

Program Laboratorium z Chemii Organicznej wraz z opisem poszczególnych ćwiczeń

dla studentów Biotechnologii

**(opracowanie: dr inż. Magdalena Popławska,
dr inż. Ewa Mironiuk-Puchalska)**

Biotechnologia

Program pracowni obejmie wykonanie siedmiu preparatów w tym:

- 1.1. два preparaty wstępne, jednakowe dla wszystkich studentów w grupie, mające na celu zapoznanie studentów z podstawowymi technikami wydzielania produktu reakcji organicznej:
 - ekstrakcja chemiczna nieprzereagowanych substratów i/lub produktów ubocznych oraz oczyszczenie ciekłego związku docelowego metodą destylacji prostej,
 - odsączenie surowego związku docelowego i jego oczyszczenie metodą krystalizacji.
- 1.1. cztery preparaty wykonywane indywidualnie, charakteryzujące się narastającym stopniem złożoności stosowanych technik reakcyjnych i obejmujące następujące zagadnienia: prowadzenie reakcji w układzie reakcyjnym z mieszaniem mechanicznym lub magnetycznym, prowadzenie reakcji w środowisku bezwodnym, pochłanianie gazowych produktów reakcji, prowadzenie reakcji w obniżonej/podwyższonej temperaturze, wkraplanie reagenta ciekłego, destylacja prosta i frakcyjna, destylacja z parą wodną, destylacja pod zmniejszonym ciśnieniem, krystalizacja z udziałem węgla aktywnego, ekstrakcja chemiczna i ekstrakcja rozpuszczalnikiem organicznym w układzie ciecz-ciecz, suszenie cieczy organicznej środkiem suszącym, suszenie stałego związku organicznego, pomiar temperatury topnienia stałego związku organicznego.
- 1.2. Jednym z ćwiczeń jest wydzielanie związku naturalnego – kofeiny z herbaty oraz jego oczyszczanie i charakterystyka fizykochemiczna.

Zestawy ćwiczeń dla studentów uczestniczących w zajęciach laboratoryjnych na kierunku Biotechnologia

	Zestaw 1	Zestaw 2
	Nazwa produktu/ ilość w molach (typ reakcji)	Nazwa produktu/ ilość w molach (typ reakcji)
1.	Acetanilid 0.12-0.13 (acetylowanie w środowisku bezwodnym)	Acetanilid 0.12-0.13 (acetylowanie w środowisku bezwodnym)
2.	Octan etylu/ 0.35-0.45 (estryfikacja alkoholu)	Octan etylu/ 0.35-0.45 (estryfikacja alkoholu)
3.	Acetyloglicyna 0,067 (acetylowanie w środowisku wodnym)	Paracetamol 0,05 (acetylowanie w środowisku wodnym)
4.	Kofeina (wydzielanie związku naturalnego)	Kofeina (wydzielanie związku naturalnego)
5.	Kwas benzoesowy i alkohol benzylowy 0,2 (reakcja Cannizarro)	Dibenzylidenoaceton 0,0625 (kondensacja aldolowa)
6.	<i>p</i> -Jodonitrobenzen 0.05-0.07 (reakcja diazowania)	Kwas <i>o</i> -chlorobenzoesowy 0.06-0.09 (reakcja diazowania)
7.	<i>p</i> -Metyloacetofenon 0.12-0.13 (acylowanie Friedla-Craftsa)	<i>p</i> -Metyloacetofenon 0.12-0.13 (acylowanie Friedla-Craftsa)

LABORATORIUM Z CHEMII ORGANICZNEJ

ZESTAW PREPARATÓW

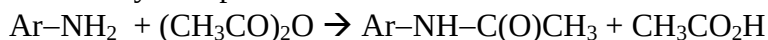
1. Acetanilid.....	3
2. Octan etylu.....	7
3. Acetyloglicyna.....	10
4. Paracetamol.....	11
5. Kwas benzoesowy i alkohol benzylowy.....	12
6. Dibenzylidenoaceton.....	13
7. Kwas <i>o</i> -chlorobenzoesowy.....	15
8. <i>p</i> -Jodonitrobenzen	19
9. <i>p</i> -Metyloacetofenon.....	20
10. Wydzielanie kofeiny z herbaty.....	25

Uwaga. Większość przepisów preparatywnych zostało zaczerpniętych z Preparatyki Organicznej A. Vogla. Do niektórych z nich wprowadzono pewne modyfikacje.

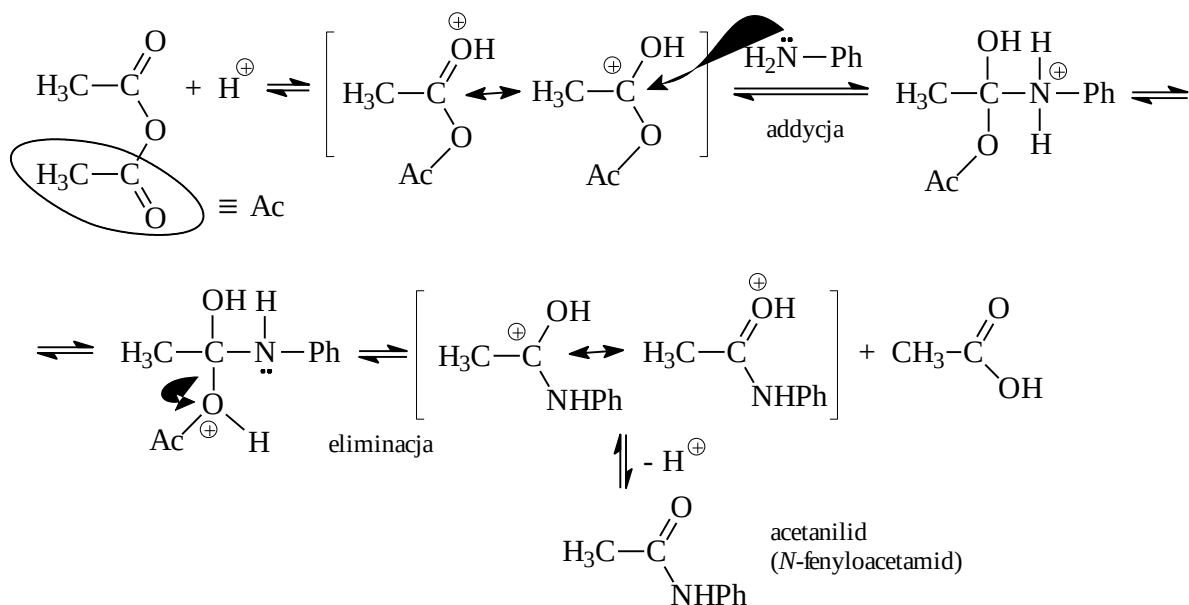
Przepisy otrzymywania acetyloglicyny, paracetamolu, oraz wydzielania kofeiny z herbaty zaczerpnięto z MATERIAŁY DO ĆWICZEŃ LABORATORYJNYCH Z CHEMII ORGANICZNEJ DLA STUDENTÓW BIOLOGII, Wydanie II poprawione i uzupełnione, 2007, pod redakcją A. Jarczewskiego.

ACETANILID

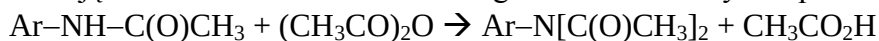
Pierwszorzędowe aminy aromatyczne ogrzewane z bezwodnikiem octowym łatwo reagują dając monoacetylowe pochodne.



Jest to reakcja przebiegająca według mechanizmu addycji-eliminacji charakterystycznego dla przekształcania kwasów karboksylowych w ich pochodne (np. estryfikacja: kwas $\rightarrow$ ester) oraz jednych pochodnych kwasów karboksylowych w inne (np. omawiany przykład: bezwodnik $\rightarrow$ amid).



Stosując nadmiar bezwodnika octowego można też otrzymać pochodne diacetylowe.

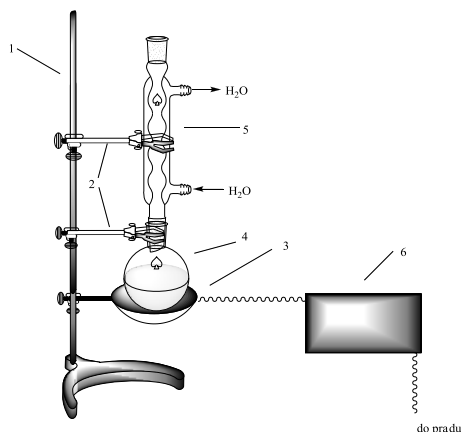


Jednak są one na tyle nietrwałe, że krystalizowane z wody ulegają hydrolizie do pochodnych monoacetylowych. Dzięki temu acetanilidy otrzymuje się łatwo i z wysokimi wydajnościami.

W kolbie kulistej poj. 250 ml, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, umieszcza się 14,0 g (14 ml, 0,15 mol) aniliny, 16,4 g (15 ml, 0,16 mol) bezwodnika octowego, 14,5 g (14 ml, 0,24 mol) lodowatego (czyli 100%) kwasu octowego i 0,1 g pyłu cynkowego (dzięki redukującym właściwościom pył cynkowy zapobiega utlenianiu się aniliny podczas ogrzewania). Mieszaninę ogrzewa się łagodnie w temperaturze wrzenia przez 30 min a następnie gorącą ciecz wylewa się cienkim strumieniem do zlewki poj. 1 l zawierającej 340 ml zimnej wody. Po oziębieniu, najlepiej w lodzie, surowy produkt odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa niewielką ilością zimnej wody, dokładnie odsysa, rozkłada na bibule i suszy na powietrzu. Otrzymuje się ok. 18 g acetanilidu o tt. 112-113 °C. Surowy produkt krystalizuje się z ok. 340 ml wody z ewentualnym dodatkiem kilku mililitrów etanolu. Jeżeli surowy produkt jest lekko żółty można zastosować węgiel aktywny do odbarwienia. W tym celu gorący roztwór acetanilidu w wodzie (z dodatkiem etanolu) należy ostudzić. Dodać do niego niewielką ilość węgla aktywnego i tak przygotowaną mieszaninę doprowadzić do ponownego wrzenia. Przesączyć na gorąco z użyciem płaszcza do sączenia na gorąco i, po ostudzeniu, odsączyć otrzymany osad.

Wydajność czystego związku o tt. 113-114 °C– 14 g (70%).

Zestaw do przeprowadzenia reakcji i krystalizacji:



1. statyw, 2. łapa z łącznikiem, 3. czasza grzejna, 4. kolba okrągłodenna, 5. chłodnica zwrotna (kulkowa), 6. autotransformator.

KRYSTALIZACJA - OCZYSZCZANIE STAŁEGO ZWIĄZKU ORGANICZNEGO

Podstawy teoretyczne dotyczące procesu krystalizacji – A. Vogel „Preparatyka Organiczna” (str. 85 – krystalizacja oraz 83 – sączenie pod zmniejszonym ciśnieniem, wyd. II, str. 138 – krystalizacja oraz 136 – techniki sączenia, wyd. III).

Ta operacja ma na celu oddzielenie substancji będących zanieczyszczeniem interesującego nas związku stałego. Polega ona na rozpuszczeniu w podwyższonej temperaturze (zwykle w temperaturze wrzenia) zanieczyszczonego związku w odpowiednio dobranym rozpuszczalniku, oddzieleniu od gorącego roztworu zanieczyszczeń nierozpuszczonych (jeśli takie są) i ochłodzeniu roztworu. W niskiej temperaturze roztwór staje się przesycony - wytrąca się z niego część rozpuszczonych na gorąco kryształów, przede wszystkim związku głównego a zanieczyszczenia pozostają w roztworze. Otrzymane kryształy oddziela się od roztworu (ługu pokrystalicznego) przez odsączenie pod zmniejszonym ciśnieniem. Osad przenosi się z sączka na szkiełko zegarkowe, suszy i mierzy temperaturę topnienia, która jest parametrem charakterystycznym dla substancji stałych. Dobierając rozpuszczalnik do krystalizacji należy wziąć pod uwagę jego następujące właściwości:

- dobrze rozpuszcza krystalizowaną substancję w temperaturze wrzenia i stosunkowo słabo w temperaturze pokojowej,
- bardzo dobrze rozpuszcza zanieczyszczenia (pozostają wtedy w ługu pokrystalicznym) lub bardzo źle rozpuszcza zanieczyszczenia (wtedy usuwa się je poprzez sączenie na gorąco - pozostają na sączku),
- ma stosunkowo niską temperaturę wrzenia aby można go było łatwo usunąć z powierzchni kryształów,
- nie może reagować z substancją krystalizowaną,
- powinien być (jeśli jest to możliwe) mało toksyczny, niepalny i możliwie tani.

Zestaw aparatury używany do krystalizacji zależy od parametrów stosowanego rozpuszczalnika. Jeżeli rozpuszczalnikiem jest woda można użyć zwykłej kolby stożkowej i nie jest konieczne zastosowanie chłodnicy zwrotnej. Pary rozpuszczalnika są niepalne i nietoksyczne. Jeżeli rozpuszczalnikiem jest alkohol etylowy bądź metylowy należy zestawić aparaturę składającą się z kolby kulistej i chłodnicy zwrotnej. Do ogrzewania należy unikać stosowania bezpośredniego źródła ognia np. palnika.

Odsyłacze do Internetu:

<https://www.youtube.com/watch?v=JZL6p5QfmYA>
<https://www.youtube.com/watch?v=eUeMb0z90zw>
<https://www.youtube.com/watch?v=7LBGQHjgHEw>

Montuje się zestaw do krystalizacji składający się z kolby kulistej i chłodnicy zwrotnej (kulkowej). Oba elementy aparatury powinny być umocowane łapami do tego samego statywu nad jego podstawą. Do umocowania chłodnicy można użyć łapy czteropalczastej; łapa nie musi ścisnąć chłodnicy – wystarczy, aby nie pozwalała jej przechylać się na boki. Podłącza się wodę do chłodnicy – dopływ od dołu. Koniec węża odprowadzającego wodę do studzienki ściekowej zaopatruje się w rurkę szklaną zagiętą pod kątem ok. 120° i obciążoną na końcu gumowym korkiem; zapobiega to przypadkowemu wypadnięciu węża ze studzienki. Do ogrzewania zawartości kolby należy przygotować czaszę grzejną pasującą wielkością do objętości kolby i autotransformator. Należy poprosić osobę prowadzącą zajęcia o sprawdzenie aparatury.

Następnie należy zważyć przygotowany do oczyszczania surowy, stały związek i dalej postępuje się według poniżej przedstawionych punktów.

1. Usunąć chłodnicę zwrotną znad kolby kulistej.
2. Umieścić związek przeznaczony do krystalizacji w kolbie kulistej (pojemność kolby należy dobrać tak, aby roztwór zajmował od 1/3 do 2/3 jej objętości) i dodać określoną ilość rozpuszczalnika oraz kilka kamyczków wrzennych. Podczas napełniania kolby nie może się pod nią znajdować czasza grzejna.
3. Ponownie zamontuj chłodnicę zwrotną na kolbie i umieść kolbę w czaszy grzejnej ustawionej na podnośniku lub mocowanej do statywu. W przypadku stosowania czaszy stojącej umieszczenie jej na podnośniku zapewni ci, w razie potrzeby, możliwość szybkiego usunięcia czaszy spod kolby. W przypadku stosowania czaszy mocowanej do statywu, z tego samego powodu, zawieś ją ok. 20 cm nad podstawą statywu.
4. W szyi kolby umieść chłodnicę zwrotną (kulkową) i otwórz kran doprowadzający wodę. Włącz czaszę grzejną do prądu i regulując suwakiem transformatora, doprowadź ciecz w kolbie do łagodnego wrzenia.
5. Po kilku minutach sprawdź czy osad rozpuścił się całkowicie; jeśli nie – dodawaj porcjami rozpuszczalnik (przez lejek umieszczony w chłodnicy), aż do rozpuszczenia osadu. Jeśli otrzymany roztwór jest klarowny i jasny przejdź do punktu 9. Jeśli w miarę dodawania kolejnych porcji rozpuszczalnika nie obserwujesz wyraźnego rozpuszczania zawiesiny, to nie dodawaj następnych porcji rozpuszczalnika - być może stała pozostałość to zanieczyszczenia nierozpuszczalne w zastosowanym rozpuszczalniku. Wtedy postępuj według kolejnych punktów. Jeżeli kolor krystalizowanej substancji nie jest zgodny z danymi literaturowymi (bezbarwny lub jasno żółty) dodaj do wychłodzonego roztworu pół łyżeczki węgla aktywnego.
6. Metalowy płaszcz grzejny w kształcie lejka napełnij wodą i umocuj go do statywu, umieść w nim lejek szklany z sączkiem karbowanym (sączek nie powinien wystawać powyżej lejka), podstaw pod nóżkę lejka kolbę stożkową o odpowiedniej pojemności i ogrzej wodę w płaszczu do wrzenia za pomocą palnika. Uważaj, aby woda mogąca się wydobywać podczas ogrzewania z króćca płaszcza nie zamoczyła sączka; można temu zapobiec zakładając na króciec wąż gumowy.
7. Podgrzej mieszaninę krystalizowanej substancji z węglem aktywnym w rozpuszczalniku do wrzenia. Następnie usuń czaszę grzejną spod kolby, i kiedy roztwór w kolbie przestanie wrzeć(!), unieś chłodnicę zwrotną (możesz ją na chwilę umocować obejmującą ją łapą). Następnie dodaj do kolby 1-2 łyżeczki węgla aktywnego. Zamontuj z powrotem chłodnicę i przez kilka minut ogrzewaj zawartość kolby w temperaturze wrzenia.
8. Zgaś palnik pod płaszczem grzejnym!. Usuń czaszę spod kolby i kiedy tylko jej zawartość przestanie wrzeć, zdejmij chłodnicę, odłącz kolbę wraz z łapą od statywu i możliwie szybko przesącz gorący roztwór. Podczas sączenia przykrywaj lejek np. kartką papieru lub szkiełkiem zegarkowym; odparowywanie rozpuszczalnika może spowodować ochłodzenie roztworu i wykrystalizowanie rozpuszczonego związku na sączku. W takim przypadku umieść sączek wraz z osadem w używanej poprzednio kolbie, dodaj nową porcję rozpuszczalnika i kilka kamyczków

wrzenych, doprowadź zawartość kolby do wrzenia pod chłodnicą zwrotną i ponownie przesącz gorący roztwór przez nowy sączek do tej samej erlenmajerki.

9. Ochłódź roztwór do temperatury pokojowej lub w łaźni lodowej.

10. Umocuj czystą i suchą kolbę ssawkową z lejkiem Büchnera łapą do statywu. Wytnij z bibuły sączek dopasowany wielkością do lejka. Sączek nie może zachodzić na brzegi lejka. Wlej ok. 1 ml rozpuszczalnika na sączek z bibuły znajdujący się w lejku i podłącz pompkę wodną do kolbki ssawkowej. Sprawdź, czy sączek zakrywa wszystkie otwory w lejku i czy dobrze przylega do jego dna. Rozdrobnij łopatką wykrystalizowany osad w kolbie i odsącz go. Resztki kryształów z erlenmajerki przenieś na sączek używając przesącza z kolby ssawkowej. Przy włączonej pompce wodnej ugniataj osad płaskim końcem łopatki aż do całkowitego odcisnięcia ługu pokryształizacyjnego.

11. Odłącz pompkę wodną od kolby ssawkowej. Nalej na powierzchnię osadu tylko tyle czystego, zimnego rozpuszczalnika, którego używasz do krystalizacji ile potrzeba do sporządzenia gęstej papki (użyj łopatki; uważaj by nie uszkodzić sączka). Podłącz pompkę i odsącz ciecz starannie ugniatając kryształy łopatką.

12. Odłącz wąż od kolby ssawkowej i dopiero wtedy zakręć przepływ wody w pompce. Osad przenieś na starowane szkiełko zegarkowe lub krystalizator i zostaw do całkowitego wyschnięcia; możesz to sprawdzić ważąc szkiełko z osadem co jakiś czas. (O innych sposobach suszenia ciał stałych - zob. A. Vogel, Preparatyka Organiczna.)

13. Małą próbkę przekryształizowanego i wysuszonego związku rozetrzyj łopatką na szkiełku zegarkowym. Nabij w otwarty koniec kapilarki do mierzenia temperatury topnienia kryształy na wysokość 2-3 mm. Postaw suchą wewnątrz chłodnicę destylacyjną lub zwykłą rurkę szklaną na twardym podłożu (podstawa statywu, parapet) i spuść przez nią kapilarkę zatopionym końcem do dołu. Powtórz tę czynność aż osad przesunie się na dno kapilarki.

14. Umieść kapilarkę w otworze aparatu do pomiaru temperatury topnienia. Regulując pokręteł potencjometru ustal intensywność ogrzewania. Na ok. 10°C poniżej spodziewanej temperatury topnienia badanego związku temperatura powinna wzrastać nie szybciej niż 2°C na minutę.

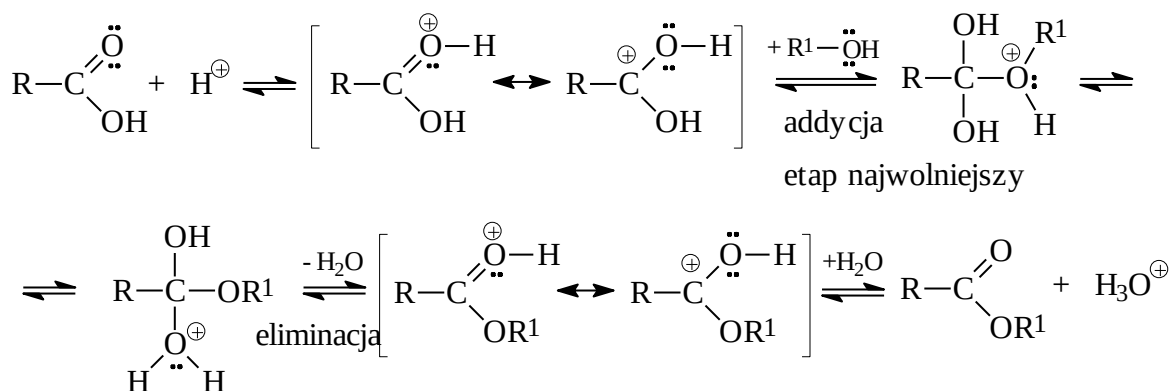
15. Obserwuj kryształy w kapilarce. Zanotuj temperaturę t₁, przy której pojawi się pierwsza kropla cieczy a następnie temperaturę t₂, przy której topnienie substancji zakończy się. Temperatura topnienia czystego związku powinna tylko nieznacznie różnić się od wartości literaturowej (dokładność termometru) a przedział t₁-t₂ nie powinien być większy niż 2°C.

16. Oblicz wydajność procesu krystalizacji ze wzoru:

$$W = \frac{\text{masa substancji wziętej do krystalizacji}}{\text{masa otrzymanego osadu po krystalizacji}} * 100\%$$

OCTAN ETYLU

Kwasy karboksylowe alifatyczne i aromatyczne w reakcji z alkoholami pierwszo- i drugorzędowymi dają estry. Reakcja estryfikacji jest katalizowana mocnymi kwasami, najczęściej kwasem siarkowym. Rola katalizatora polega na protonowaniu atomu tlenu grupy karbonylowej, co zwiększa elektrofilowość karbonylowego atomu węgla i ułatwia przyłączenie słabego nukleofila, alkoholu. Wszystkie etapy tej reakcji są odwracalne, a położenie równowagi zależy od budowy reagentów. W celu zwiększenia wydajności estru stosuje się nadmiar jednego z reagentów (np. otrzymywanie benzoesu metylu i octanu butylu – przepisy: A. Vogel, Preparatyka organiczna, str. 719 i 430; wydanie II, str. 1038 i 668; wydanie III) lub usuwa produkty, wodę lub/i ester (zob. mrówczan etylu – przepis poniżej), w trakcie ich powstawania. Jeśli ester ma niższą niż substraty temperaturę wrzenia, to można go oddestylowywać. Wodę można usuwać za pomocą środka suszącego albo oddestylowywać w postaci azeotropu, np. z benzenem lub (lepiej) toluenem. Używany jako katalizator stężony kwas siarkowy protonując powstającą wodę, także przyczynia się do zwiększenia wydajności estru.



Według powyższego schematu nie można otrzymywać estrów alkoholi trzeciorzędowych. O szybkości najwolniejszego etapu, a więc i o szybkości całej reakcji, w znacznym stopniu decydują czynniki steryczne. Jest zatem oczywiste, że utworzenie wiązania między karbonylowym atomem węgla i atomem tlenu alkoholu trzeciorzędowego, mającego dużą objętościową grupę alkilową, będzie przebiegało powoli. Jednocześnie obecność silnego kwasu mineralnego będzie sprzyjała reakcji dehydratacji alkoholu, której alkohole mogące utworzyć trwałe karbokationy, np. alkohole trzeciorzędowe, ulegają szczególnie łatwo.

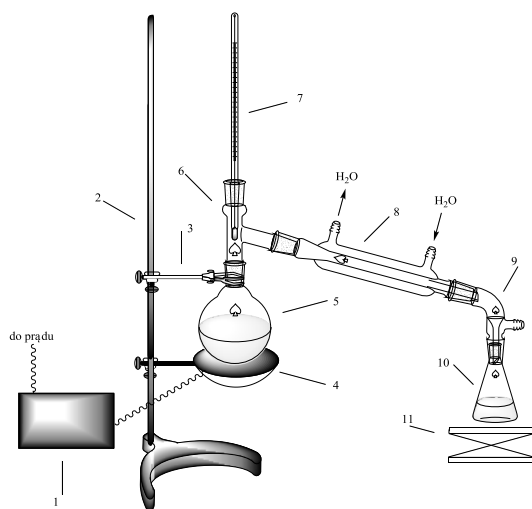
W przypadkach, w których z przyczyn technicznych lub ekonomicznych nie można zastosować nadmiaru jednego z reagentów, do reakcji używa się chlorków kwasowych lub bezwodników (octany, ftalany). Reakcje przebiegają wtedy szybko a produkty powstają z dużymi wydajnościami.

W kolbie o pojemności 100 ml umieszczamy 10 ml (0,17 mola) alkoholu etylowego, a następnie, mieszając i chłodząc na łaźni wodnej, dodajemy powoli 10 ml (0,18 mola) stężonego H_2SO_4 . Montujemy zestaw do destylacji prostej. Zamiast termometru umieszczamy wkraplacz z mieszaniną 33 ml (0,57 mola) alkoholu etylowego i 33 ml (0,57 mola) lodowatego kwasu octowego. Proszę podać ilości używanych reagentów także w gramach.

Mieszaninę reakcyjną ogrzewamy ostrożnie i rozpoczynamy wkraplanie mieszaniny z rozdzielacza z szybkością równą szybkości oddestylowania powstającego octanu etylu. Układ należy utrzymywać w stanie umiarkowanego wrzenia. Przegrzanie mieszaniny reagentów (przekroczenie temperatury 140°C) może prowadzić do odwodnienia alkoholu i powstawania, niepożądanego, znacznej ilości eteru etylowego. Otrzymany destylat, oprócz estru, zawiera kwas octowy i etanol. W celu usunięcia kwasu octowego, do destylatu zebranego do kolby stożkowej, dodajemy małymi porcjami nasycony roztwór węgla sodowego, aż do obojętnego (wobec papierka wskaźnikowego) odczynu warstwy organicznej oraz zaprzestania wydzielania się CO_2 (jaka przebiega tutaj reakcja?). Następnie, roztwór przenosimy do rozdzielacza. Dolną warstwę wodną oddzielamy. Górną warstwę

estrową przenosimy do kolby stożkowej i wytrząsamy z bezwodnym CaCl_2 w celu usunięcia nieprzereagowanych ilości alkoholu etylowego. Chlorek wapnia tworzy z etanolem związek addycyjny łatwo rozpuszczalny w wodzie, a nierozpuszczalny w octanie etylu. Mieszaninę przenosimy do rozdzielacza. Pozostawiamy w rozdzielaczu do rozdzielenia warstw. Następnie, oddzielamy górną warstwę surowego estru od pozostałości zawierającej CaCl_2 . Oddzieloną, górną warstwę estrową przenosimy do suchej kolby stożkowej z korkiem, o objętości ok. 100 ml, suszymy nad bezwodnym MgSO_4 (ok. 2 g.). Pozostawiamy ciecz nad środkiem suszącym na kilkanaście minut. Odsączamy środek suszący przez mały sączonek karbowany do suchej kolby okrągłodennej o pojemności 100 ml. Na koniec, surowy ester destylujemy, za pomocą zestawu do destylacji frakcyjnej, zbierając czysty octan etylu w temperaturze $76,5\text{--}77,5^\circ\text{C}$. Zestaw do destylacji frakcyjnej przedstawiono na str. 12.

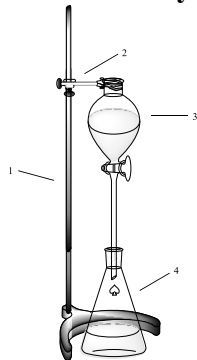
Zestaw do wykonania destylacji prostej:



1 autotransformator, 2. statyw, 3. łapa z łącznikiem, 4. czasza grzejna, 5. kolba destylacyjna, 6. nasadka destylacyjna, 7. termometr, 8. chłodnica Liebiga 9. przedłużacz (łuk z tubusem), 10. odbieralnik (kolba stożkowa), 11. podnośnik.

UWAGA! Dla przejrzystości rysunku nie pokazano statywu i łapy czteropalczastej podtrzymującej chłodnicę. Zamontowanie jej jest niezbędne.

Zestaw do wykonania rozdziału warstwy organicznej od wody:



1. statyw, 2. łapa z łącznikiem, 3. rozdzielacz, 4. kolba stożkowa (erlenmajerka)

UWAGA! Na rysunku przedstawiono rozdzielacz z otwartym kranem; podczas napełniania rozdzielacza należy zwracać uwagę, aby był zamknięty.

EKSTRAKCJA

Klasyczny proces ekstrakcji będzie przeprowadzony w trakcie wyodrębniania p-metyloacetofenonu z wodnej mieszaniny poreakcyjnej.

Ta operacja ma na celu oddzielenie związku organicznego rozpuszczonego lub zdyspergowanego (zawieszonego) w wodzie za pomocą rozpuszczalnika organicznego. Dobierając rozpuszczalnik do ekstrakcji należy wziąć pod uwagę jego następujące właściwości:

- nie może rozpuszczać się w wodzie,
- powinien zapewniać odpowiedni współczynnik podziału ekstrahowanej substancji (równowagowe stężenie substancji w rozpuszczalniku powinno być możliwie jak największe w stosunku do jej stężenia w wodzie). W przybliżeniu współczynnik podziału jest równy stosunkowi rozpuszczalności substancji w rozpuszczalniku i w wodzie,
- nie może reagować z substancją ekstrahowaną ani z wodą,
- jego gęstość powinna być dostatecznie różna od gęstości wody, aby rozdział faz był szybki i wyraźny,
- powinien mieć niską temperaturę wrzenia, aby można go było oddzielić od rozpuszczonej w nim substancji przez destylację,
- jest pożądane, aby był tani natomiast nie był łatwopalny i szkodliwy.

Ekstrakcję najczęściej wykonuje się w rozdzielaczu. Zanim przystąpi się do ekstrakcji należy sprawdzić szczelność kranu i korka nalewając do rozdzielacza trochę wody lub acetonu i potrząsając nim energicznie. Jeśli rozdzielacz jest szczelny wlewa się do niego roztwór do ekstrakcji i rozpuszczalnik. Rozmiar rozdzielacza powinien być taki, aby umieszczone w nim ciecze zajmowały od 1/3 do 3/4 jego objętości. Po zamknięciu wlotu korkiem rozdzielacz odwraca się nóżką do góry i przytrzymując kran i korek energicznie się nim potrząsa. Co pewien czas otwiera się kran (cały czas w pozycji nóżką do góry), aby wyrównać ciśnienie wewnątrz rozdzielacza z ciśnieniem atmosferycznym. Tę czynność należy powtarzać szczególnie często wtedy, gdy w trakcie ekstrakcji wydziela się gaz lub gdy temperatura zawartości wzrasta na skutek wydzielania się ciepła mieszania. Następnie rozdzielacz zawiesza się na statywie za pomocą łapy lub pierścienia metalowego, wyjmuje korek i pod nóżkę podstawia erlenmajerkę lub zlewkę (w przypadkach awaryjnych, np. samorzutnego wypadnięcia kranu zawartość rozdzielacza wyleje się do tego naczynia). Rozdzielacz pozostawia się w tej pozycji tak długo, aż fazy wodna i organiczna dokładnie się rozdzieli. Oddziela się możliwie jak najstaranniej fazę wodną od organicznej. Jeśli używało się rozpuszczalnika o mniejszej gęstości niż woda, to należy oczekiwać, że warstwa organiczna będzie na górze. W razie wątpliwości, fazy identyfikuje się dodając do którejś z nich niewielką ilość wody – w fazie organicznej dodana woda utworzy odrębną warstwę. Po oddzieleniu fazy organicznej fazę wodną najczęściej zawraca się do rozdzielacza, dodaje nową porcję rozpuszczalnika i powtórnie ekstrahuje. Operację tę powtarza się nieraz wielokrotnie. Zależy to od wielkości współczynnika podziału. Należy pamiętać, że ekstrakcja jest skuteczniejsza, gdy wykona się ją kilkakrotnie mniejszymi porcjami rozpuszczalnika niż wtedy, gdy użyje się sumaryczną objętość tych porcji jednorazowo. Połączone warstwy organiczne z kolejnych ekstrakcji umieszcza się w czystej erlenmajerce (do pracy z cieczami organicznymi a zwłaszcza lotnymi rozpuszczalnikami nigdy nie należy używać zlewek) i suszy się odpowiednim środkiem suszącym. Niekiedy – dotyczy to zwłaszcza ekstraktów eterowych – warstwę organiczną umieszcza się w rozdzielaczu i wytrząsa z nasyconym roztworem NaCl. Ta operacja ma na celu wstępne usunięcie wody rozpuszczonej w fazie organicznej; rozpuszczalność wody w 100 g eteru wynosi ok. 1,5 g. Środek suszący dodaje się małymi porcjami energicznie mieszając zawartość erlenmajerki ruchem wirowym. Początkowo absorbująca się w kryształach woda powoduje ich zbrylanie. Dodawanie kolejnych porcji środka suszącego kończy się wtedy, kiedy nie obserwuje już sklejanego jego drobin. Erlenmajerkę zamyka się korkiem i pozostawia na ok. pół godziny (co jakiś czas należy wstrząsnąć erlenmajerką). Roztwór sączy się przez sączek fałdowany do suchej kolby kulistej (środek suszący

nie może się znaleźć w kolbie, ponieważ pod wpływem ciepła dostarczanego podczas destylacji zaabsorbowana woda mogłaby być z powrotem uwolniona; roztwór powinien zająć ok. $\frac{3}{4}$ pojemności kolby). Montuje się odpowiedni zestaw i przeprowadza destylację frakcyjną. Zaobserwowana temperatura wrzenia jest parametrem charakterystycznym dla danego związku ciekłego.

Skuteczność ekstrakcji można często polepszyć nasycając warstwę wodną chlorkiem sodu. Powoduje to zmniejszenie rozpuszczalności związku organicznego w wodzie (zob. oczyszczanie aniliny). Najczęściej stosowane do ekstrakcji rozpuszczalniki to (w nawiasie podana jest temperatura wrzenia, °C, i gęstość, g/ml): eter dietylowy (35, 0,714), chlorek metylenu (40, 1,325), chloroform (61, 1,48), heksan (69, 0,659), eter naftowy (mieszanina alkanów; ok. 40, ok. 0,62), benzen (mimo dobrych właściwości obecnie zaniechano jego używania ze względu na działanie rakotwórcze), toluen (111, 0,867).

Za pomocą ekstrakcji można także wyodrębniać pewne związki z mieszanin organicznych. Najczęściej wykorzystuje się do tego różne właściwości kwasowo-zasadowe składników mieszanin. Przykłady: 1) Aby dokładnie oddzielić kwas octowy używany w nadmiarze przy syntezie octanu butylu surowy produkt reakcji ekstrahuje się wodnym roztworem NaHCO_3 . Kwas octowy tworzy wtedy sól sodową nierozpuszczalną w warstwie organicznej a doskonale rozpuszczalną w wodzie. 2) Aminy (np. anilinę) można wydzielić z mieszanin za pomocą roztworu kwasu solnego; powstają rozpuszczalne w wodzie sole amoniowe. Warto zwrócić uwagę, że związki rozpuszczone w postaci soli w wodzie mogą być z niej wyodrębnione przez odpowiednią zmianę pH.

Odsyłacze do Internetu:

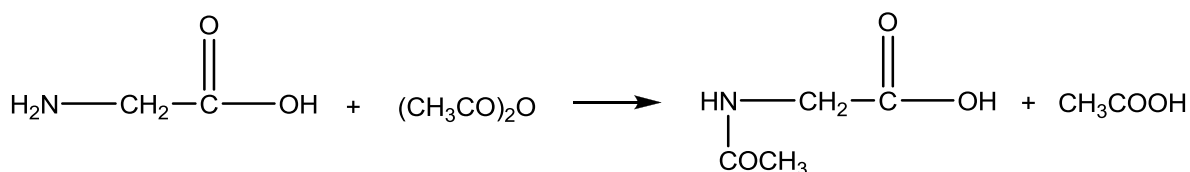
<https://www.youtube.com/watch?v=acQQdqCOA9M>

<https://www.youtube.com/watch?v=CyIA8NhMUl4>

<https://www.youtube.com/watch?v=3G3MMcBYmY>

ACETYLOGLICYNA

Aminokwasy, to związki o szczególnym znaczeniu biologicznym, ponieważ stanowią podstawową jednostkę budulcową białek. Aminokwasy uczestniczą w biosyntezie wielu związków w komórkach roślin, zwierząt i drobnoustrojach. Niektóre z nich stanowią produkty wyjściowe do biosyntezy ważnych hormonów, np. z tyrozyny powstaje tyroksyna i adrenalina. Wszelkie rodzaje procesów fizjologicznych związanych z uprawianiem sportu – regeneracja energii, rozwój mięśni, spalanie tłuszczów, a także funkcjonowanie naszych nastrojów i praca umysłu – pozostają w ścisłym związku z aminokwasami. Aminokwasy zawierają w swojej budowie dwie bardzo reaktywne grupy: grupę karboksylową o charakterze kwaśnym, a więc zdolną do odszczepienia protonu, oraz grupę aminową o charakterze zasadowym, co przejawia się tendencją do przyłączania protonu. Mają więc charakter amfoteryczny. Aminokwasy ulegają reakcjom charakterystycznym zarówno dla kwasów karboksylowych jak i dla amin. Na przykład, pod wpływem odczynników acylujących, takich jak bezwodniki kwasowe lub chlorki kwasowe, powstają N-acylopochodne aminokwasów.



Glicyna jest substancją krystaliczną, dobrze rozpuszczalną w wodzie. Ma słodki smak i w postaci soli sodowej jest używana w przemyśle spożywczym jako przyprawa.

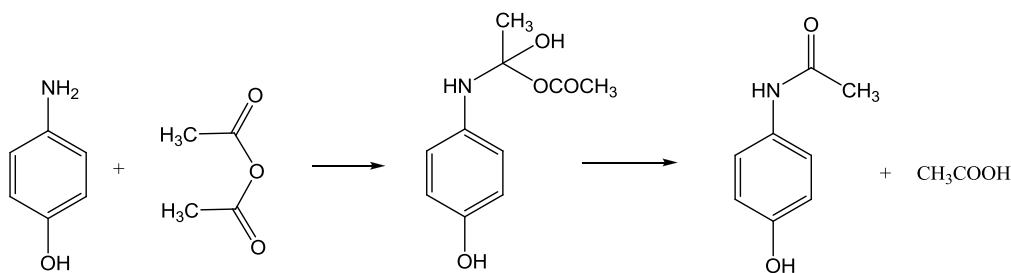
W małej kolbie stożkowej umieszczamy 5g (0,067 mola) glicyny i 25 cm³ wody. Zawartość kolby mieszamy energicznie aż do prawie całkowitego rozpuszczenia się osadu. Można używać mieszadła magnetycznego. Następnie do roztworu dodajemy w jednej porcji 15 cm³ (0,156 mola) bezwodnika octowego i całość mieszamy energicznie jeszcze przez 15-20 minut. Roztwór ogrzewa się samorzutnie i niekiedy pojawiają się już kryształy acetyloglicyny. Kolbę wstawiamy do lodówki, najlepiej na noc. Wydzielone kryształy acetyloglicyny odsączamy na lejku Büchnera. Ponieważ z przesączu otrzymujemy drugą frakcję acetyloglicyny, należy zwrócić szczególną uwagę na czystość kolby ssawkowej i lejka, jak również nie dopuścić do zassania wody z kranu do kolby ssawkowej (najlepiej wybrać zestaw ze stosowną płuczką zabezpieczającą). Po odsączeniu, produkt przemywamy lodowatą wodą, jeszcze na sączku, po czym suszymy w temperaturze 100°C. W pierwszej frakcji otrzymujemy około 5g acetyloglicyny o temperaturze topnienia 207-208°C. Połączone przesącze odparowujemy do sucha (wyparka, łaźnia wodna o temperaturze 50-60°C), a suchą pozostałość krystalizujemy z wrzącej wody. Wydzielone kryształy odsączamy, przemywamy i suszymy, jak poprzednio. W ten sposób uzyskujemy około 1 g drugiej frakcji acetyloglicyny o temperaturze topnienia 207- 208°C.

Obydwie frakcje łączymy, ważymy, a następnie obliczamy całkowitą wydajność reakcji.

PARACETAMOL

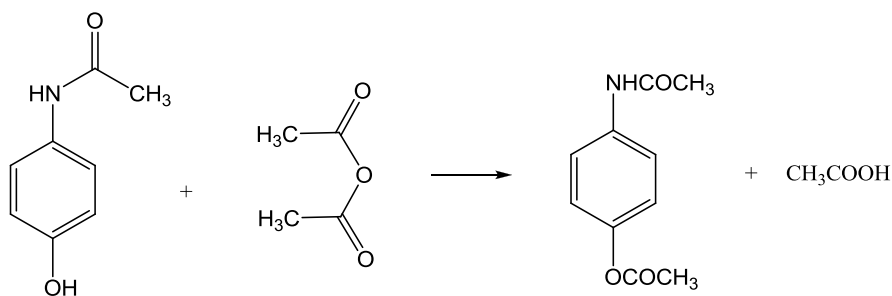
Jedną z metod otrzymywania 4-hydroksyacetanilidu polega na chemoselektywnym acetylowaniu p-aminofenolu bezwodnikiem octowym w wodzie. Produkt jest drugim, obok aspiryny, przykładem popularnego leku przeciwbólowego. Występuje pod takimi nazwami jak: ACETAMINOFEN, PARACETAMOL, czy APAP. Przedawkowany działa trująco. Minimalna dawka śmiertelna (MLD) w przypadku królików wynosi 3.7 g/kg. Substrat w tej metodzie, p-aminofenol, jest składnikiem wywoływaczy fotograficznych (Rodinal). p-Aminofenol tak jak glicynę i kwas sulfanilowy zalicza się do związków amfoterycznych z uwagi na obecność w jego cząsteczce ugrupowania o charakterze zasadowym – aminy aromatycznej oraz kwasowym – fenolu. W przeciwieństwie jednak do nich nie występuje w postaci jonu dwubiegunowego. Powodem tego, jest znacznie większa zasadowość sprzężonego do tego kwasu anionu fenolanowego od obecnej w cząsteczce aminy. Jest on najsilniejszą zasadą spośród słabych zasad, pochodnych aniliny, takich jak, sama anilina czy p-nitroanilina.

Acetylowanie bezwodnikiem octowym p-aminofenolu jest kolejnym przykładem reakcji substytucji związków acylowych (porównaj opisy acetanilidu, octanu etylu i acetyloglicyny), którą w tym przypadku można przedstawić za pomocą dwóch następujących po sobie etapów:



Etap pierwszy polega na przyłączeniu aminy do karbonylowego atomu węgla bezwodnika octowego z utworzeniem przejściowego, tetraedycznego produktu z nowym wiązaniem C-N. W reakcji tej p-aminofenol jest czynnikiem nukleofilowym, a bezwodnik octowy elektrofilowym.

Drugi etap polega na odszczepieniu kwasu octowego. Towarzyszy mu rozerwanie wiązania C-O i powstanie produktu – 4-hydroksyacetanilidu. Omawiana reakcja acetylowania przebiega w obecności wody jako towarzyszącego rozpuszczalnika. Jest to możliwe ze względu na znacznie mniejszą reaktywność wody w porównaniu z N-nukleofilową aminą w stosunku do bezwodnika octowego. W obecności wody można acylować także inne pochodne amin jak np. anilinę i glicynę (patrz Preparatyka Organiczna A. I. Vogel). Podczas gdy, słabsze O-nukleofile np. kwas salicylowy, etanol, czy glukoza, wymagają acetylowania w warunkach bezwodnych (z uwagi na konkurencję wody), a nawet, dodatkowo, użycia katalizatora. Mimo, iż prowadzona reakcja przebiega w warunkach uwodnionych, również i w tym przypadku obserwuje się powstawanie niepożądanego produktu O-acetylowania (I). Tworzeniu N,O-diacetylowej pochodnej (I) sprzyja bowiem użyty w nadmiarze bezwodnik octowy.



W takim przypadku obserwuje się niezgodność wartości temperatury topnienia produktu końcowego (4-hydroksyacetanilidu) z temperaturą literaturową. Otrzymany produkt jest bowiem zanieczyszczony domieszką dioctanu. Oczyszczanie produktu końcowego przeprowadza się poprzez rozpuszczenie produktu na zimno w roztworze wodorotlenku sodu. Wodorotlenek sodu hydrolizuje labilny ester fenolanu nie naruszając ugrupowania amidowego. Prowadzi to do powstania soli sodowej, którą przeprowadza się w czysty produkt (4-hydroksyacetanilid) dodając kwas np. HCl (patrz Preparatyka Organiczna A. I. Vogel). Acetaminofen jest nazwą często spotykaną (patrz katalogi firm np. Aldrich, Fluka) jednak niezgodną z zasadami nazewnictwa. Na jej podstawie trudno odtworzyć wzór związku, choć nazwa nawiązuje do elementów struktury.

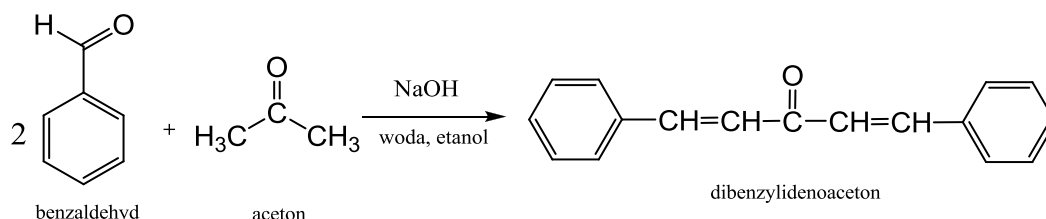
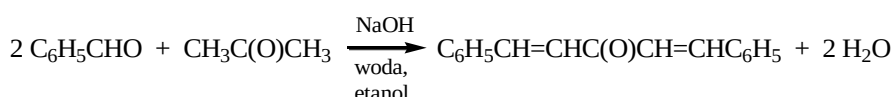
W kolbce okrągłodennej, zaopatrzonej w chłodnicę zwrotną, ogrzewamy do wrzenia przez 15 min. zawiesinę 5,5 g (0,05 mola p-aminofenolu) w 15 cm³ wody i 6 ml (ok. 0,06 mola) bezwodnika octowego. Ogrzewanie prowadzimy pod wyciągiem. W trakcie ogrzewania p-aminofenol rozpuszcza się całkowicie. Po ochłodzeniu mieszaniny, wytracają się kryształy surowego produktu. Jeśli kryształy nie powstają, dodajemy wodę, ciągle mieszając. Surowy produkt odsączamy na lejku Buchnera i przemywamy kilkakrotnie wodą. Otrzymany produkt rekrystalizujemy z około 40 ml wody i suszymy na powietrzu. Mierzmy temperaturę topnienia otrzymanych kryształów. Czysty 4-hydroksyacetanilid powinien topić się w zakresie 168-172°C.

KWAS BENZOESOWY i ALKOHOL BENZYLOWY

W kolbie stożkowej o poj. 250 ml rozpuszcza się 19,5 g (0,35 mola) wodorotlenku potasu w 27 ml wody. Po ochłodzeniu dodaje się do roztworu zasady 21,3g (20 ml, 0,2 mola) aldehydu benzoesowego. Kolbę zamyka się szczelnie korkiem i wstrząsa się energicznie tak długo, aż mieszanina przybierze konsystencję gęstej emulsji. Mieszaninę pozostawia się do następnych zajęć. Następnie dodaje się tylko taką ilość wody aby rozpuścić powstały benzoesan potasu (ok. 70 ml).

Utworzony roztwór przelewa się do rozdzielacza i ekstrahuje trzykrotnie eterem dietylowym. Należy popłukać eterem kolbkę stożkową, w której przebiegała reakcja. **Roztwór wodny należy zachować.** Połączone ekstrakty eterowe zatęża się na wyparce obrotowej do objętości ok. 20 ml. Roztwór eterowy wytrząsa się z dwoma porcjami nasyconego roztworu disiarczynu(IV) (pirosiarczynu) sodu w celu usunięcia nieprzereagowanego aldehydu benzoowego. Oddzieloną warstwę eterową przemywa się 10% roztworem węglanu sodu (w celu usunięcia pirosiarczynu) oraz wodą. Suszy się bezw. siarczanem magnezu. Po odsączeniu środka suszącego roztwór zatęża się na wyparce obrotowej a pozostałość destyluje (można przeprowadzić destylację prostą lub destylację pod zmniejszonym ciśnieniem. T.wrz. 204-206°C, wyd. 8,6g (86,5%). Pozostawioną po ekstrakcji eterem warstwę wodną wylewa się, dodając do mieszaniny 53 ml stężonego kwasu solnego, 53 ml wody i 70g drobno pokruszonego lodu. Wytrącony kwas benzoowy odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem, przemywa niewielką ilością zimnej wody i krystalizuje z wody. Otrzymuje się 9 g (79%) bezbarwnych kryształów o t.t. = 121°C.

DIBENZYLIDENOACETON



Temperatura topnienia dibenzylidenoacetonu = 112-114°C

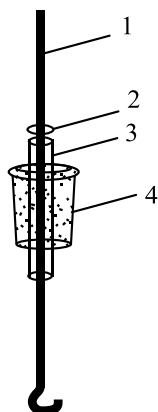
W kolbie kulistej o poj. 250 ml zaopatrzonej w mieszadło mechaniczne, termometr i wkraplacz oraz zanurzonej w łaźni wodnej, umieszcza się zimny roztwór 12,5 g (0,31 mol) wodorotlenku sodu w 110 ml wody i 100 ml etanolu¹⁾. W oddzielnym naczyniu przygotowuje się mieszaninę 13,25 g (12,7 ml, 0,125 mol) aldehydu benzoowego i 3,63 g (4,65 ml, 0,0625 mol) czystego acetonu. Połowę tej mieszaniny dodaje się do energicznie mieszanego roztworu w kolbie kulistej, utrzymując temperaturę w granicach 23-25°C. W ciągu 2-3 minut tworzy się kłaczkowaty osad. Po 15 minutach dodaje się pozostałą ilość mieszaniny aldehyd benzoowy-aceton i zawartość kolby miesza się jeszcze przez 30 minut. Zawartość kolby wylewa się do dużej zlewki i dodaje, przygotowany wcześniej, zimny 50% roztwór kwasu octowego. Odczyn mieszaniny należy sprawdzać za pomocą papierka uniwersalnego aż do uzyskania pH~6. Uzyskany osad odsącza się pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Buchnera. Produkt przenosi się na szkiełko zegarkowe i suszy na powietrzu. Otrzymuje się 13,5 g (93%) surowego dibenzylidenoacetonu o tt. 105-107°C. Krystalizuje się go z etanolu (~6,5 ml EtOH/1 g związku), z dodatkiem węgla aktywnego (jeżeli jest to konieczne). Ług pokrystaliczny przenosi się do kolby okrągłodennej i zatęża na wyparce obrotowej do 1/3 początkowej objętości cieczy. Otrzymany osad odsącza się i uzyskuje II rzut.

Mierzy się temperaturę topnienia obydwu rzutów i określa ich czystość. Wydajność po krystalizacji wynosi ~70%, t.t. = 112-113°C.

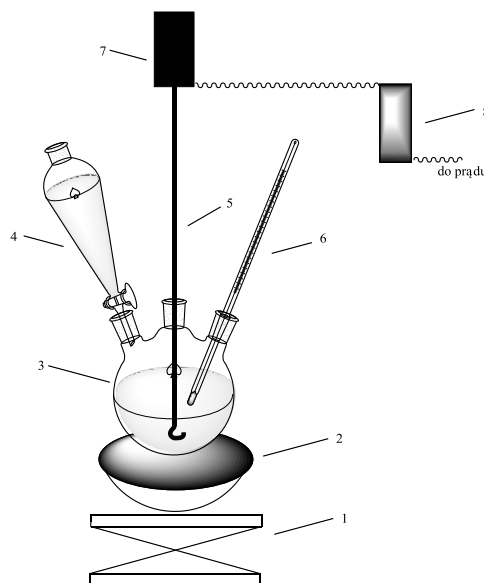
¹⁾ Etanol stosuje się w ilości niezbędnej do rozpuszczenia aldehydu benzoowego w mieszaninie reakcyjnej oraz do utrzymywania w roztworze początkowo utworzonego benzylidenoacetonu, w czasie potrzebnym na reakcję z drugą cząsteczką aldehydu benzoowego.

Zestaw aparatury do przeprowadzenia reakcji:

Mieszadło mechaniczne



1. pręt szklany,
2. gumka zabezpieczająca,
3. prowadnica (rurka szklana),
4. korek gumowy



1. podnośnik, 2. łaźnia chłodząca (tutaj – miska), 3. kolba reakcyjna (trójszyjna), 4. wkraplacz, 5. mieszadło mechaniczne, 6. termometr, 7. silniczek napędzający mieszadło, 8. transformator (do regulacji szybkości obrotów mieszadła).

UWAGA! Dla przejrzystości rysunku nie pokazano statywów i łap utrzymujących kolbę reakcyjną i wkraplacz

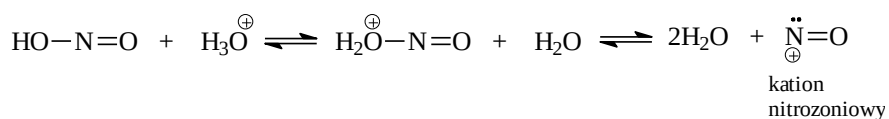
KWAS o-CHLOROBENZOESOWY

Przed przystąpieniem do wykonywania tego preparatu należy zapoznać się z przepisami dotyczącymi otrzymywania jodobenzenu (patrz poniżej).

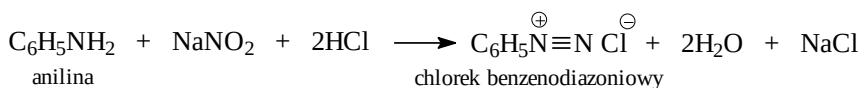
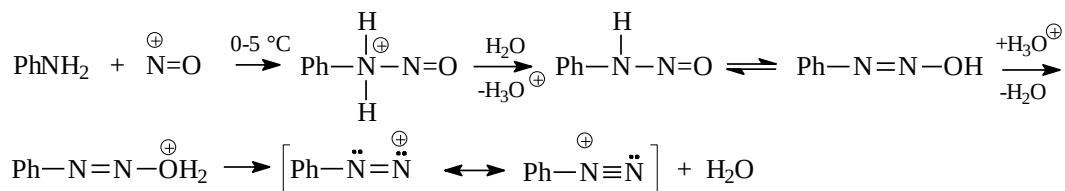
W roztworze 20 ml stężonego kwasu solnego w 100 ml wody rozpuszcza się 14 g (0,1 mola) kwasu antranilowego. Roztwór ochładza się do temperatury 0-5°C i diazuje, powoli dodając zimny roztwór 7g (0,1 mola) azotanu(III) (azotynu) sodu rozpuszczonego w 25 ml wody do czasu, aż reakcja wobec papierka jodoskrobiowego będzie pozytywna (patrz: otrzymywanie jodobenzenu). W tym czasie przygotowuje się roztwór chlorku miedzi(I). Rozpuszcza się 27,5 g (0,11 mola) pentahydratu siarczanu(IV) miedzi (II) i 7 g (0,12 mola) chlorku sodu w 100 ml gorącej wody. Do gorącego roztworu soli miedzi dodaje się roztwór 5,9 g (0,031 mola) disiarczanu(IV) (pirosiarczynu) sodu w 80 ml wody (nie należy przekraczać 50°C). Mieszaninę należy mieszać bagietką. Mieszaninę chłodzi się do temperatury pokojowej i dekantuje wodę z nad wytrąconego, bezbarwnego osadu chlorku miedzi(I). Do wilgotnego osadu dodaje się 50 ml stężonego kwasu solnego. Do zimnego roztworu chlorku miedzi(I) dodaje się, **bardzo ostrożnie**, roztwór soli diazoniowej. Reakcja zachodzi natychmiast, towarzyszy jej bardzo silne pienienie się mieszaniny. Surowy produkt odsącza się na lejku szklanym i przemywa niewielką ilością zimnej wody. Surowy produkt krystalizuje się z wody z dodatkiem alkoholu etylowego. W razie konieczności dodaje się węgla aktywnego, w celu usunięcia barwnych zanieczyszczeń i sączy na gorąco. Wydajność czystego kwasu o-chlorobenzoesowego wynosi 14g (87%), t.t. = 138-139C.

JODOBENZEN

Kwas azotawy [azotowy(III)] jest związkiem nietrwałym. Wytwarza się go bezpośrednio w środowisku reakcji działając na azotyn sodu silnym kwasem mineralnym, np. solnym lub siarkowym.

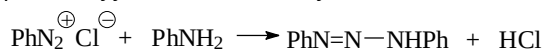


W warunkach reakcji kwas azotawy jest źródłem jonów nitrozoniowych, które natychmiast reagują z aminami. Produkt reakcji zależy od budowy aminy. Aromatyczne aminy pierwszorzędowe reagują z kwasem azotawym tworząc sole diazoniowe, które są trwałe w temperaturze 0-5 °C.



Ilość użytego do diazowania kwasu musi być większa (zwykle stosuje się 3 mole kwasu mineralnego na 1 mol diazowanej aminy) niż to wynika z równania stechiometrycznego (2 mole kwasu na 1 mol aminy). W silnie

kwaśnym środowisku amina w trakcie całego procesu diazowania występuje w postaci soli aniliniowej. Przy zbyt małym stężeniu kwasu następuje cofnięcie równowagi protonowania aminy, co prowadzi do sprzężenia powstałej już soli diazoniowej z substratem.



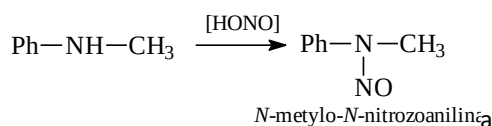
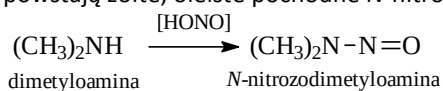
chlorek
benzenodiazoniowy

diazoaminobenzen

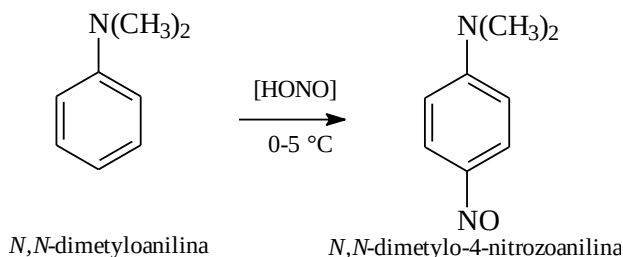
Dodanie kwasu, np. solnego cofa tę reakcję.

Podobnie reagują aminy pierwszorzędowe alifatyczne, ale powstające z nich sole diazoniowe są niestrawne i nawet w niskiej temperaturze samorzutnie rozkładają się z wydzielaniem cząsteczki azotu i utworzeniem karbokationu alkilowego, który następnie ulega różnym możliwym przegrupowaniom oraz reakcjom z różnymi, obecnymi w środowisku reakcji nukleofilami.

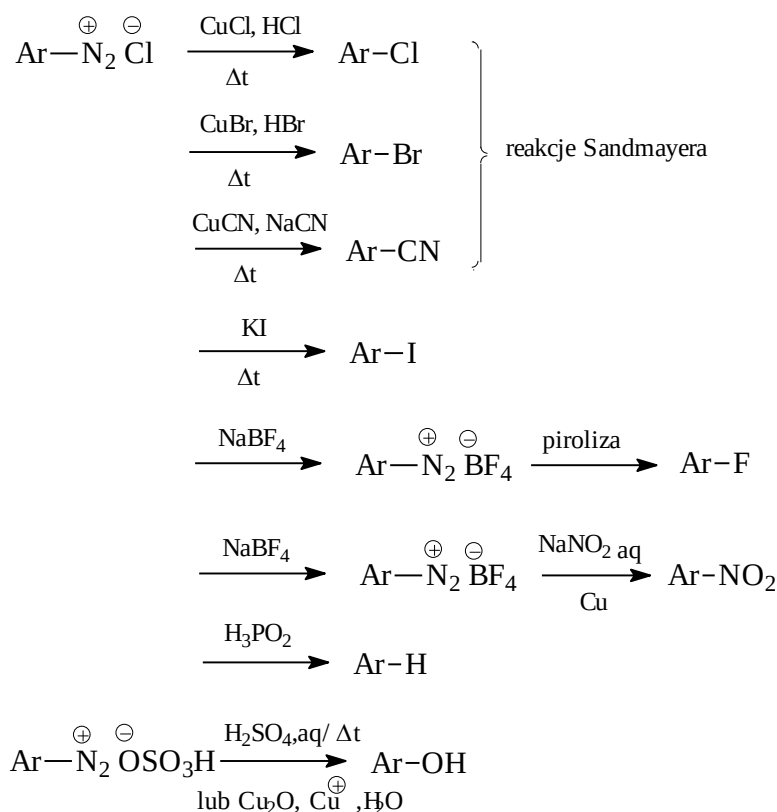
Aminy drugorzędowe alifatyczne i aromatyczne reagują z kwasem azotowym podobnie. W obu przypadkach powstają żółte, oleiste pochodne *N*-nitrozowe.



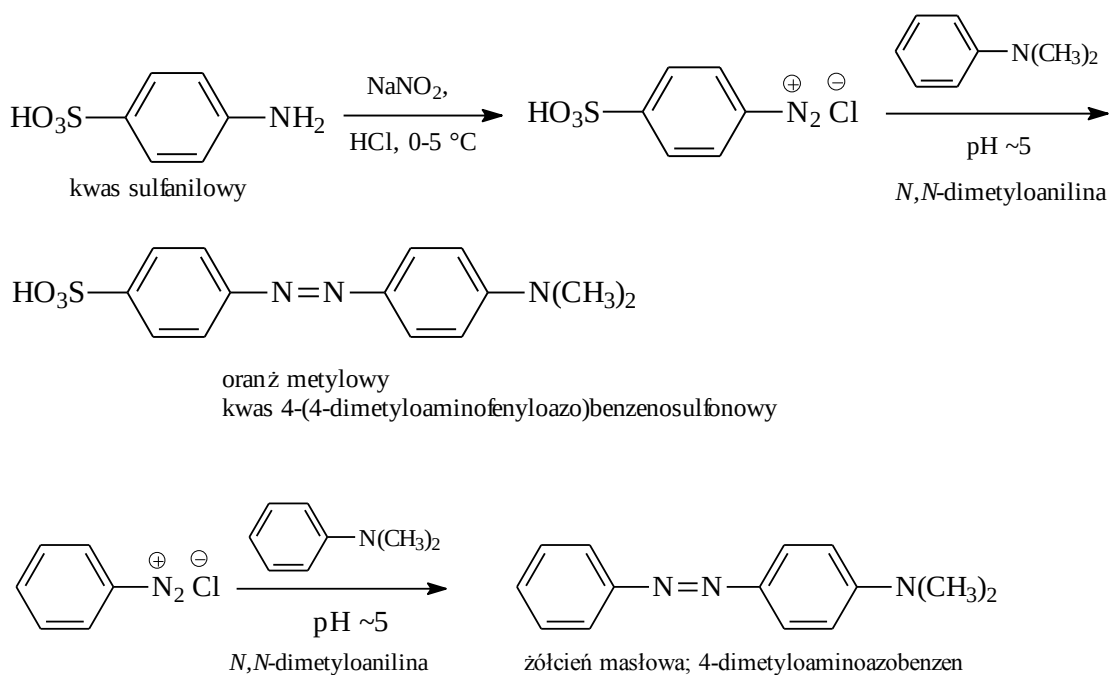
Aminy alifatyczne trzeciorzędowe reagują z kwasem azotowym dając złożoną mieszaninę produktów i dlatego reakcja ta nie ma znaczenia preparatywnego. Trzeciorzędowe aminy aromatyczne ulegają reakcji nitrozowania w pierścieniu (reakcja substytucji elektrofilowej) dając *p*-nitrozo podstawione pochodne.



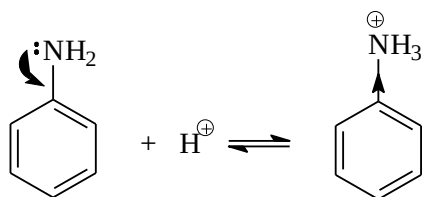
Grupę diazoniową można zastąpić innym podstawnikiem, np.:



Kation diazoniowy może brać udział w reakcji aromatycznej substytucji elektrofilowej. Jednak, ze względu na jego słabo elektrofilowy charakter, do zajścia reakcji niezbędne jest, aby pierścień aromatyczny reagującego z nim arenu miał znacznie zwiększoną gęstość elektronową. Dlatego reakcje S_E z udziałem kationu diazoniowego zachodzą tylko z pochodnymi aniliny i fenolanów. Reakcję tego typu nazywa się sprzęganiem. W jej wyniku powstają związki azowe, które w zależności od budowy posiadają różne barwy. Związki azowe są szeroko stosowane jako barwniki w przemyśle farbiarskim i spożywczym a także jako wskaźniki kwasowo-zasadowe.

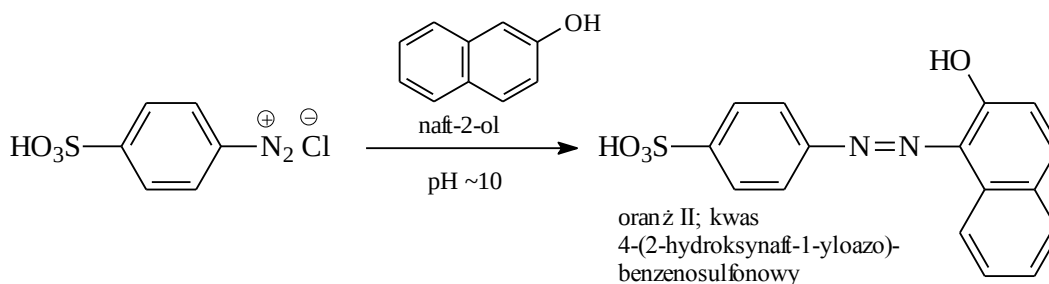


Z podanych przykładów można wywnioskować, że sole diazoniowe sprzęgają się z aminami w środowisku słabo kwaśnym. Przy zbyt niskim pH cała ilość aminy występuje w postaci soli aniliniowej, w której pierścień aromatyczny jest zubożony w elektrony (grupa $-NR_3^+$ jest podstawnikiem silnie elektronoakceptorowym), co uniemożliwia zajście reakcji ze słabym elektrofilem jakim jest kation arenodiazoniowy.



Z drugiej strony w środowisku zbyt alkalicznym sól diazoniowa przekształca się w kwas benzenodiazowy, $Ph-N=N-OH$, lub jego sól, $Ph-N=N-O^- Na^+$; żaden z tych związków nie ma właściwości elektrofilowych. Stwierdzono doświadczalnie, że sprzęganie soli diazoniowych z aminami osiąga maksymalną szybkość przy pH 5-9.

W przypadku sprzęgania z fenolami korzystniejsze jest środowisko słabo zasadowe (pH ~ 10), w którym fenole występują w postaci anionów fenolanowych; pierścień aromatyczny anionu jest silniej wzbogacony w elektrony niż sam fenol, dlatego łatwiej ulega reakcji S_E z kationem diazoniowym.



Reakcję wykonuje się pod wyciągiem.

W kolbie kulistej poj. 500 ml z trzema szyjami zaopatrzonej w mieszadło mechaniczne, termometr sięgający poniżej górnego poziomu mieszaniny reakcyjnej i wkraplacz z wyrównywaczem ciśnienia rozpuszcza się 9,3 g (9,0 ml, 0,1 mol) aniliny w mieszaninie 25,5 ml stęż. kwasu solnego (1) i 25,5 ml wody. Kolbę zanurza się w łaźni z pokruszonym, obficie posolonym lodem i niewielką ilością wody; roztwór chłodzi się mieszając do temp. poniżej 5 °C. Sporządza się roztwór 7,5 g (0,106 mol) azotynu sodu w 75 ml wody i chłodzi go w łaźni lodowej i umieszcza we wkraplaczu. Wkraplacza nie należy zamykać korkiem, aby ciśnienie w kolbie mogło się bez przeszkód wyrównywać z atmosferycznym. (Zamiast wkraplacza z wyrównywaczem ciśnienia można też użyć rozdzielacza. Należy go tak zamocować, aby między nóżką a ścianką szyi kolby była szczelina umożliwiająca wyrównywanie ciśnienia). Roztwór azotynu sodu wkrapla się następnie (2) do chłodzonego i energicznie mieszanego roztworu chlorowodoru aniliny. W trakcie reakcji wydzielą się ciepło. Nie należy dopuścić do tego, aby temperatura mieszaniny reakcyjnej wzrosła powyżej 5 °C (jeśli zajdzie potrzeba, do kolby można dodać kilka kawałków lodu); w przeciwnym razie związek diazoniowy i kwas azotawy rozłożą się w znacznym stopniu. Ostatnie ok. 5% roztworu azotynu sodu dodaje się małymi porcjami. Po 3–4 min mieszania od dodania porcji, kroplę mieszaniny reakcyjnej (rozcieńczoną 3–4 kroplami wody) bada się za pomocą papierka jodowoskrobiowego (3); jeśli nie zaobserwuje się natychmiastowego niebieskiego zabarwienia papierka w miejscu zetknięcia z roztworem, do mieszaniny reakcyjnej należy dodać nową porcję roztworu azotynu. Po 3–4 min ponownie wykonuje się test z papierkiem jodowoskrobiowym. W ten sposób postępuje się do momentu, aż mieszanina reakcyjna będzie zawierać niewielki, utrzymujący się w czasie nadmiar kwasu azotawego. Kwas azotawy ma właściwości utleniające; utlenia np. jony jodkowe do jodu: $2NaI + 2NaNO_2 + 4HCl \rightarrow I_2 + N_2O_2 + 4NaCl + 2H_2O$. (Ta reakcja jest podstawą działania papierków jodowoskrobiowych. Są one nasączone jodkiem sodu i skrobią. W obecności utleniacza powstaje jod tworzący ze skrobią fioletowy kompleks.) Obecność zbyt dużego nadmiaru kwasu azotawego byłaby więc niepożądana w następnym etapie syntezy. Dlatego do

mieszaniny reakcyjnej dodaje się mocznik w takiej ilości, aby test z papierkiem jodaskrobiowym był negatywny. Mocznik reaguje z kwasem azotawym zgodnie z równaniem: $\text{H}_2\text{NCONH}_2 + 2\text{HNO}_2 \rightarrow \uparrow 2\text{N}_2 + \uparrow \text{CO}_2 + 3\text{H}_2\text{O}$.

Do mieszanego roztworu chlorku benzenodiazoniowego dodaje się powoli roztwór 16,7 g (0,105 mol) jodku potasu w 40 ml wody. Obserwuje się wydzielanie azotu. Mieszaninę pozostawia się na kilka godzin. Kolbę zaopatruje się w chłodnicę i ostrożnie ogrzewa na wrzącej łaźni wodnej do chwili, gdy przestanie wydzielać się gaz. (Jeśli mieszanina jest pozostawiona na dłuższy okres czasu ogrzewanie jest zbędne.) Po ochłodzeniu górną warstwę wodną dekantuje się możliwie dokładnie, a pozostałość w kolbie wstrząsając alkalizuje, ostrożnie dodając taką ilość 10-proc. roztworu wodorotlenku sodu, aby kropla mieszaniny (pobrana za pomocą szklanej bagietki) zabarwiła papierek wskaźnikowy na niebiesko. Fenol obecny w mieszaninie jest za pomocą wodorotlenku przekształcany w fenolan sodu: $\text{C}_6\text{H}_5\text{OH} + \text{NaOH} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_5\text{ONa} + \text{H}_2\text{O}$, który (w przeciwieństwie do fenolu) nie jest lotny z parą wodną. Kolbę umieszcza się w zestawie do destylacji z parą wodną; boczne szyje kolby należy zatkać korkami (patrz opis destylacji z parą wodną powyżej)). Destylację prowadzi się do czasu, gdy z chłodnicy zacznie spływać jednorodna ciecz – woda. Destylat przenosi się do rozdzielacza, dolną warstwę jodobenzenu zlewa się do małej kolbki stożkowej. Surowy jodobenzen powinien mieć barwę jasnożółtą. Jeżeli jest ciemny (zabarwienie pochodzi zwykle od rozpuszczonego jodu), to zawraca się go do rozdzielacza i wytrząsa z niewielką ilością roztworu pirosiarczyny sodu ($2\text{I}_2 + \text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5 + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow 4\text{HI} + 2\text{NaHSO}_4$), aż do zmiany barwy na jasnożółtą. Po oddzieleniu jodobenzenu od warstwy wodnej do czystej erlenmajerki suszy się go bezwodnym chlorkiem wapnia lub siarczanem magnezu (1 g) i sący przez sączek karbowany do małej kolbki destylacyjnej zaopatrzonej w krótką chłodnicę. Destyluje się (można dodać małą ilość pyłu miedzi) z czaszy grzejnej zbierając frakcję wrzącą w temp. 185–190 °C (4). Wydajność jodobenzenu (w postaci prawie bezbarwnej cieczy) wynosi 15 g (74 %); na słońcu (świecie) związek stopniowo żółknie.

Uwagi. (1) Podczas obliczania ilości kwasu potrzebnego do reakcji diazowania warto pamiętać, że 100 ml stężonego kwasu solnego (*d* 1,18) zawiera 42,4 g HCl, a 100 ml stężonego kwasu siarkowego (*d* 1,84) – 176 g H_2SO_4 .

(2) Szczególnie przy produkcji na dużą skalę, wskazane jest dodawanie roztworu azotynu sodu z wkraplacza, umieszczonego w taki sposób, aby koniec nóżki był zanurzony głęboko pod powierzchnię cieczy. Wówczas zapobiega się stratom kwasu azotawego, na skutek rozkładu do tlenków azotu zachodzącego na powierzchni cieczy.

(3) Jakość papierków jodowskrobiowych należy sprawdzić za pomocą zakwaszonego roztworu azotynu sodu. Zdarza się, że dostępne w handlu papierki jodowskrobiowe stają się bezużyteczne, jeśli są zbyt długo przechowywane. Roztwór musi przez cały czas zawierać nadmiar kwasu mineralnego, tzn. barwić na czerwono papierek uniwersalny.

(4) Jodobenzen lepiej jest destylować pod zmniejszonym ciśnieniem i zbierać frakcję wrzącą w temp. 77–80 °C/20 mmHg lub 63–64 °C/8 mmHg.

p-JODONITROBENZEN

Przed przystąpieniem do wykonywania tego preparatu należy zapoznać się z przepisami dotyczącymi otrzymywania jodobenzenu i kwasu o-chlorobenzoowego (patrz powyżej).

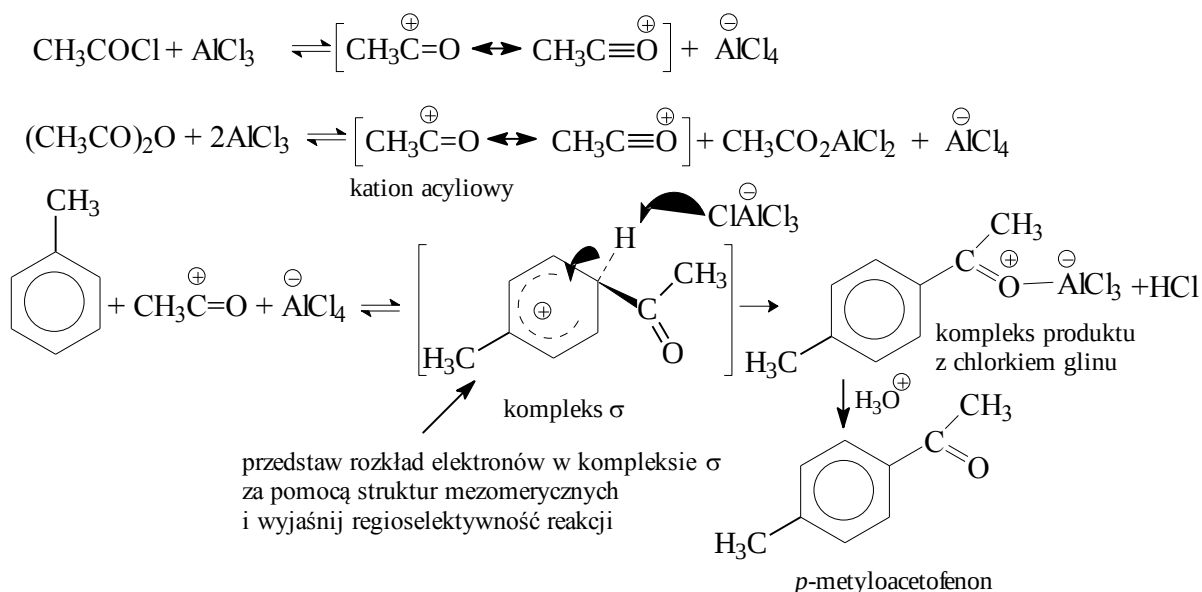
Mieszaninę 8,3 g (0,06 mol) *p*-nitroaniliny, 12,5 g (6,8 ml) stężonego kwasu siarkowego i 50 ml wody miesza się przez 1 godz., a następnie ochładza do temp. 0–2 °C i diazuje stosując 4,1 g (0,06 mol) azotynu sodu w 12,5 ml wody. Zimny roztwór szybko sący się do zimnej kolby ssawkowej (można trzymać kolbę ssawkową w wodzie z lodem). Przesąc przenosi się do zimnej erlenmajerki zawierający magnetyczny element mieszający i mieszając na mieszadle magnetycznym dodaje do niego roztwór 16,5 g (0,09 mol) jodku potasu w 50 ml wody. Wydzielone ciało stałe odsąca się pod zmniejszonym ciśnieniem i krystalizuje z etanolu. Ług pokrystaliczny zatęża się na wyparce obrotowej do ½ objętości wyjściowej cieczy i po

ochłodzeniu odsączają się kryształy stanowiące tzw. II rzut. Mierzy się temperaturę topnienia obydwu rzutów i porównuje ich czystość. Wydajność *p*-jodonitrobenzenu wynosi 12 g (80%), t.t. = 171-173°C.

***p*-METYLOACETOFENON**

Reakcja acylowania metodą Friedla-Craftsa.

Jest to reakcja substytucji elektrofilowej. Reagentem acylującym jest w niej bezwodnik kwasu karboksylowego lub chlorek acylu. Bezwodnik kwasowy (podobnie jak chlorek kwasowy) ma właściwości zasady Lewisa dzięki obecności nie zaangażowanych w wiązania par elektronów na atomach tlenu (i chloru). Oddziaływanie kwasu Lewisa, chlorku glinu, z którymkolwiek z tych atomów zwiększa polaryzację odpowiedniego wiązania a tym samym zwiększa elektrofilowość karbonylowego atomu węgla. Należy zatem oczekiwać, że kompleksy tego typu ($\text{RCOCl} \rightarrow \text{AlCl}_3$), chociaż mniej reaktywne od będącego z nimi w równowadze wolnego jonu acyliowego, mogą również pełnić rolę elektrofila w reakcji acylowania.



Odmienne niż w reakcji alkirowania, chlorek glinu jest nie tylko katalizatorem, ale także reagentem ponieważ tworzy trwały kompleks z powstającym produktem. Z tego powodu do reakcji acylowania używa się **1,1 mol AlCl_3** na 1 mol chlorku kwasowego lub **2,1 mol AlCl_3** na 1 mol bezwodnika.

$$\begin{array}{l} \text{C}_6\text{H}_6 + \text{CH}_3\text{COCl} + \text{AlCl}_3 \xrightarrow{\text{AlCl}_3} \text{C}_6\text{H}_5\text{C}\overset{\oplus}{\underset{\text{CH}_3}{=}}\overset{\ominus}{\text{O}-\text{AlCl}_3} + \text{HCl} \\ \qquad \qquad \qquad \searrow \text{HCl}_{\text{aq}} \\ \text{C}_6\text{H}_5\text{C(O)CH}_3 \\ \text{acetofenon} \\ \text{C}_6\text{H}_6 + (\text{CH}_3\text{CO})_2\text{O} + 2\text{AlCl}_3 \xrightarrow{\text{AlCl}_3} \text{C}_6\text{H}_5\text{C}\overset{\oplus}{\underset{\text{CH}_3}{=}}\overset{\ominus}{\text{O}-\text{AlCl}_3} + \text{CH}_3\text{COOAlCl}_2 + \text{HCl} \end{array}$$

Reakcję wykonuje się pod wyciągiem.

21

należy go zsunąć do roztworu za pomocą suchej bagietki wyjmując na chwilę wkraplacz. Po wkropleniu całej ilości bezwodnika kolbę ogrzewa się na wrzącej łaźni wodnej do czasu aż przestanie wydzielać się chlorowodór (ok. 30 min). W tym czasie reakcja przebiega do końca. Następnie zawartość kolby chłodzi się i wylewa do zlewki, w której znajduje się mieszanina 80 g pokruszonego lodu i 75 ml stęż. kwasu solnego. Następuje rozkład kompleksu produktu z chlorkiem glinu. Reakcja jest silnie egzotermiczna dlatego wskazane jest mieszanie zawartości zlewki bagietką. W razie potrzeby można do zlewki dodać kawałki lodu. Zawartość zlewki składa się z dwóch warstw ciekłych; ciemnej górnej będącej roztworem *p*-metyloacetofenonu w toluenie (toluen ma gęstość mniejszą niż woda) i jasnej dolnej zawierającej roztwór soli glinu w rozcieńczonym kwasie solnym. Niekiedy z warstwy wodnej wytrącają się sole nieorganiczne. Należy wtedy dodać wody w ilości wystarczającej do ich rozpuszczenia. Mieszaninę przelewa się do rozdzielacza i oddziela górną warstwę. Warstwę wodną zawraca się do rozdzielacza i ekstrahuje 60-80 ml eteru etylowego lub toluenu (patrz: opis dotyczący ekstrakcji przy otrzymywaniu octanu etylu). Ekstrakcję powtarza się jeszcze raz. Ekstrakty eterowe (toluenowe) łączy się z roztworem toluenowym i przemywa w rozdzielaczu 50 ml 10 proc. roztworu wodorotlenku sodu (dla uniknięcia tworzenia się emulsji można użyć roztwór Na_2CO_3 ; warstwa wodna po przemyciu powinna wykazać odczyn alkaliczny), a następnie wodą. Oddzielone warstwy organiczne suszy się bezw. siarczanem magnezu lub chlorkiem wapnia. Po odsączeniu środka suszącego na sączku karbowanym eter i toluen oddestylowuje się na wyparce obrotowej. Montuje się zestaw do destylacji próżniowej i sprawdza szczelność pustego układu. Pozostałość przenosi się do kolby Claisena stanowiącej część zestawu do destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem. Należy uważać aby kamyki wrzenne nie dostały się do kolby destylacyjnej. Podłącza się wąż gumowy do układu i włącza pompę próżniową. Po ustaleniu się ciśnienia w aparaturze wyznacza się za pomocą diagramu spodziewaną temperaturę wrzenia wiedząc, że pod ciśnieniem atmosferycznym wynosi ona 225°C . Wskazane jest owinięcie deflegmatora kartką papieru lub taśmą izolacyjną. Na początku destylują resztki toluenu. Z powodu dużej prężności par tego rozpuszczalnika ciśnienie w aparaturze może nieco wzrosnąć. Kiedy temperatura oparów zbliży się do temperatury wrzenia oszacowanej dla danego ciśnienia (ze względu na dokładność wyznaczania rzeczywista temperatura wrzenia może się różnić o kilka stopni od oszacowanej) i przestanie wzrastać przekręca się „krówkę” tak, aby produkt spływał do starowanej uprzednio kolby. Destylację prowadzi się do momentu, kiedy temperatura oparów znacznie wyraźnie wzrastać lub kiedy w kolbie destylacyjnej pozostanie ok. 1 ml cieczy (nie należy wydestylowywać cieczy „do sucha”, boczne ścianki kolby destylacyjnej niedostatecznie zwilżone cieczą nagrzewają się do wysokiej temperatury, w zetknięciu z nimi spływające z deflegmatora ciecz może ulec rozkładowi). Usuwa się wtedy czasę grzejną i pozostawia kolbę do ostygnięcia. Zapowietrza się aparaturę ostrożnie zdejmując wąż z tubusa „krówki”. Należy zwrócić uwagę, aby kolby z przedgonem i produktem nie zsunęły się ze szlifów „krówki”. Zwykle otrzymuje się ok. 14.5 g produktu, wyd. 86%. Należy pamiętać o zapisaniu parametrów dotyczących temperatury wrzenia (pod określonym ciśnieniem) zbieranego przedgonu i frakcji głównej.

Przykładowy opis:

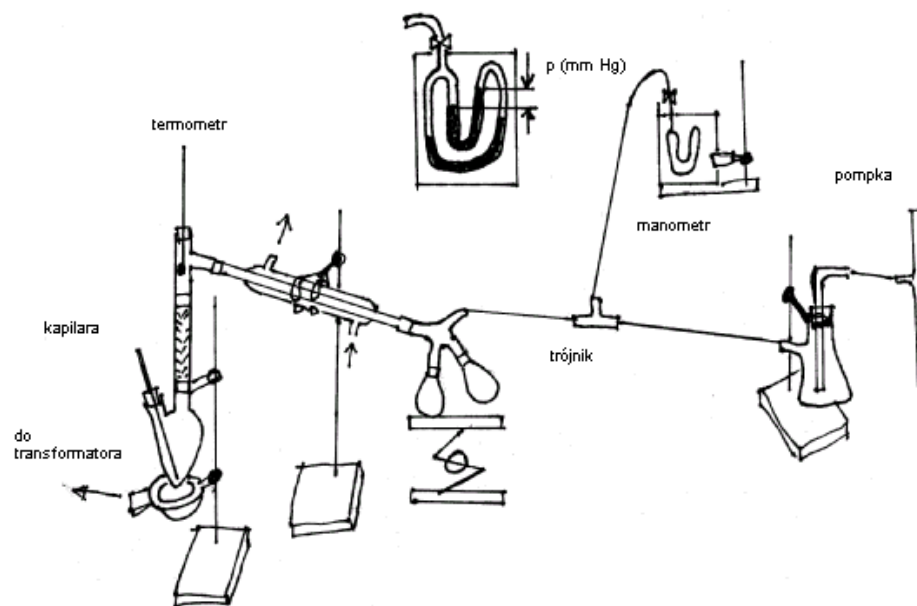
t.wrz. przedgonu = AA-BB $^\circ\text{C}$ /DD mmHg

t.wrz. produktu = EE-FF $^\circ\text{C}$ /GG mmHg

DESTYLACJA POD ZMNIEJSZONYM CIŚNIENIEM (DESTYLACJA PRÓŻNIOWA)

Wiele substancji chemicznych ma bardzo wysoka temperaturę wrzenia. Często ich destylacja pod normalnym ciśnieniem jest bardzo trudna lub wręcz niemożliwa gdyż ulegają one rozkładowi. Należy wtedy zastosować destylację pod zmniejszonym ciśnieniem co skutkuje niższą temperaturą wrzenia. Najczęściej stosowany zakres ciśnień to 0,1-30 mmHg co stanowi 0,13-39,9 hPa (1 mmHg = 1,33 hPa). Do uzyskania takiego podciśnienia stosuje się pompki wodne i pompy olejowe.

Montuje się zestaw do destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem wg rysunku, a w kolbie Claisena umieszcza surowy związek, z którego usunięto uprzednio, za pomocą destylacji prostej, równowagowej lub wyparki obrotowej, rozpuszczalnik. Po zaakceptowaniu przez asystenta zestawu do destylacji pod zmniejszonym ciśnieniem uruchamia się pompę próżniową (wodną lub membranową). Po ustaleniu się i zmierzeniu ciśnienia w aparaturze wyznacza się za pomocą diagramu spodziewaną temperaturę wrzenia związku. Wskazane jest owinięcie deflegmatora kartką papieru lub taśmą izolacyjną. Na początku często destylują resztki rozpuszczalnika. Z powodu dużej prężności par rozpuszczalnika ciśnienie w aparaturze może nieco wzrosnąć. Sprawdzamy to otwierając co jakiś czas kran manometru. (Kran ten powinien być zamknięty podczas destylacji. Otwiera się go tylko na czas pomiaru ciśnienia.) Kiedy temperatura oparów zbliży się do temperatury wrzenia oszacowanej dla danego ciśnienia (ze względu na dokładność wyznaczania rzeczywista temperatura wrzenia może się różnić o kilka stopni od oszacowanej) i przestanie wzrastać przekręca się „krówkę” tak, aby produkt spływał do starowanej uprzednio kolby. Destylację prowadzi się do momentu, kiedy temperatura oparów zacznie wyraźnie wzrastać lub kiedy w kolbie destylacyjnej pozostanie ok. 1 ml cieczy (nie należy destylować cieczy „do sucha”. Boczne ścianki kolby destylacyjnej niedostatecznie zwilżone cieczą nagrzewają się do wysokiej temperatury. W zetknięciu z nimi spływające z deflegmatora ciecz może ulec rozkładowi.) Usuwa się wtedy czaszę grzejną i pozostawia kolbę do ostygnięcia. Zapowietrza się aparaturę ostrożnie zdejmując wąż z tubusa „krówki”. Należy zwrócić uwagę, aby w tym czasie kran manometru był zamknięty oraz aby kolby z przedgonem i produktem nie zsunęły się ze szlifów „krówki”. Dopiero wtedy można zakręcić kran pompki wodnej i ostrożnie zapowietrzyć manometr.



Odsyłacze do Internetu:

<https://www.youtube.com/watch?v=3JIIPnyrZMw> – destylacja pod normalnym ciśnieniem

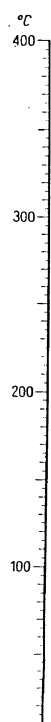
<https://www.youtube.com/watch?v=k9HUMX2TVMg> – destylacja pod normalnym ciśnieniem

<https://www.youtube.com/watch?v=bTGPWET-SWo>

Diagram zależności temperatury wrzenia pod zmniejszonym ciśnieniem od temperatury wrzenia pod ciśnieniem atmosferycznym i wartości ciśnienia, przy którym prowadzi się destylację.

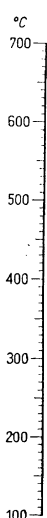
a)

temperatura wrzenia
pod zmniejszonym
ciśnieniem (P)



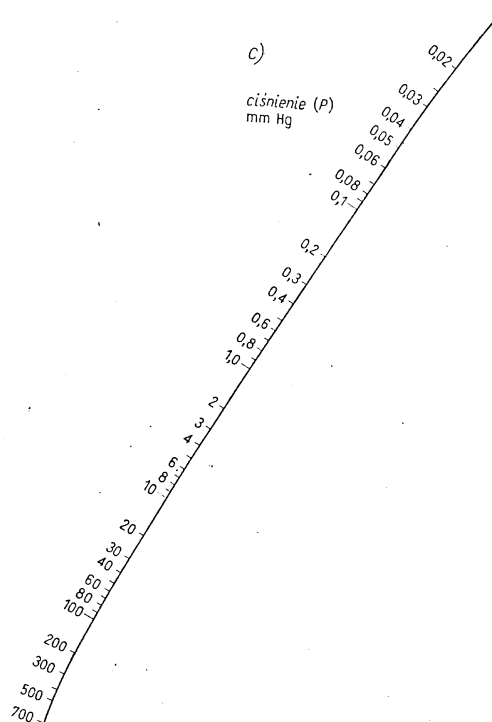
b)

temperatura wrzenia
pod ciśnieniem
760 mm Hg
lub skorygowana
do tego ciśnienia

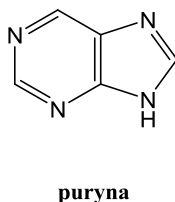
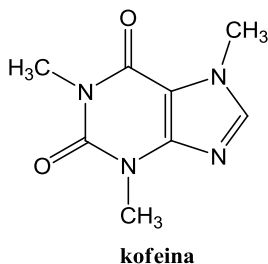


c)

ciśnienie (P)
mm Hg



WYDZIELANIE KOFEINY z herbaty



Kofeina jest pochodną puryny, dlatego w literaturze chemicznej można spotkać jej nazwy systematyczne wywiedzione od tej zasady azotowej: 1,3,7-trimetylo-3,7-dihydropuryno-2,6-dion, 1,3,7-trimetyloksantyna (ksantyna = 2,6-dihydroksypuryna). Jest to alkaloid, który występuje w wielu roślinach, m.in. w herbacie, kawie, kamelii chińskiej (*Camelia sinensis*), liściach mate (*Ilex paraguayensis*), guaranie (*Paulius cupan*), orzeszkach cola. Kofeina jest silnym stymulatorem centralnego układu nerwowego, związkiem uzależniającym, jedną z najpopularniejszych używek ze względu na obecność w kawie, herbacie i napojach orzeźwiających.

Ilość kofeiny w 355 cm³ porcji napoju¹

Napój mg ^a	
Coke	27.0±1.6
Diet Coke	43.9±2.5
Pepsi	31.4±1.6
Mountain Dew (Górska rosa)	39.0±1.7
Caffeine-Free Diet Coke	b
Herbata	110±15
Kawa	164±17

^a przeciętna z trzech oznaczeń ± odchylenie standardowe przy użyciu kapilarnej elektroforezy strefowej

^b poniżej poziomu wykrywalności

¹ Conte, E.D.; Barry, E.F.; Rubinstein, H. J. Chem. Educ. 1996, 73, 1169

Stosuje się ją w medycynie m.in. w leczeniu astmy i migren, do podwyższania ciśnienia krwi oraz jako środek moczopędny. Kofeina jest toksyczna. Podana doustnie, śmiertelna dawka dla przeciętnego dorosłego człowieka wynosi 10 g². Rozpuszczalność kofeiny w 100g wody w 25°C wynosi 2,1 g; w temp. 40°C 4,6g, w etanolu 1,05 g /100 g (25°) w chloroformie 12,5 g /100g(25°)

² Le Couteur P.; Burreson J. Guziki Napoleona. Jak 17 Cząsteczek Zmieniło Historię. Wyd. Twój Styl, Warszawa 2004

Do izolacji wykorzystuje się różnice w podziale kofeiny pomiędzy niemieszające się fazy: chloroform i wodę. Proces ekstrakcji przebiega w dwóch etapach. Pierwszy, polega na otrzymaniu esencji herbacianej (ekstrakcji ciała stałe – ciecz), w jego trakcie oddzielona zostaje również część tanin. Te ostatnie, to złożone polifenole, które podobnie jak kofeina rozpuszczają się w wodzie. W celu ich usunięcia dodaje się związki z dwuwartościowym kationem metalu (takie np. jak: MgO, Pb(CH₃CO₂)₂, Ca(OH)₂), z którymi taniny dają nierozpuszczalne w wodzie połączenia i mogą być odsączone. Drugi etap polega na ekstrakcji

kofeiny chloroformem CHCl_3 z esencji herbacianej (ekstrakcja ciecz – ciecz). Współczynnik podziału kofeiny pomiędzy CHCl_3 i fazy wodne wynosi w przybliżeniu 9.

Oznacza to, że przy jednakowej objętości wody i chloroformu 90% kofeiny znajdzie się w warstwie chloroformowej. Należy zwrócić uwagę, iż w ok. 0,01 M kwasie siarkowym kofeina nie wykazuje właściwości zasadowych, natomiast w ok. 0,5 M H_2SO_4 prawie cała kofeina ulega protonowaniu, a więc występuje w formie kationu (soli). Sole mają duże powinowactwo do wody i w związku z tym współczynnik podziału k zmniejsza się do ok. 2, ograniczając znacznie efektywność ekstrakcji. Stąd nie należy nadmiernie zakwaszać warstwy wodnej przed ekstrakcją chloroformem ale dodawać kwas siarkowy do pH~2 (kontrola papierkiem uniwersalnym). Przemywanie połączonych ekstraktów chloroformowych 3 M roztworem NaOH ma na celu usunięcie z warstwy CHCl_3 resztki tanin, które nie wytrąciły się w pierwszym etapie oczyszczania. Wodę usuwa się susząc ekstrakt bezwodnym MgSO_4 .

Do zlewki (500 cm^3) z 20 torebkami herbaty oraz 20 gramami MgO , wlewamy gorącą wodę (300 cm^3) i gotujemy przez 10-15 minut. Roztwór znad torebek dekantujemy, sącąc na gorąco na lejku Büchnera. Torebki starannie wyciskamy, nie dopuszczając do ich pęknięcia. Operację z torebkami powtarzamy dwukrotnie używając za każdym razem 100 cm^3 gorącej wody. Następnie, połączone ekstrakty wodne, zakwaszamy 10% H_2SO_4 nie przekraczając pH~2 (kontrola papierkiem uniwersalnym). Otrzymany roztwór sącymy pod zmniejszonym ciśnieniem na lejku Büchnera, przez podwójną warstwę bibuły. Jeśli odsączony roztwór nadal jest mętny, ponawiamy sączenie przez około 1,5 centymetrową warstwę Celitu, umieszczoną na lejku.

Filtrat przenosimy do rozdzielacza (500 cm^3) i ekstrahujemy trzema kolejnymi porcjami chloroformu (3 razy po 25 cm^3). Połączone ekstrakty organiczne przenosimy ponownie do rozdzielacza, przemywamy 5 cm^3 3 M wodnego roztworu NaOH, a następnie dwukrotnie 5 cm^3 wody. Warstwę organiczną przenosimy do kolby stożkowej zaopatrzonej w korek, po czym suszymy przez co najmniej 30 minut bezwodnym MgSO_4 . Następnie, w celu usunięcia środka suszącego, roztwór sącymy na szklanym lejku z sączkiem karbowanym do suchej kolby kulistej (250 cm^3). Rozpuszczalnik oddestylowujemy za pomocą wyparki obrotowej pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość po destylacji wypłukujemy możliwie jak najmniejszą ilością acetonu i ekstrakt odpipetowujemy do mniejszej kolbki okrągłodennej lub odpowiedniej probówki w zależności od sposobu dalszego oczyszczania surowej kofeiny (krystalizacja lub sublimacja). Następnie, usuwamy aceton odparowując go na wyparce lub wydmuchując suszarką. Otrzymaną surową kofeinę krystalizujemy z alkoholu etylowego i wody zmieszanych w stosunku 1:3. Na 1 g krystalizowanej substancji używamy około 4 cm^3 rozpuszczalnika. Otrzymujemy igły o temperaturze topnienia 234°C . W przypadku, gdy związek nie krystalizuje, roztwór zatężamy. W przypadku oczyszczania drogą sublimacji odparowaną, surową kofeinę zeskrobujemy bagietką ze ścianek probówki na jej dno. Wewnątrz probówki umieszczamy drugą (zestaw udostępnia laborant), zachowując między nimi odstęp. Po umocowaniu zestawu w łapie, wewnętrzną probówkę wypełniamy zimną wodą za pomocą pipety Pasteur'a i zestaw ogrzewamy od spodu czaszą grzejącą, utrzymując surową kofeinę w stanie stopionym. W razie potrzeby wymieniamy wodę chłodzącą za pomocą pipety. Kiedy wysublimowana kofeina osadzi się na zewnętrznej powierzchni wewnętrznej probówki, ostrożnie, tak by kryształki wysublimowanej kofeiny nie opadły na dno, odstawiamy grzanie. Po zakrzepnięciu pozostałej na dnie surowej kofeiny, wodę z wewnętrznej probówki odpipetowujemy. Po tym zestaw przechylamy, wewnętrzną probówkę wysuwamy i przenosimy nad kawałek bibuły zeskrobując na nią przesublimowaną kofeinę. Sublimację można powtórzyć z pozostałą na dnie zewnętrznej probówki surową kofeiną.