

Izolacja i wykrywanie trucizn cz.2

Wykrywanie i izolacja alkaloidów, glikozydów i olejków eterycznych

Literatura zalecana:

Bajguz A., Piotrowska A. 2005. Ćwiczenia z toksykologii środowiska. Wydawnictwo Uniwersytetu w Białymstoku, Białystok. Rozdz. 8: Wybrane substancje toksyczne pochodzenia roślinnego, str. 126 - 137.

Zadanie 1 . Wykrywanie alkaloidu kodeiny w glistniku jaskółcze ziele (*Chelidonium majus*)

Odczynniki i szkło laboratoryjne:

5% roztwór kwasu winowego w etanolu absolutnym

Odczynnik Marquisa (przygotować tuż przed użyciem):

1cm³ stęż. H₂SO₄ i 3 krople 40% formaliny

Szkiełko zegarkowe

Wykonanie:

1. Fragment ziela glistnika (uprzednio moczonego w zakwaszonym etanolu) położyć na szkiełku zegarkowym
2. Dodać 3 krople odczynnika Marquisa. Powstanie niebiesko-fioletowej barwy świadczy o obecności kodeiny

Zadanie 2. Rozdział alkaloidów z korzenia glistnika metodą chromatografii bibułowej

Odczynniki, szkło laboratoryjne, materiały:

Alkohol etylowy

Moździerze

Pipety, cylindry miarowe i szkiełka zegarkowe

Lejki i bibuła filtracyjna, pytki chromatograficzne lub paski bibuły filtracyjnej

Wykonanie:

1. Pociąć i rozetrzeć w moździerzu korzeń glistnika z niewielką ilością piasku
2. Roztarty materiał ekstrahować ciepłym etanolem
3. Przesączyć i uzyskany czerwono-brunatny ekstrakt nanosić wielokrotnie pipetą na płytkę chromatograficzną (bibułę filtracyjną) na wysokości 1 cm od jej krawędzi (po każdorazowym naniesieniu ekstraktu należy wysuszyć bibułę suszarką, po czym ponownie nanieść kolejną porcję ekstraktu). Suszarkę należy używać ostrożnie, ponieważ silny strumień powietrza zbyt mocno rozmywa nanoszony ekstrakt po płytce. Jeśli ekstrakt będzie nierówno nałożony, to chromatogram będzie rozmyty.

4. Wykonać rozdział składników ekstraktu metodą chromatografii bibułowej. W tym celu wlać do w cylindra miarowego kilka cm^3 80% etanolu (faza ruchoma) i zanurzyć w nim pasek bibuły z naniesionym ekstraktem tak, aby ekstrakt znajdował się powyżej poziomu alkoholu. Cylinder należy przykryć szkiełkiem zegarkowym
5. Po dojściu czoła rozpuszczalnika do końca bibuły należy ją wysuszyć
6. Obserwować uzyskany chromatogram w świetle widzialnym i w nadfiolecie.
Kolejność rozdzielonych pasm alkaloidów od dołu:
 - cytrynowożółte (berberyna),
 - żółte obramowane pomarańczowymi świecącymi paskami (chelerytryna)
 - karminowoczerwone (sangwinaryna)
 - żółtozielone (chelidonina)

Zadanie 3. Wykrywanie kofeiny – próba mureksydowa

Odczynniki, szkło laboratoryjne, sprzęt:

30% H_2O_2

25% HCl

25% NH_3

Parowniczkki, pipety

Wykonanie:

1. Rozetrzeć w moździerzku 1 tabletkę z kofeiną (50 mg) i wsypać do małej parowniczkki.
2. Dodać 2 cm^3 30% H_2O_2 , po czym dodać 2 cm^3 25% HCl . Całość odparować do sucha na łaźni wodnej.
3. Dodać kilka kropel 25% NH_3
4. Pojawienie się koloru czerwono-fioletowego świadczy o obecności związków purynowych (tu alkaloidu purynowego - kofeiny). Naświetlenie powstałego produktu światłem UV wywołuje fioletową fluorescencję.

Zadanie 4. Wykrywanie glikozydów flawonoidowych w liściach fiołka trójbarwnego

(*Viola tricolor*)

Odczynniki:

10% KOH lub 25% NH₃
Szkienka zegarkowe, pipety

Wykonanie:

1. Wylać na szkiełko zegarkowe niewielką ilość 10% KOH lub 25% NH₃.
2. Umieścić w roztworze kawałki liści fiołka trójbarwnego.

W obecności glikozydów flawonoidowych powstanie zabarwienie zielonożółte do brunatnego.

Zadanie 5. Wykrywanie glikozydów fenolowych w liściach gruszy (*Pyrus communis*)

Odczynniki:

30% HNO₃
Glicerol
zlewki

Wykonanie:

1. Do zlewki włożyć kawałki liści gruszy i zalać 30% HNO₃ na 3-5 minut
2. Przenieść do glicerolu i obserwować pod mikroskopem.

Zawarta w komórkach arbutyna (glikozyd fenolowy) spowoduje powstanie czerwonego (do brunatno-czerwonego) zabarwienia, zwłaszcza na brzegach liści.

Zadanie 6. Wykrywanie glikozydów kumarynowych w korze kasztanowca (*Aesculus hippocastanus*)

Odczynniki:

stęż. HNO₃
rozcieńczony wodny r-r NH₃
zlewki,

Wykonanie:

1. Pod wyciągiem wsypać do zlewki skrawki kory kasztanowca i zalać na kilka sekund stężonym HNO₃.
2. Przenieść skrawki kory na następnej zlewki i zalać na kilka minut rozcieńczonym NH₃.
3. W obecności eskuliny (glikozyd kumarynowy) wystąpi w komórkach zabarwienie czerwone. Wykonać preparat i obejrzeć pod mikroskopem.

Zadanie 7. Izolacja olejków eterycznych na przykładzie limonenu

Odczynniki, szkło laboratoryjne:

Dichlorometan

Bezwodny siarczan magnezu $MgSO_4$

Zestaw do destylacji, rozdzielacze, kolby stożkowe ze szlifem, zlewki

Wykonanie:

1. Pokroić drobno skórkę z pomarańczy i umieścić w kolbie okrągłodennej o poj. 500 cm^3 .
2. Wlać 200 cm^3 wody i poddać destylacji (dodać kamyczki wrzenne). Kosz grzejny nastawić na 150°C aż do uzyskania wrzenia. Od tego momentu kosz grzejny przestawić na 100°C . Pierwsze krople destylatu pojawią się po ok. 25 min.
3. Po uzyskaniu ok. 80 cm^3 destylatu, ekstrahować go w rozdzielaczu trzykrotnie 20 cm^3 dichlorometanu.