjen til midten af den gule plet $l_{curcumin}$.

Mål afstanden fra startlinjen til midten af andre tydelige pletter l_{stof} .

Beregn R_f værdien for curcumin og for de evt. andre pletter der er markeret på pladen.

Hvor mange forskellige stoffer kan man påvise på chromatogrammet?

Under de betingelser, der er brugt her i forsøget, er R_f for curcumin ca. 34. Sammenlign med forsøgsresultatet.

Forklar hvorfor curcumin er farvet.

Prøv – ud fra curcumins farve - at forudsige, i hvilken del af det synlige spektrum stoffet absorberer lys.

Kontrollér forudsigelserne ved at slå op i en tabel, søge på Internettet eller ved at optage et spektrum af en opløsning af stoffet.

Isolering af curcumin

Formål:

Formålet med øvelsen er at isolere curcumin fra gurkemejepulver. Indholdet af curcumin i gurkemeje kan være op til 5%. Stoffet er en antioxidant. Det har blandt andet betydning for karrypulvers holdbarhed. Nogle undersøgelser tyder på, at curcumin også har en vis virkning mod nogle cancertyper. I øvelsen isoleres curcumin ved at ekstrahere det fra gurkemejepulver. Ekstraktionen sker med dichlormethan. Alt arbejde med dichlormethan skal ske under udsugning. Curcumin er stærkt farvende, så undgå at få det på hud eller tøj.

Apparatur:

100 mL rundbundet kolbe med slib, svalerør, varmekappe eller oliebad, Büchnertragt, lille Büchner- eller Hirschtragt, sugokolbe, 100 mL bægerglas, kiselgelplader til TLC, chromatografkar.

Kemikalier:

Gurkemejepulver, dichlormethan, heptan, methanol.

Eksperimentelt:

Afvej ca. 5g gurkemejepulver med en nøjagtighed på 0,001g. Notér massen. Overfør pulveret til en 100 mL rundbundet kolbe og tilsæt 30 mL dichlormethan. Anbring kolben i en varmekappe og forsyn den med et svalerør. Kog indholdet under tilbagesvaling i ca. 1 time.

Lad kolben afkøle og filtrér indholdet ved sugning. Inddamp filtratet på et vandbad (50 °C) eller en rotationsfordamper indtil der er en rød-gul olie tilbage. Tilsæt 5 mL heptan og bland så godt som muligt. Filtrér blandingen ved sugfiltrering på en lille Büchner- eller Hirschtragt. Bundfaldet udgør råudbyttet af curcumin.

Foretag en TLC-undersøgelse af det isolerede curcumin (som beskrevet ovenfor). Løbevæsken skal være methanol/dichlormethan 3/97.

Oprensning af rå-curcumin kan foretages ved chromatografi. En chromatografisøjle forberedes som beskrevet i øvelsen "Plantepigmenter – chromatografi". Løbevæsken skal i dette tilfælde være methanol/dichlormethan 1/99. Opløs rå-curcumin i 1 mL af løbevæsken og placér det på søjlen. Eluér derpå med løbevæske og opsaml det kraftigt farvede bånd i et reagensglas. Ikke-farvet væske opsamles i et glas og smides væk bagefter.

Den opsamlede curcuminopløsning inddampes på et vandbad eller en rotationsfordamper. Husk først at veje kolben, der benyttes til inddampning. Curcumin fremkommer som et fast, gult stof. Vej kolben og beregn massen af curcumin.

Opløs lidt curcumin i ethanol og optag et spektrum af opløsningen.

Efterbehandling:

Beregn råudbyttet af curcumin i forhold til det anvendte gurkemejepulver.

Beregn udbyttet af rent curcumin i forhold til både gurkemejepulver og rå-curcumin.

Kommentér resultatet af TLC-undersøgelsen af rå-curcumin.

Er der tegn på andre farvede stoffer i rå-curcuminet?

λ_{max} for curcumin er 427 nm – sammenlign med det optagne spektrum.

$\varepsilon_{427} = 56,700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ Beregn koncentrationen af curcumin i den opløsning, der er brugt til at optage spektret.

Undersøgelse af curcumins syre-baseegenskaber.

En opløsning af curcumin skifter farve afhængigt af pH i opløsningen. Det har derfor tidligere været brugt til at fremstille indikatorpapir – curcumapapir. I Salmonsens leksikon 1915 – 1930 står der (om baser): "*...deres Opløsninger farver det røde Lakmuspapir blåt og det gule Curcumapapir brunt....*"

I denne øvelse skal omslagsområdet for curcumin bestemmes ved en potentiometrisk titrering af dihydrogenphosphat

Apparatur:

Reagensglas, 100 mL bægerglas, pH-meter med elektrode, stativ, burette med klemme, magnetomrører, røremagnet.

Kemikalier:

Gurkemejepulver, ethanol, 0,020 M NaH_2PO_4 , 0,10 M natriumhydroxid NaOH.

Eksperimentelt:

Hæld 1g gurkemejepulver i et reagensglas. Tilsæt 4 – 5 mL ethanol og ryst indtil ethanolen er kraftigt gulfarvet. Hæld 25 mL 0,020 M NaH_2PO_4 i et 100 mL bægerglas. Forsyn glasset med en røremagnet og stil det på en magnetomrører. Fyld en burette med 0,10 M NaOH og spænd den op over bægerglasset. Spænd en kalibreret pH-elektrode op, så glasbeholderen i spidsen er dækket af væsken i bægerglasset (men så den ikke rammes af røremagneten). Tilsæt 0,5 mL af ethanolekstraktet uden at få noget af bundfaldet med.

Aflæs opløsningens pH-værdi og notér denne sammen med en angivelse af opløsningens farve og udseende. Tilsæt NaOH-opløsningen fra buretten 0,5 mL ad gangen og notér efter hver tilsætning opløsningens pH, farve og udseende. Fortsæt på denne måde indtil pH-værdien er over 11.

Efterbehandling:

Lav en grafisk afbildning af pH vs. mL NaOH.

Marker de områder på grafen, hvor curcumins farve er konstant.

Vurdér omslagsområdet for curcumin ud fra grafen.

Hvad viser forsøget om curcumins opløselighed i henholdsvis sure og basiske opløsninger?

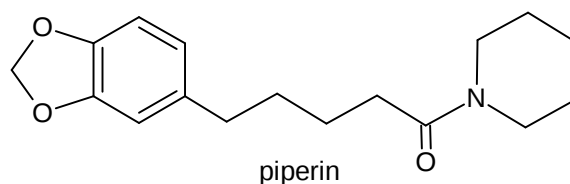
Kommentér dette.

Begrund – ud fra curcumins formel – at stoffet har forskellig farve i sur og i basisk opløsning.

Isolering af piperin fra peber



Piperin findes bl.a. i de umodne frugter (sort peber) af *Piper nigrum*. Den væsentligste del af duften og smagen af peber skyldes dette alkaloid. Indholdet af piperin i sort peber er normalt mellem 6 og 9 %



Formålet med øvelsen er at isolere piperin fra sort peber ved ekstraktion. Det ekstraherede piperin udfældes ved gradvist at ændre polariteten af opløsningen. Til slut kontrolleres produktets renhed ved TLC og bestemmelse af smeltepunktet.

Apparatur:

Morter med pistil, soxlet-apparat med ekstraktionshylse, 250 mL rundbundet kolbe, svalerør, varmekappe, Büchnertragt, sugekolbe, rotationsfordamper, 100 mL konisk koble, kiselgelplade til chromatografi, chromatografikar.

Kemikalier:

Sort peber, 96% ethanol $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, kaliumhydroxid $\text{KOH}(s)$, propanon/ heptan eller propan-2-ol til chromatografi.

Fremgangsmåde:

Knus 15 g sort peber i en morter, placer det i en ekstraktionshylse og anbring det i et soxlet-apparat. Hæld 150 mL 96% ethanol i en 250 mL rundbundet kolbe. Tilsæt ca. 5 pimpsten. Placer kolben i en varmekappe og saml ekstraktionsopstillingen. Lad derpå opstillingen stå med tilbagesvaling og ekstrahér i 2 timer.

Derefter filtreres opløsningen ved sugning og filtratet inddampes til et volumen på 10 – 15 mL på rotationsfordamper. (Vandbadet kan passende have en temperatur på 60 °C).

Fremstil 10 mL 10% KOH i 96% ethanol. Denne opløsning hældes i det inddampede peberekstrakt. Efter et lille stykke tid dekanteres opløsningen over i en 100 mL konisk kolbe for at slippe af med evt. uopløselige stoffer.

Varm opløsningen op og tilsæt derpå vand dråbevis. Der dannes et gult bundfald. Bliv ved med at tilsætte vand til der ikke længere kommer nyt bundfald. Lad herefter blandingen stå i mindst 24 timer. Herved udfældes piperin.

Det udvundne piperin filtreres fra ved sugning, tørres og rå-udbyttet bestemmes.

En lille smule tages fra til TLC og resten omkrystalliseres fra varm propanon:heptan 3:2 eller propan-2-ol.

Vej det omkrystalliserede piperin.

Foretag en TLC-analyse af rå-ekstraktet og det omkrystalliserede piperin. Passende løbevæsker angives i litteraturen at kunne være benzen:ethylethanoat 2:1 ($R_f = 25$) eller propanon:hexan 3:2.

Bestem smeltepunktet. (tabelværdi: 125 – 126 °C)

Efterbehandling:

Beregn udbyttet af piperin – dels på grundlag af den anvendte mængde peber – dels på grundlag af rå-udbyttet.

Sammenlign smeltepunktet for det isolerede piperin med tabelværdien.

Forklar den metode der benyttes til at udkrystallisere piperin fra opløsningen af 10% KOH i ethanol.

Forklar principperne for omkrystallisering.

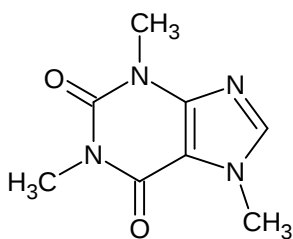
UV-spektrum (i ethanol): $\lambda_{\max} = 345 \text{ nm}$ ($\log \varepsilon = 4,47$)

Ekstraktion af koffein fra te

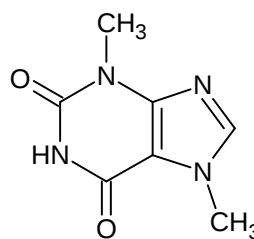


Formålet med øvelsen er at ekstrahere koffein fra te. Metoden er typisk for isolering af forbindelser fra naturprodukter. Der anvendes almindelige laboratorietechnikker som destillation, ekstraktion og filtrering.

Coffein er et af de mest anvendte naturprodukter. Det bruges som stimulerende middel specielt i form af kaffe- eller tedrikning. Coffein, som findes i både kaffe og te, er et alkaloid⁵. I kaffebønner er der typisk 1 -2 % koffein og i teblade 2 -3 %. Te indeholder også det nært beslægtede stof theobromin, som også er stimulerende. Cacaobønner indeholder også koffein, men kun meget lidt. Til gengæld indeholder de en del theobromin.



coffein



theobromin

Alkaloider er komplekst byggede aminer, der dannes i planter. Navnet betyder "baselignende" og skyldes aminogrupper basevirkning. Mange alkaloider har fysiologisk virkning f.eks. nicotin, morfin, quinin, cocain og atropin. Te kom til Europa fra Kina omkring midten af det 17. århundrede. Den te, der kan købes i butikkerne i dag, er normalt dyrket i Kina, Japan og Indien. Ud over koffein indeholder teblade også omkring 10% vand, 11% tanniner ("garvesyre"), 6 % uorganiske stoffer, 32% opløselige, organiske stoffer og 30 – 60% plantefibre.

Kemikalier:

Te, dichlormethan CH_2Cl_2 , methylbenzen $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}_3$, heptan C_7H_{16} , demineraliseret vand H_2O , vandfri natriumsulfat Na_2SO_4 .

Apparatur:

Svalerør, rundbundet kolbe 250 mL, 2 bægerglas (600 mL, 250 mL), 3 koniske kolber (250 mL, 100 mL, 50 mL), måleglas 10 og 100 mL, skilletragt 500 mL, varmeplade, varmekappe (eller vandbad), glasspatel, tragt, lille Büchnertragt eller Hirschtragt, sugekolbe, sugepumpe, urglas.

⁵ "Alkaloider" er betegnelse for en række nitrogenholdige forbindelser, der dannes i visse planter.

Pas På.

Indånd ikke dampe af de organiske opløsningsmidler. Heptan er brandfarligt.

Alt arbejde med dichlormethan skal forgå under udsugning.

Eksperimentelt:

Afvej ca. 20g teblade –notér den nøjagtige masse. Hæld tebladene i et 600 mL bægerglas og tilsæt 250 mL demineraliseret vand. Sæt bægerglasset på en varmeplade og varm op til kogepunktet under omrøring. Skru ned for varmen og lad det simre i 10-15 minutter under låg (f.eks. alufolie). Varm ikke for voldsomt. Mens teen brygges slås kogepunktet for dichlormethan, methylbenzen og heptan op i en tabel .

Fjern bægerglasset fra varmen og lad det afkøle. Bægerglasset kan stilles i koldt vand, så det køler hurtigere ned.

Filtrér blandingen ned i en 250mL konisk kolbe. Hæld 20 mL demineraliseret vand på tebladene og pres så meget væske ud af dem som muligt. Hæld denne udpressede væske i den samme 250 mL koniske kolbe. Sæt kolben i isbad så blandingens temperatur bliver under stuetemperatur. Tebladene kan nu smides ud.

Ekstraktion

Overfør teen til en skilletragt og tilsæt 30 mL dichlormethan. Sæt prop i skilletragten og vend bunden i vejret på den gentagne gange i 3 minutter. Meningen er, at faserne i skilletragten skal blandes så meget som muligt – men ryst ikke for voldsomt. Hvis man ryster for kraftigt, dannes en emulsion, så det kan være svært at få faserne til at skille igen. Man skal holde på proppen, mens man vender skilletragten. Luk hanen op nu og da, så evt. overtryk udlignes.

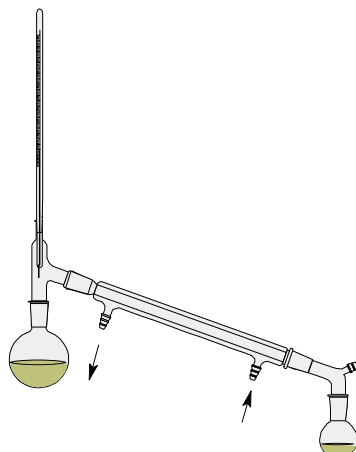
Hæng skilletragten op i et stativ og vent til faserne er skilt. Tap dichlormethanfasen af i et rent og tørt 250 mL bægerglas. Tilsæt yderligere 20 mL dichlormethan til skilletragten og vend den igen i 3 -4 minutter, så faserne blandes grundigt. Lad lagene skille og tap dichlormethanlaget ned i samme bægerglas som sidst. Gentag ekstraktionen med yderligere 15 mL dichlormethan. Tap også dette dichlormethan ned i bægerglasset.

Tørring

Tilsæt 15 – 20 g vandfri natriumsulfat til bægeret med dichlormethan. Dette binder vand og tørrer således dichlormethanfasen. Sving eller omrør opløsningen forsigtigt rundt i 5 – 10 minutter. Hvis væsken herefter er uklar, hældes den over i et nyt bægerglas og tørres med endnu en portion natriumsulfat. Dekantér opløsningen over i en 250 mL rundbundet kolbe.

Destillation

Anbring et par pimpsten i kolben. Saml destillationsopstillingen. Brug en 100 mL konisk kolbe, der er dyppet i isvand, til at opsamle destillatet i. Varm forsigtigt op med varmekappe og kog dichlormethanen af. Når hovedparten af opløsningsmidlet er kogt væk vil coffeinet begynde at udkrystallisere. Stop opvarmningen så snart det sidste væske er forsvundet fra kolben. På dette tidspunkt er coffeinet sædvanligvis 90% rent – et cremefarvet eller gulligt, fast stof.



Destillationsopstilling. Til denne destillation kan termometeret undværes og forlaget er erstattet med en 100 mL konisk kolbe, der afkøles i isbad.

Omkrystallisering

Hæld 5 mL methylbenzen og 5 mL heptan i den rundbundede kolbe. Varm væsken lidt op, så coffeinet opløses. Hvis denne første portion ikke er tilstrækkelig til at opløse coffeinet, kan det være nødvendigt at tilsætte yderligere 2 -3 mL af hvert opløsningsmiddel. Sving kolben lidt rundt under opvarmning. Stop opvarmningen så snart alle krystaller er opløst. Hæld hurtigt methylbenzen-heptan blandingen fra den rundbundede kolbe over i et 50 mL bægerglas. Få så meget som muligt af stoffet med over i bægerglasset. Brug eventuelt lidt(!) heptan til overførslen. Lad coffeinet krystallisere mens opløsningen køler af. Der dannes et hvidt, krystallinsk, fast stof, som normalt er 96 – 98% rent. Køl evt. kortvarigt glasset i isvand for at øge krystallisationen.

Filtrering

Filtrér krystallerne fra blandingen i en lille Hirsch- eller Büchnertragt ved sugning. Lad suget sidde på indtil krystallerne er tørre. Mens krystallerne tørrer vejes et rent urglas. Skrab de tørre krystaller over på urglasset og vej produktet.

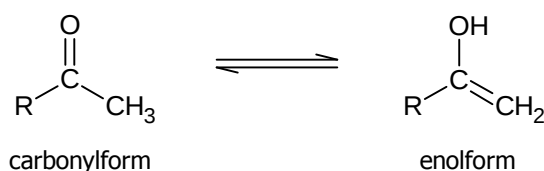
Spørgsmål:

- Bestem massen af det isolerede coffein.
- Beregn udbyttet i forhold til massen af teblade.
- Antag at coffein udgør 3% af tebladenes masse. Beregn det procentvise udbytte af coffein i jeres forsøg.
- Hvad er den mest sandsynlige forurening af produktet?
- Hvorfor er det svært at fjerne dette stof?
- Coffeinet er i denne øvelse renses ved omkrystallisering. Hvad er princippet i denne metode?
- Coffein kan også renses ved sublimation. Hvad betyder det?
- Hvorfor er det vigtigt at afkøle tevandets før tilsætning af dichlormethan?
- Antag at man har 5,00g coffein og 5,00g theobromin. I hvilken af de to portioner er der flest molekyler?

Syntese af kanelaldehyd

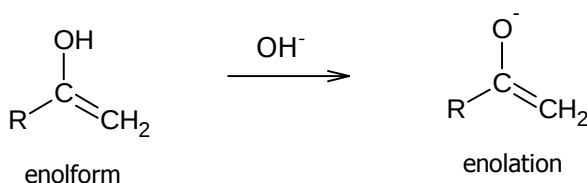


Kanelaldehyd er den forbindelse, som giver kanel den karakteristiske duft. I øvelsen fremstilles kanelaldehyd ud fra benzaldehyd ("mandelessens") og ethanal (acetaldehyd). Reaktionen kaldes en aldolkondensation, og den benyttes ofte til at danne en C-C binding mellem to aldehyder. De fleste oxoforbindelser (aldehyder og ketoner) findes i to former, som er i ligevægt med hinanden. Den ene form er den, man normalt angiver. Den har en *carbonylgruppe* – med en dobbeltbinding mellem C og O. Den anden er en *enol* – en forbindelse, som har en hydroxygruppe siddende direkte på en dobbeltbinding. Enolformen er normalt meget mindre stabil end carbonylformen.



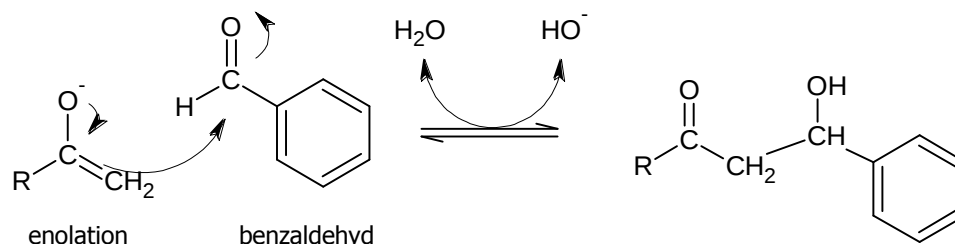
Ligevægten mellem carbonylformen og enolformen katalyseres begge veje af H^+ . Tilsætning af base katalyserer kun reaktionen mod højre. I denne øvelse er $\text{R} = \text{H}$ – dvs. carbonylforbindelsen er ethanal.

I basisk opløsning omdannes enolformen til en enolation. Den negative ladning på enolationen gør, at også CH_2 -carbonatomet får en lille negativ ladning.



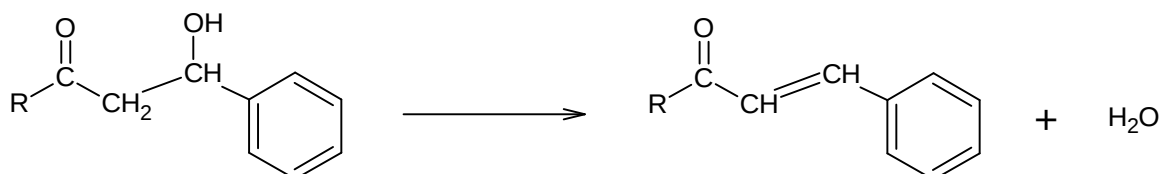
Enolformen fraspalter en hydron ved reaktion med base. Herved dannes en enolation.

På grund af den negative ladning på CH_2 – carbonatomet, kan dette danne binding til et carbonatom med en lille positiv ladning. Et sådant C-atom kan for eksempel være C-atomet i en anden carbonylgruppe.



Enolationen reagerer med C-atomet i en carbonylgruppe – her i øvelsen benzaldehyd. Samtidigt optages en hydron fra opløsningsmidlet. Herved gendannes carbonylgruppe på den oprindelige forbindelse (ethanal) og der dannes en hydroxygruppe i stedet for carbonylgruppen på benzaldehyd.

Til slut sker en elimination af vand, så der dannes en dobbeltbinding. Herved er slutproduktet kanelaldehyd dannet.



Ved elimination af vand dannes en dobbeltbinding. I denne øvelse er $R = H$, så det dannede produkt er kanelaldehyd.

Efter kondensationen undersøges reaktionsblandingen ved hjælp af tyndtlagschromatografi.

Apparatur:

250 mL kolbe med prop, 2 stk 100 mL konisk kolbe, magnetomrører, røremagnet, skilletragt, mikropipetter (udtrukne kapillarrør), chromatografikar, kiselgelplade.

Kemikalier:

Benzaldehyd C_6H_5CHO , ethanal CH_3CHO , kanelaldehyd $C_6H_5CHCHCHO$, 10% $NaOH(aq)$, diethylether $(C_2H_5)_2O$, vandfri natriumsulfat Na_2SO_4 , løbevæske heptan/ethylethanoat 20:5.

Eksperimentelt:

Alt arbejde med diethylether skal ske under effektiv udsugning. Der må ikke benyttes åben ild i lokaler, hvor der arbejdes med diethylether.

Placer en 250 mL kolbe på en magnetomrører og forsyn den med en røremagnet. Tilsæt 10 mL benzaldehyd og 150 mL demineraliseret vand. Start omrøringen og tilsæt 10 mL 10% $NaOH(aq)$ og til sidst 5 mL ethanal. Lad kolben henstå ved stuetemperatur med omrøring i mindst et døgn – men gerne flere.

Hæld reaktionsblandingen i en skilletragt og udryst med 3x25 mL diethylether. Husk at holde på proppen og at åbne hanen på skilletragten med jævne mellemrum for at udligne overtryk. De tre diethyletherekstrakter samles i en 100 mL konisk kolbe. Tilsæt vandfri natriumsulfat for at tørre ekstraktet.

Forbered et chromatografikar ved at beklæde det indvendigt med filterpapir. Bland en passende mængde løbevæske – heptan/ethylethanoat 20:5 og hæld det i chromatografikarret. Løbevæsken må ikke stå højere end ca. 0,5 cm i bunden af karret. Fremstil to referenceopløsningen ved at opløse en dråbe benzaldehyd og en dråbe kanelaldehyd i 2 mL diethylether i hvert sit lille prøveglas. Fremstil i forvejen mikropipetter ved at udtrække kapillarrør over en bunsenbrænder. **Der må ikke arbejdes med åben ild i et lokale, hvor der arbejdes med diethylether!**

Dekantér eller filtrer diethyletherekstraktet over i en ren 100 mL kolbe. Klip en kiselgelplade på ca. 5 x 10 cm. Tegn med blyant en streg ca. 1,5 cm fra bunden af pladen. Brug en mikropipette til at påsætte en plet med diethyletherekstraktet midt på blyantsstregen. Afsæt pletter af opløsningen flere gange efter hinanden på samme sted. Afsæt pletter med referenceopløsningerne af henholdsvis benzaldehyd og kanelaldehyd i en afstand på ca. 1 cm på hver sin side af diethyletherekstraktet fra reaktionsblandingen. Lad pladen ligge kort tid under udsugning indtil diethyletheren er dampet af. Sæt derefter pladen ned i chromatografikarret. Lad løbevæsken trække op ad pladen til den er ca. 1,5 cm fra toppen. Tag herefter pladen op, markér væskefronten med blyant og lad løbevæsken dampe af under udsugning. Betragt derpå pladen i UV-lys og markér de pletter, der er på den ved at tegne rundt om dem.

Efterbehandling:

- Opskriv reaktionsskemaet for reaktionen.
- Begrund at aldolkondensationen i sig selv ikke kan betragtes som en egentlig kondensation.
- Forklar hvilken rolle natriumhydroxid har i reaktionen.
- Vurdér – ud fra chromatogrammet – om reaktionen har været fuldstændig.
- Hvis det er muligt, så prøv at vurdere ud fra chromatogrammet, hvor stort et udbytte af kanelaldehyd, der er dannet ved reaktionen.
- I nogle beskrivelser af fremgangsmåden for denne reaktion angives det, at ethanal helst skal tilsættes lidt efter lidt. Hvad kan grunden være til det?
- Antag at udbyttet af kanelaldehyd har været 4,7g. Beregn hvad det procentvise udbytte i så fald har været.
- Foreslå en (eller flere) metoder til, hvordan man kunne isolere ren kanelaldehyd fra ekstraktet af reaktionsblandingen.

Syntese af kanelisyre

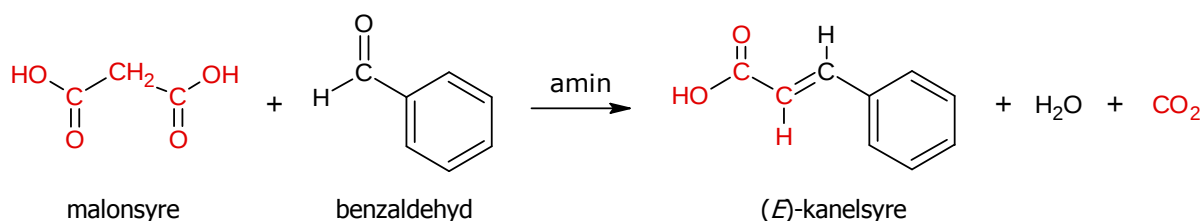


Formål:

Formålet med øvelsen er at fremstille kanelisyre ved en kondensationsreaktion. Ved reaktionen kondenseres enten en aldehyd R-CHO med en forbindelse, hvor en CH₂- gruppe sidder mellem to carbonatomer, der har dobbeltbinding til oxygen. Altså forbindelser af typen Z-CH₂-Z' eller Z-CHR-Z', hvor grupperne Z og Z' er -COOH, -COOR, -CHO, -COR eller lignende. Hydrogenatomerne i methylengruppen -CH₂- vil relativt nemt kunne fraspaltes i form af H⁺ ved hjælp af en base. Ved reaktionen, som kaldes Knoevenagel kondensation, bruges en amin som både opløsningsmiddel og katalysator. Efter kondensationen sker en elimination af vand, samtidigt med at der dannes en dobbeltbinding. Hvis både Z og Z' er COOH (som det er til fældet her i øvelsen) finder der samtidigt en CO₂-fraspaltning sted.

I denne øvelse kondenseres malonsyre HOOC-CH₂-COOH med benzaldehyd C₆H₅CHO. Som katalysator og opløsningsmiddel benyttes triethylamin. Desuden bruges den sekundære amin morpholin som co-katalysator.

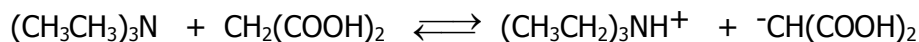
Bruttoreaktionen er



Ved kondensation mellem malonsyre og benzaldehyd dannes kanelisyre.
Ved reaktionen fraspaltes vand og carbondioxid.

Mekanisme

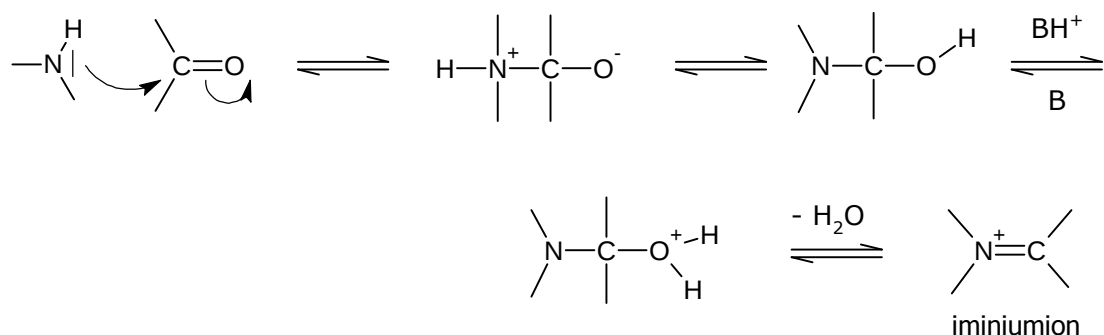
Triethylamin reagerer i en syre-basereaktion med H⁺ fra det midterste carbonatom i malonsyre (propandisyre):



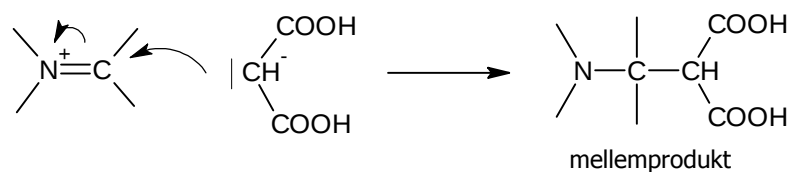
Triethylamin optager en hydron fra malonsyre. Herved dannes en positiv ammoniumion og en negativ carbanion.

Hvis der ikke er nogen co-katalysator tilstede, reagerer carbanionen direkte med oxoforbindelsen (benzaldehyd) og danner produktet. Denne reaktion er imidlertid ret langsom. Reaktionshastigheden kan øges ved anvendelse af en sekundær amin, som selv i ringe mængde virker som co-katalysator. Dette beror på, at sekundære aminer reagerer med carbonylforbindelser, hvorved der dannes en iminium-kation, som reagerer hurtigere med anionen $^-\text{CH}(\text{COOH})_2$ end carbonylforbindelsen selv.

Dannelse af iminiumionen:

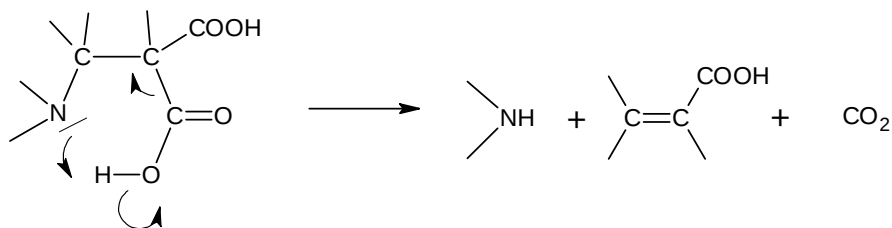


Reaktion mellem carbanion og iminiumion:



Ved reaktion mellem carbanionen og iminiumionen dannes et mellemprodukt, som af sig selv omdannes til det endelige produkt.

Det dannede mellemprodukt henfalder til co-katalysator og alken. Samtidigt fraspaltes CO_2 :



Ved at betragte CO₂ -udviklingen kan reaktionsforløbet følges.

Kemikalier:

Malonsyre, benzaldehyd, triethylamin, morpholin, 2 M HCl

Apparatur:

Oliebad (glasskål med paraffinolie eller lignende), magnetomrører med varme og mulighed for termostatsstyring, termometer til styring af oliebadets temperatur, 100 mL rundbundet kolbe med slib, svalerør, studs med slib til at montere en gummislange på toppen af svalerøret, vaskeflaske, 50 mL bægerglas, 300 mL bægerglas

Eksperimentelt:

Forbered et oliebad bestående af en skål med paraffinolie eller lignende med røremagnet, som står på en magnetomrører med mulighed for opvarmning. Forsyn oliebadet med badtermometer og lad det varme op til 100 – 110 °C. Afvej 2,0 g malonsyre, 1,7 – 1,8 g benzaldehyd, 2,5 – 3,0 g triethylamin og 0,70 – 0,75 g morpholin i en 100 mL rundbundet kolbe. Notér de eksakte mængder og tilsæt en røremagnet.

Spænd kolben fast i et stativ over oliebadet uden at sænke den ned i det. Forsyn kolben med svalerør. Sæt en slange på svalerørets top og forbind slangens anden ende med en vaskeflaske med lidt vand. Ved hjælp af denne vaskeflaske kan udviklingen af CO₂ følges.

Tænd for kølevandet og sænk kolben ned i oliebadet, så reaktionsblandingen opvarmes. Ved badtemperaturen på 100 – 110 °C koger triethylamin og blandingen bliver homogen. Under reaktionen udvikles CO₂.

Kolben står nu med omrøring ved konstant temperatur. Ca. hver 5 - 15 min tælles det antal CO₂-bobler, der dannes pr. minut. Er antallet af bobler pr. minut sunket til under 10, afslutter man kogningen under tilbagesvaling. Det varer normalt 60 -120 min.

Fjern **først** bobletælleren og hæv **derpå** kolben op af oliebadet og fjern svalerøret.

Opstillingen ombygges til en destillationsopstilling med vandkøling, termometer og forlag. Derpå sænkes kolben igen ned i oliebadet. Badtemperaturen øges til 125 - 135 °C og destillatet opsamles i et 50 mL bægerglas. Destillationen fortsættes til der ikke længere destillerer noget over. Man får 2 - 3 mL amin-vand

blanding i 2 faser. Under destillationen bringer man et bægerglas med ca. 200 mL demineraliseret vand til kogning.

Hæv apparaturet ud af badet. Fjern oliebad, forlag og svalerør og hæld 30 - 40 mL kogende vand ned til det gullige, olieagtige råprodukt i kolben, som nu bør opløses. Denne opløsning hældes man i bægerglasset med den resterende mængde kogende vand. Hvis der ved kogningen forbliver uopløste brune olie-produkter, som svømmer ovenpå, fjernes disse ved hurtig filtrering. Opløsningen, som nu ikke må indeholde noget bundfald, tilføres 15 - 20 mL 2 M HCl og stilles i et isbad indtil det har en temperatur på ca. 5 °C.

Filtrér den udkrystalliserede kanelsyre fra (opløselighed ved 20 °C 0.05 g/100 mL). Sug stoffet godt tørt, placér det i en tareret beholder og lad det ligge til tørre yderligere i endnu mindst 24 timer.

Bestem udbyttet i gram og i procent af det teoretisk mulige samt smeltepunktet af det tørrede produkt.

Produktet kan evt. omkrystalliseres fra vand.

Indigo



Syntese

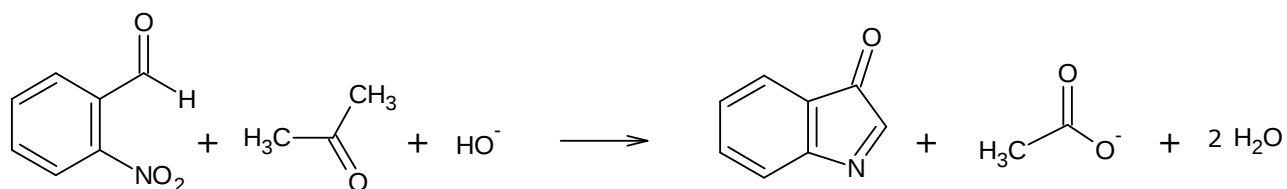
Indigo er den blå farve, der kendes fra de oprindelige "Blue Jeans". Farvestoffet er blevet brugt til farvning af tekstiler i mange århundreder. Oprindeligt blev det isoleret fra planter af slægten Indigo, især *Indigofera tinctoria*, der vokser i Asien. I Europa dyrkede man planten vajd (*Isatis tinctoria*), som indeholder et lignende farvestof, der kan bruges til blåfarvning. Indigo har før i tiden spillet en stor økonomisk rolle, fordi der findes meget få naturligt forekommende blå farvestoffer. Men i slutningen af 1800-tallet fandt Adolf von Bayer en metode til at fremstille indigo syntetisk. Derved blev det blå farvestof lettere tilgængeligt. Nu til dags fremstilles stort set al indigo syntetisk. I 2002 blev der produceret 17.000 tons syntetisk indigo. Der er flere metoder til industriel fremstilling af indigo. Den fremgangsmåde som bruges i øvelsen, er Bayers oprindelige. Den er imidlertid ikke industrielt rentabel.

Formål:

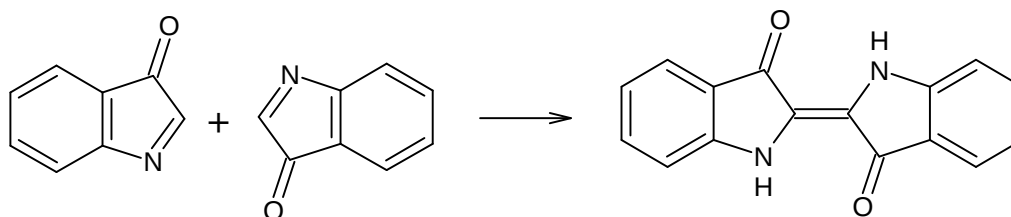
Formålet med øvelsen er at fremstille indigo, at beregne det procentvise udbytte ved syntesen samt at illustrere principperne for farvning af tekstiler med indigo.

Teori:

2-nitrobenzaldehyd reagerer med propanon ved en kondensationsreaktion. Herved dannes 3-oxoindol, ethanoat og 2 molekyler vand:



To molekyler 3-oxoindol reagerer dernæst og danner indigo ved en dimerisering:



Kemikalier:

2-nitrobenzaldehyd, propanon, 1 M NaOH

Apparatur:

50 mL bægerglas, magnetomrører med røremagnet, Büchner- eller Hirschtagt, sugekolbe.

Fremgangsmåde:

Vej et rent og tørt 50 mL bægerglas. Aflæs massen med 3 decimaler. Afvej ca. 0,5 g 2-nitrobenzaldehyd i bægerglasset. Aflæs vægten med 3 decimaler. Tilsæt 5 mL propanon og en røremagnet. Placér glasset på en magnetomrører og rør om indtil al 2-nitrobenzaldehyd er opløst. Tilsæt 5 mL demineraliseret vand og fortsæt omrøringen, så indholdet i bægerglasset bliver godt blandet. Tilsæt dråbevist 2,5 mL 1 M NaOH til opløsningen og lad den stå i yderligere 10 minutter med omrøring. Der er nu kommet et bundfald af indigo. Det udfældede indigo filtreres fra ved sugefiltrering på en lille Büchner- eller Hirschtagt. Filtrerpapiret skal være fugtet i forvejen og indigoblandingen skal hældes ned midt i filteret. Vask til slut bundfaldet med en smule ethanol. Lad udbyttet tørre ved stuetemperatur. Når det dannede indigo er tørt, vejes det.

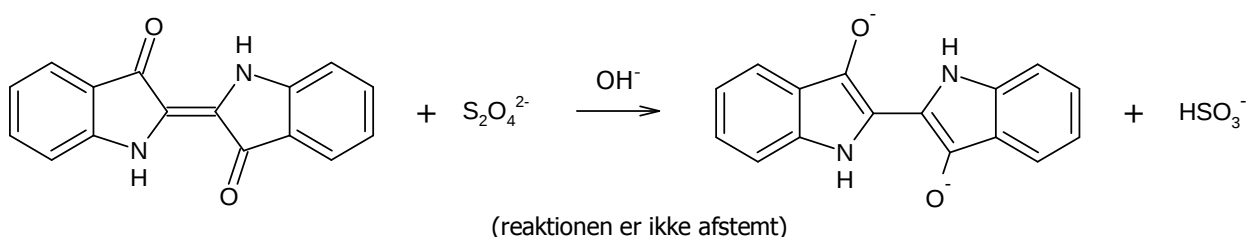
Efterbehandling:

- Beregn stofmængden af reaktanterne.
- Hvilken er den begrænsende reaktant?
- Beregn stofmængden af det dannede indigo.
- Beregn det procentvise udbytte af indigo.
- Indigo benyttes også til farvning af fødevarer. Hvilket E-nummer har indigo? I hvilke fødevarer må det benyttes?
- Argumentér for, at det første trin i syntesen kan betegnes som en kondensation.

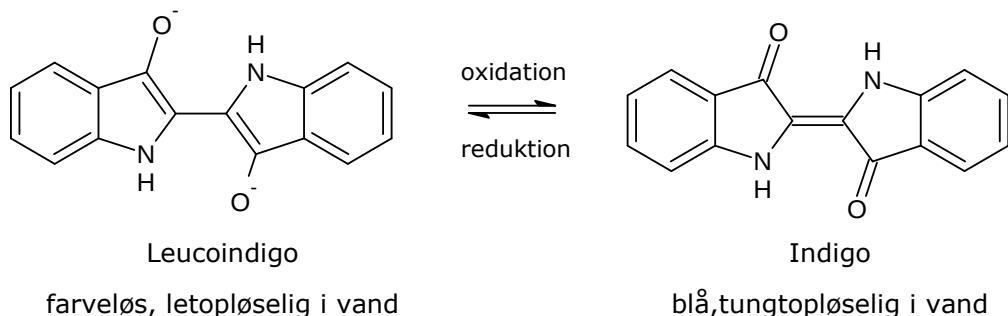
Farvning med indigo



Indigo er meget tungopløseligt i vand. Når man skal farve tekstiler med indigo, omdannes stoffet derfor først til det vandopløselige leucoindigo:



Reaktionen er en redoxreaktion der foregår i basisk opløsning. Tekstilstykket dyppes i opløsningen af leucoindigo og hænges efterfølgende til tørre. Under tørringen vil leucoindigo reagere med dioxygen fra luften, hvorved indigo gendannes og tøjstykket vil blive farvet blå.



Farvenuancen vil afhænge af flere faktorer, herunder hvilket materiale tekstilstykket består af.

Kemikalier:

Indigo, natriumdithionit, 1M NaOH, et stykke bomuld eller andet tekstil (ikke kunststof).

Apparatur:

50 mL bægerglas, glasspatel

Fremgangsmåde:

Afvej 0,1 g indigo og bland det med 0,15 g natriumdithionit i et 50 mL bægerglas. Brug en glasspatel til at blande stofferne. Tilsæt 10 mL 0,1 M NaOH og en kogesten. Varm blandingen på vandbad. Når opløsningen er blevet farveløs eller svagt gullig, dyppes stofstykket i opløsningen. Tag stoffet op så snart det er mættet med opløsningen, skyl det i koldt vand og dup det tørt med et stykke køkkenrulle. Lad stoffet lufttørre og iagttag resultatet.

Efterbehandling:

- Afstem reaktionsskemaet for reaktionen mellem indigo og dithionit.
- Begrund at der ved omdannelsen af leucoindigo til indigo er tale om en oxidation.
- Reaktionsblandingen bliver til tider ikke farveløs/gullig, men grønlig. Hvad kan forklaringen være på det?
- Hvad vil der ske, hvis man spilder lidt dithionitopløsning på sine blå jeans? Hvad kan man gøre for at afhjælpe dette?

Syntese af methylsalicylat



Methylsalicylat, som har en karakteristisk, sødlig, mynteagtig duft, er hovedbestanddelen i æterisk vintergrønolie – den æteriske olie fra *Gaultheria procumbens*). Stoffet virker irriterende på slimhinder og hud. Den sidstnævnte egenskab er baggrunden for, at man ofte bruger methylsalicylat i varmende massageolier, idet den irriterende virkning medfører øget blodgennemstrømning i huden.

Kemikalier:

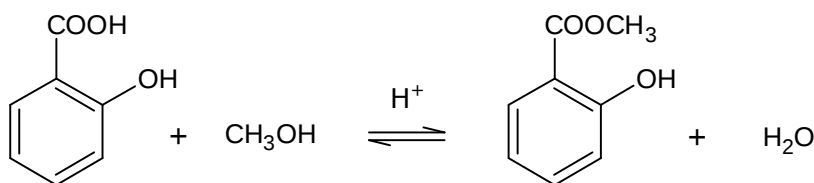
Salicylsyre $C_7H_6O_2$, methanol CH_3OH , koncentreret svovlsyre H_2SO_4 , methylsalicylat $C_7H_8O_2$, methylenchlorid CH_2Cl_2 , 5% natriumhydrogencarbonat $NaHCO_3(aq)$, vandfri natriumsulfat Na_2SO_4

Apparatur:

2 rundbundede kolber 50 mL, svalerør, kiselgelplader til TLC, chromatografikar eller stort bægerglas tildækket med alufolie, 125 mL skilletragt, 50 mL bægerglas

Teori:

Methylsalicylat er en ester. Den kan fremstilles ved en kondensation mellem salicylsyre og methanol. Koncentreret svovlsyre benyttes som katalysator.



Der tages prøver af reaktionsblandingen, som bruges til TLC, så man kan følge omdannelsen af salicylsyre til methylsalicylat. Esteren isoleres til slut ved ekstraktion fra reaktionsblandingen med dichlormethan.

Pas på. Både methylenchlorid og methanol er giftige. Stofferne er farlige ved indånding og kan optages gennem huden. Arbejd med god udsugning.

Fremgangsmåde:

Anbring 4,7 g salicylsyre i en 50 mL rundbundet kolbe sammen med en røremagnet. Tilsæt 15 mL methanol og lad blandingen stå under omrøring til bundfaldet er opløst. Tilsæt (stadig under omrøring) dråbevis 5 mL koncentreret svovlsyre. Der kan dannes et hvidt bundfald på dette tidspunkt, men det vil opløses når kolben senere opvarmes. Til sæt et par kogesten, forsyn kolben med et svalerør og anbring den i en varmekappe eller et oliebad. Lad blandingen koge svagt under tilbagesvaling i en time – helst med omrøring. Opløsningen kan få et mælket udseende.

Under kogningen følges reaktionen med chromatografi. Hæld så meget methylenchlorid i chromatografikarret, at der står 0,5 – 1 cm i bunden. Klip tre kiselgelplader på hver 10x7 cm. Tegn en linje med blyant ca. 1,5 cm fra bunden af pladerne. Udtag en prøve af reaktionsblandingen lige efter starten. Afsæt pletter af reaktionsblandingen og af opløsninger af ren salicylsyre og methylsalicylat på linjen. Hver opløsning skal afsættes gentagne gange på det samme sted. Anbring pladen i chromatografikarret og lad den stå indtil væskefronten er trukket ca. $\frac{3}{4}$ op ad pladen. Tag pladen op, markér væskefronten og lad methylenchloriden dampe af under udsugning. Betragt pladen i UV-lys og markér pletterne fra de enkelte stoffer ved at tegne omridset af dem. Udtag på samme måde en prøve efter 30 minutter og kør en tilsvarende TLC-plade. Udtag endelig en prøve ved reaktionstidens slutning (60 min) og kør en tilsvarende plade.

Afkøl blandingen til stuetemperatur. Opløsningen kan nu se olieagtig ud. Afhængigt af mængden af ureageret salicylsyre, kan der evt. være et bundfald, som vil gå i opløsning i næste trin. Tilsæt 15 mL methylenchlorid til opløsningen. Overfør blandingen til en 125 mL skilletragt. Sæt prop i skilletragten og ryst for at ekstrahere produktet og rester af salicylsyre. Husk at holde på proppen og åbne hanen af og til for at udligne et eventuelt overtryk. Hæng skilletragten op og lad lagene skille. Opløsningen kan nogle gange danne en mælket emulsion, som ikke vil skille. I så tilfælde kan man enten centrifugere den eller tilsætte lidt mættet saltvand. Tap methylenchloridfasen ned i et 50 mL bægerglas. Hæld yderligere 15 mL methylenchlorid i skilletragten og udryst endnu en gang. Tap igen methylenchloridfasen ned i bægerglasset. Hæld vandfasen ud. Hæld den samlede methylenchloridfase tilbage i skilletragten og udryst med 10 mL demineraliseret vand. Hæld vandfasen ud. Udryst på samme måde methylenchloridfasen med 2 gange 10 mL 5% NaHCO_3 . Tap til slut methylenchloridfasen ned i en 100 mL konisk kolbe.

Tilsæt lidt natriumsulfat til kolben for at tørre opløsningen.

Vej en ren og tør 50 mL rundbundet kolbe. Overfør methylenchloridfasen (uden natriumsulfat) til kolben. Skyl natriumsulfaten med 2x5 mL methylenchlorid og hæld det sammen med methylenchloridfasen. Saml en destillationsopstilling og damp forsigtigt methylenchloriden af. Vej kolben og beregn udbyttet af methylsalicylat.

Alternativt kan methylenchloridfasen hældes i et rent, tørt og vejjet 50 mL bægerglas. Lad da bægerglasset stå under udsugning indtil al methylenchlorid er fordampet. Vej herefter bægerglasset og beregn udbyttet af methylsalicylat.

Produktets renhed kan eventuelt kontrolleres ved TLC – som beskrevet tidligere. Om nødvendigt kan det renses ved søjlechromatografi. Som løbevæske kan man benytte methylenchlorid.

Efterbehandling:

- Hvilke stoffer indeholder de prøver, der udtages under estercondensationen?
- Hvilke af disse stoffer kan ses på chromatogrammerne?
- Hvordan ser man forskel på pletterne af salicylsyre og methylsalicylat på chromatogrammerne?
- Hvorfor vasker man methylenchloridfasen med NaHCO_3 -opløsning?
- Beregn det procentvise udbytte af methylsalicylat i forhold til det teoretisk mulige.
- Kommentér udbytteprocenten - hvad kan have betydning for dens størrelse?