

ŠOLSKI CENTER CELJE, SREDNJA ŠOLA ZA KEMIJO, ELEKTROTEHNIKO IN
RAČUNALNIŠTVO

IZOLACIJA UČINKOVIN IZ ROŽMARINA Z EKSTRAKCIJO IN PARNO DESTILACIJO IN ANALIZA PRODUKTA

Raziskovalna naloga

Avtor: Matej Antolić, 4. letnik Mentorica: Mojca Drofenik Čerček, univ. dipl. ing. kem. teh

Celje, marec 2013

ŠOLSKI CENTER CELJE, SREDNJA ŠOLA ZA KEMIJO, ELEKTROTEHNIKO IN
RAČUNALNIŠTVO

IZOLACIJA UČINKOVIN IZ ROŽMARINA Z EKSTRAKCIJO IN PARNO DESTILACIJO IN ANALIZA PRODUKTA

Raziskovalna naloga

Avtor: Matej Antolić, 4. letnik

Mentorica: Mojca Drofenik Čerček, univ. dipl. ing. kem. teh

Mestna občina Celje, Mladi za Celje
Celje, 2013

Kazalo

1 Povzetek.....	8
2 Abstract.....	8
3 Uvod.....	9
4 Teoretične osnove	10
4.1 Eterična olja.....	10
4.1.1 Uporaba eteričnih olj v zgodovini	10
4.1.2 Splošno.....	10
4.1.3 Delovanje eteričnih olj	11
4.2 Rožmarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	12
4.2.1 Zgodovina.....	12
4.2.2 Splošno.....	12
4.2.3 Uporaba.....	13
4.2.4 Rosmanol.....	13
4.2.5 Karnosol	14
4.2.6 Rožmarinska kislina.....	14
4.2.6.1 Lastnosti in uporaba.....	14
4.2.6.2 Rastlinski viri.....	15
4.3 Ekstrakcijska topila	15
4.3.1 Etanol.....	15
4.3.2 Diklorometan (metilen klorid).....	16
4.3.3 Toluен	16
4.4 Postopki in metode dela	16
4.4.1 Določanje topnosti	16
4.4.2 Ekstrakcija trdno-tekoče	17
4.4.3 Parna destilacija	17
4.4.4 Tankoplastna kromatografija	18
4.4.5 UV-Spektrofotometrija	18
5 Praktični del.....	20
5.1 Preizkus topnosti	20
5.1.1 Potek dela	20
5.2 Izbira topil.....	21
5.3 Vzorec	21
5.4 Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom.....	21
5.6 Parna destilacija	23

5.7 Kromatografija.....	24
5.8 UV-Spektrofotometrija	25
6 Meritve in izračuni	26
6.1 Preizkus topnosti komponent rožmarina v topilih	26
6.2 Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom.....	27
6.4 Masa suhega vzorca.....	30
6.4.1 Etanol.....	30
6.4.2 Diklorometan	32
6.4.3 Toluen	35
6.5 Parna destilacija	36
6.6 UV-Spektrofotometrija	37
6.6.1 Etanol.....	37
6.6.2 Diklorometan	38
6.6.3 Toluen	38
6.6.4 Parna destilacija	39
6.7 Kromatografija.....	39
6.7.1 Primerjava čistosti med produktoma A in B	39
6.7.2 Primerjava čistosti med produktoma A in C	40
6.7.3 Primerjava čistosti med produktoma B in C	40
6.7.4 Primerjava čistosti produkta pri parnidestilaciji	40
7 Rezultati	40
8 Komentar rezultatov in opažanja	44
9 Zaključek.....	46
10 Priloge.....	47
11 Viri	49
11.1 Viri literature	49
11.2 Viri slik	50
12 Zahvale	51

Kazalo slik

SLIKA 1: ROŽMARIN.....	13
SLIKA 2: STRUKTURA ROSMANOLA.....	14
SLIKA 3: STRUKTURA KARNOSOLA.....	14
SLIKA 4: STRUKTURA ROŽMARINSKE KISLINE.....	15
SLIKA 5: PRIPRAVA VZORCA NA EKSTRAKCIJO.....	22
SLIKA 6: EKSTRAKCIJA S SOXHLETOVIM APARATOM.....	22
SLIKA 7: ROTAVAPOR.....	22
SLIKA 8: PRODUKT Z ODPARJENIM TOPILOM.....	23
SLIKA 9: DEL NAPRAVE ZA PARNO DESTILACIJO.....	24
SLIKA 10: DESTILACIJSKA BUČKA.....	24
SLIKA 11: LJU LOČNIK KOT PREDLOŽKA.....	24
SLIKA 12: POTEK KROMATOGRAFIJE.....	25
SLIKA 13: UV-SPEKTROFOTOMETER.....	26
SLIKA 14: VZORCI V KIVETAH.....	26
SLIKA 15: KROMATOGRAM PRIMERJANJA ČISTOSTI PRODUKTOV PRIDOBLJENIH Z ETANOLOM(A) IN DIKLOROMETANOM (B)	47
SLIKA 16: KROMATOGRAM PRIMERJANJA ČISTOSTI PRODUKTOV PRIDOBLJENIH Z DIKLOROMETANOM(B)-LEVO IN TOLUENOM(C)-DESNO	48
SLIKA 17: KROMATOGRAM PRIMERJANJA ČISTOSTI PRODUKTOV, PRIDOBLJENIH Z ETANOLOM(A) IN TOLUENOM(C)	48

Kazalo tabel

TABELA 1: KEMIKALIJE	20
TABELA 2: KEMIKALIJE	23
TABELA 3: KEMIKALIJE	25
TABELA 4: PREIZKUS TOPNOSTI ROŽMARINA V TOPILIH	27
TABELA 5: ŠTEVilo PRETOKOV IN ČASI TRAJANJA EKSTRAKCIJ	27
TABELA 6: MERITVE PRI ETANOLU	27
TABELA 7: MERITVE PRI DIKLOROMETANU.....	28
TABELA 8: MERITVE PRI TOLUENU.....	29
TABELA 9: MERITVE ZA ETANOL	30
TABELA 10: MERITVE ZA DIKLOROMETAN.....	32
TABELA 11: MERITVE ZA TOLUEN	35
TABELA 12: MERITE PRI PARNI DESTILACIJI.....	36
TABELA 13: MERITVE ZA ETANOL PRI UV-SPEKTROFOTOMETRIJI	37
TABELA 14: MERITVE ZA DIKLOROMETAN PRI UV-SPEKTROFOTOMETRIJI	38
TABELA 15: MERITVE ZA TOLUENPRI UV-SPEKTROFOTOMETRIJI.....	39
TABELA 16: RETENZIJSKI FAKTORJI PRODUKTOV A IN B	39
TABELA 17: RETENZIJSKI FAKTORJI PRODUKTOV A IN C	40
TABELA 18: RETENZIJSKI FAKTORJI ZA PRODUKTA B IN C.....	40
TABELA 19: RETENZIJSKI FAKTOR ETERIČNEGA OLJA	40
TABELA 20: REZULTATI IZKORISTKOV.....	41

Kazalo grafov

GRAF 1: PRIMERJAVA IZKORISTKOV PRI EKSTRAKCIJI S SOXHLETOVIM APARATOM OB UPORABI RAZLIČNIH TOPIL.	41
GRAF 2: PRIMERJAVA IZKORISTKOV GLEDE NA METODO DELA.	42
GRAF 3: PRIMERJAVA TEORETIČNIH IN PRAKTIČNIH ABSORBANC EKSTRAKTA ROŽMARINA, KI JE BIL PRIDOBLEDEN Z ETANOLOM.	42
GRAF 4: PRIMERJAVA TEORETIČNIH IN PRAKTIČNIH ABSORBANC EKSTRAKTA ROŽMARINA, KI JE BIL PRIDOBLEDEN Z DIKLOROMETANOM.	43
GRAF 5: PRIMERJAVA TEORETIČNIH IN PRAKTIČNIH ABSORBANC EKSTRAKTA ROŽMARINA, KI JE BIL PRIDOBLEDEN Z DIKLOROMETANOM.	43

1 Povzetek

V moji raziskovalni nalogi sem želel raziskati, s katero metodo dobimo večji izkoristek ekstrakcije eteričnega olja rožmarina. Uporabil sem metodi ekstrakcije s Soxhletovim aparatom in parno destilacijo. Prav tako sem želel raziskati, kako vpliva izbor topila na izkoristek ekstrakcije s Soxhletovim aparatom. Izbral sem tri topila, to so etanol, diklorometan in toluen, v katerih se rožmarin dobro razaplja in primerjal dobljene izkoristke. Vzorec, iz katerega sem poskušal izolirati in pridobiti čim čistejši produkt je bila sadika rožmarina, ki jo vzugajam doma.

Rezultati raziskovanja so pokazali, da je najuspešnejša metoda ekstrakcije ekstrakcija s Soxhletovim aparatom ob uporabi toluena.

2 Abstract

In my research project I explored which method gives us higher efficiency of extraction of essential rosemary oil. I applied the methods of extraction using the Soxlet extractor and steam distillation. In addition, I explored how the selection of solvent affects the efficiency of extraction using the Soxhlet extractor. I chose three solvents: ethanol, dichloromethane and toluene, in which rosemary dissolves well and then compared the resulting efficiencies. The sample that was used to isolate and obtain the purest product was rosemary plant. I found out that the most successful method of extraction was one with the Soxhlet extractor using the toluene as a solvent.

3 Uvod

Uporaba eteričnih olj sega še v čase antike, njihov obsežen izbor ter zdravilnost in uporaba v kulinariki so zagotovili njihovo popularnost. Eterična olja lahko pridobimo iz približno 700 različnih vrst rastlin.

Rožmarin je cenjena začimba, predvsem v italijanski in francoski kuhinji, ter pogosti konzervans v živilski industriji, predvsem za meso in mašcobe. Ponekod ga uporabljam kot sestavino v likerjih, najbolj znan liker z rožmarinom je benediktinec.

Rožmarinovo eterično olje je zelo uporabno v zdravstvu, saj ima zelo veliko zdravilno moč. Rožmarinovo eterično olje namreč deluje kot diuretik in kot sredstvo proti stresu .

Namen raziskovalne naloge je bil poiskati najučinkovitejšo metodo za izolacijo in pridobitev čim več in čim bolj čistega eteričnega olja iz rožmarina. Prizadeval sem si biti čim bolj ekološko osveščen in poskušal za ekstrakcijo uporabljati okolju čim manj nevarno topilo, hkrati pa z izbiro prave metode poskušal izolirati in pridobiti čim več čistega produkta. Metodo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom sem izbral zato, ker iz predznanja vem, da lahko pri tej metodi dobim velike izkoristke, poleg tega pa ekstrakcija vedno poteka s sveže regeneriranim topilom. Iz predznanja sem predvideval, da bo metoda parne destilacije manj uspešna, saj običajno pri tej metodi dobimo zelo majhne izkoristke.

Glede na teoretično poznavanje učinkovitosti posamezne metode in poznavanja lastnosti izbranih topil sem si postavil začetne hipoteze:

- 1) Pri parni destilaciji bom dobil manj produkta, z veliko vsebnostjo nečistoč.
- 2) Pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom bom dobil več produkta, ki bo čistejši, kot pri parni destilaciji.
- 3) Ob uporabi diklorometana za topilo bom dobil največ produkta.
- 4) Najčistejši produkt bom dobil ob izbiri toluena za topilo.

4 Teoretične osnove

Teoretični del predstavlja nekaj splošnih dejstev o eteričnih oljih, rožmarinu, topilih s katerimi sem izvedel ekstrakcijo ter o postopkih, s katerimi sem poskušal izolirati in analizirati eterično olje iz rožmarina.

4.1 Eterična olja

4.1.1 Uporaba eteričnih olj v zgodovini

Po raziskavah so eterična olja uporabljali že 4.500 let pred Kristusom. Stari Egipčani so prvi odkrili potencial dišav; dokazi pričajo, da so olja in aromatične snovi uporabljali za zdravljenje bolezni ter izvajanje obredov in verskih svečanosti v templjih in piramidah. Pri balzamiranju so uporabljali tri vrste eteričnih olj, ki so še danes pogosto v uporabi – cedrovo, mirino in olje kadiilne bozvelije.

Kot pričajo staroegipčanski hieroglifi in kitajski rokopisi, so duhovniki in zdravniki uporabljali olja že tisoč let pred Kristusom. V Svetem pismu so eterična olja omenjena 188-krat, nekatera cenjena olja, kot so olje kadiilne bozvelije, mirino, rožmarinovo, cimetovo in olje kitajskega cimetovca, so se uporabljala za maziljenje in zdravljenje bolnih. Tudi svetopisemski preroki so poznali vrednost eteričnih olj kot zaščite pred boleznimi.

Do ponovne uporabe eteričnih olj v sodobni medicini je začelo prihajati v pozнем 19. in zgodnjem 20. stoletju. Od takrat se eterična olja tradicionalno uporabljajo za uničevanje škodljivih mikrobov kot tudi za uravnovešanje razpoloženja, dviganje življenske moči in odpravljanje negativnih čustev.¹

4.1.2 Splošno

Eterična olja so med najbolj znanimi koncentriranimi naravnimi izvlečki rastlin, ki sprožajo pomembne fiziološke in psihološke učinke. Eterična olja imenujemo tudi življenska moč ali kri rastlin. Te hlapljive tekočine so shranjene v posebnih celicah, kanalčkih ali žleznih laskih, ki jih najdemo v koreninah, listih, lubju, steblih in cvetovih rastlin. Eterična olja

¹ Povzeto po <http://www.esenca-zivljenja.si/index.php/aromaterapija>

varujejo rastline pred žuželkami in drugimi rastlinojedci, bakterijami, plesnimi, glivami in drugimi mikroorganizmi. Eterična olja so sposobna prodreti skozi celične membrane, se prenašati po krvi in tkivih, celice oskrbovati s kisikom in hranilnimi snovmi, pospeševati regeneracijo tkiv, stimulirati živce in povečevati energijsko frekvenco – zaradi tega so izjemno koristna za ljudi. Vsako olje vsebuje od 80 do 200 kemičnih sestavin, katerih natančna molekularna zgradba sproža številne blagodejne odzive v človeškem telesu. Eterična olja so zelo kompleksna, koncentrirana in učinkovita; že samo kapljica ali dve po lokalnem nanosu, daje takojšen in opazen učinek, če gre za eterično olje terapevtskega nivoja.²

4.1.3 Delovanje eteričnih olj

Delovanjena človeški organizem še ni popolnoma raziskano. Znano je, da eterična olja s svojim delovanjem vplivajo na naše razpoloženje in emocije. Določena kemijska spojina eteričnega olja farmakološko deluje na tkiva, organe ter na hormonski in živčni sistem.

Vendar k delovanju pripomore sinergija vseh kemijskih spojin določenega eteričnega olja. Zaradi različno širokega spektra kemijskih spojin imajo eterična olja različno širok spekter uporabe.

Eterična olja se zaradi svoje majhne molekularne strukture hitro absorbirajo skozi kožo in dihalne poti ter pridejo v krvni obtok. Z masažo pospešimo pretok krvi in tako povečamo absorpcijo eteričnega olja, vendar se skozi dihalne poti absorbira v kri večji delež eteričnega olja.

Aromaterapija nam lahko pomaga pri ponovni vzpostavitevi psiho fizično ravnotežja. Nudi nam sprostitev, pomaga nam opustiti vsakodnevne skrbi. Prav tako pa je lahko dovolj močna, da s pomočjo rastlinskih esenc pomaga telesu spodbuditi imunski sistem. Uspešna je pri zdravljenju vseh možnih manjših motenj, za katere zdravniki ne najdejo vedno ugodne rešitve. Se pravi nam lahko aromaterapija nudi tudi rešitve brez stranskih škodljivih učinkov zdravil.³

4.1.4 Pridobivanje eteričnih olj

Glede na način pridobivanja ločimo različne tipe rastlinskih esenc (izvlečkov ali eteričnih olj). Kateri način pridobivanja eteričnega olja se uporabi pa je odvisno od vsebnosti esence (aromatičnih snovi) v rastlini, ter iz katerega dela rastline pridobivamo eterično olje ali

² Povzeto po <http://www.esenca-zivljenja.si/index.php/aromaterapija>

³ Povzeto po <http://www.etericna-olja.si/p/delovanje-etericnih-olj.html>

izvleček. Običajno se pridobiva eterična olja iz celih rastlin ali listov ter plodov, redkeje pa iz posameznih delov rastline, naprimer iz cvetnih lističev (takšna eterična olja so zelo draga, saj zahtevajo veliko ročnega dela).⁴

4.2 Rožmarin *Rosmarinus officinalis*

4.2.1 Zgodovina

Rožmarin so kot zdravilno zelišče in kot začimbo cenili že stari Grki in Rimljani. V stari Grčiji so ga uporabljali za kadilo in je bil posvečen Afroditi, boginji ljubezni, v starem Rimu pa Veneri, verjeli so da da večno mladost in lepoto. V srednjem veku je bil nekakšen simbol ljubezni, ker so ga uporabljali na svatbah, tako na Bavarskem še vedno pletejo poročne vence iz rožmarina, na Siciliji se spomnijo mrtvih s polaganjem rožmarinovih vejic na grobove. Nekateri ji pripisujejo določene moči kot je varovanje pred zli pogledi. Je prijetnega vonja, ob morju zraste do dveh metrov, sicer pa do 90 cm. Cveti maja in junija, cvetovi so bledo modre ali vijolične barve, oddajajo tudi eterično olje.⁵

4.2.2 Splošno

Je cenjena začimba, predvsem v italijanski in francoski kuhinji ter pogosto konzervans v živilski industriji, predvsem za meso in maščobe, najučinkovitejša sta vsebujoča rosmanol in karnosol. Nadalje je sestavina likerjev, na primer benediktinca. Svet Evrope razvršča drogo v skupino naravnih začimb N2, ki se sme dodati živilom v majhni količini, z možno omejitvijo zeliščnih sestavin v končnem izdelku, ki pa za rožmarin še niso določene. Slovenska zdravilska zakonodaja, ki po zdravilski zahtevnosti loči tri skupine zdravilnih rastlin, ga razvršča v najvarnejšo skupino H, ki ima enak pravni položaj kot hrana, razen v zahtevnejših farmacevtskih oblikah in če se ne prodaja za določen zdravilni namen.⁶ Na sliki 1 je prikazan rožmarinov grm.

⁴ Povzeto po <http://www.etericna-olja.si/p/pridobivanje-etericnih-olj.html>

⁵ Povzeto po <http://www.bilkabaloh.com/?p=12566>

⁶ Povzeto po <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1550>



Slika 1: Rožmarin.⁷

4.2.3 Uporaba

V zdravilne namene se uporablja cvetovi in listi, ki so igličaste oblike. Rastlina vsebuje številne učinkovine kot so flavonoidi, ki delujejo kot antioksidant in poživljajo, fenoli- rožmarinska kislina, ki deluje kot antiseptik in učinkovito uničuje kužne klice in zmanjšuje vnetja. Liste nabiramo vse leto, uporabljamo jih sveže ali posušene, poganjke pa nabiramo od marca do junija. Zvežemo jih v šopke in obesimo v senco, da se dobro posušijo. Cvetove nabiramo, ko so v popolnem razcvetu, nabrane takoj posušimo v temnem in zračnem prostoru ter shranimo v dobro zaprtih posodah na temnem mestu. Zaradi vsebovanega eteričnega olja zdravi prebavne motnje, ki jih spremljajo vetrovi, občutek napihnjenosti in manjši krči, je tudi diuretik. Pomaga tako, da ga pijemo kot čaj, spodbuja prebavo in učinkovito razstruplja jetra.

Oljne kapljice rožmarina širijo žile in izboljšujejo prekrvavitev, krepijo kapilare in izboljšujejo venski obtok.

Če imamo bolečine v mišicah, razna revmatična obolenja ali težave z išiasom, razredčimo rožmarinovno eterično olje z nevtralnim oljem (sončnično) in se zmasiramo. Kopeli lajšajo izčrpanost, obkladke iz čaja pa polagamo na zvine, izpahe, modrice, edeme.⁸

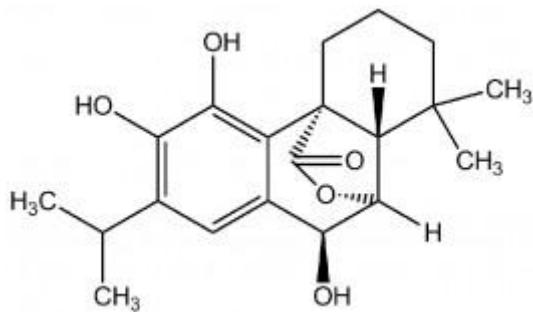
4.2.4 Rosmanol

Rosmanol, katerega struktura je prikazana na *sliki 2*, je naravni polifenol iz rastline Rožmarina *Rosmarinus officinalis*. Je antioksidant, zanimivo pa je, da naj bi imel zaviralne učinke za nastanek tumorjev v človeškem telesu.⁹

⁷Vir slike: <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1550>

⁸Povzeto po <http://www.bilkabaloh.com/?p=12566>

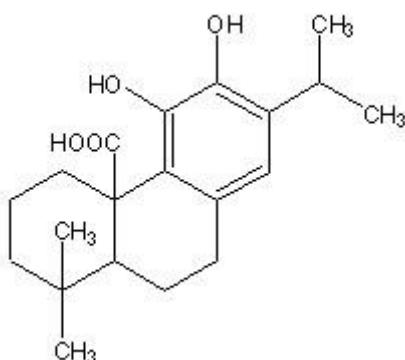
⁹Povzeto po <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9025713>



Slika 2: Struktura rosmanola.¹⁰

4.2.5 Karnosol

Karnosol, katerega struktura je prikazana nasliki 3, je naravni antioksidant, ki ga vsebuje predvsem rožmarin. Po raziskavah sodeč naj bi bil učinkovit predvsem za preprečevanje rakavih obolenj.¹¹



Slika 3: Struktura karnosola.¹²

4.2.6 Rožmarinska kislina

4.2.6.1 Lastnosti in uporaba

Rožmarinska kislina je ester kavne in 3,4-dihidroksifenilmlečne kisline in se nahaja predvsem v rastlinskih vrstah družine skrholistovk (*Boraginaceae*) in ustnatic (*Lamiaceae*).

¹⁰ Vir slike: http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/dp/davidova/www_ucitele1/horciny.html

¹¹ Povzeto po www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1378

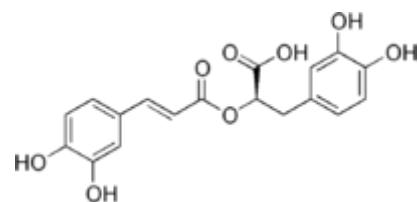
¹² Vir slike:

<http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF679A66406202CCB0B91ED266899D29A1>

Kot sestavina začimb se uporablja v vsakodnevni prehrani, čista spojina in različni rastlinski ekstrakti pa imajo tudi številne dokazane biološke učinke, zlasti antioksidativno, protivnetno in protimikrobnog delovanje. Uporablja se predvsem v kozmetičnih izdelkih, na primer proti izpadanju las, in v obliki rastlinskih izvlečkov za zdravljenje okužb z virusom herpesa. Učinkovita je predvsem za preprečevanje rakavih obolenj na trebušni slinavki, jetrih in pljučih. Zaradi netoksičnosti, dobre peroralne absorpcije in zdravju koristnih učinkov ima rožmarinska kislina velik potencial za uporabo pri preprečevanju in tudi zdravljenju številnih bolezni.¹³

4.2.6.2 Rastlinski viri

Rožmarinska kislina, katere struktura je prikazana nasliku 4, je ena izmed aktivnih sestavin zdravilnih rastlin, kot so žajbelj (*Salvia officinalis*), poprova meta (*Mentha piperita*), vrtni timijan (*Thymus vulgaris*), melisa (*Melissa officinalis*) in navadni gabez (*Sympthium officinale*) in nenazadnje rožmarin (*Rosmarinus officinalis*).¹⁴



Slika 4: Struktura rožmarinske kisline.¹⁵

4.3 Ekstrakcijska topila

4.3.1 Etanol

Etanol (tudi *etilni alkohol*) je alkohol, katerega formula je C₂H₅OH. Etanol je pri sobni temperaturi brezbarvna kapljlevina, gostota pri sobnih pogojih je 0,79 g/mL tališče ima pri -

¹³ Povzeto po http://sl.wikipedia.org/wiki/Rožmarinska_kislina

¹⁴ Povzeto po http://sl.wikipedia.org/wiki/Rožmarinska_kislina

¹⁵ Vir slike: http://sl.wikipedia.org/wiki/Rožmarinska_kislina

114 °C in vrelišče pri 78 °C. Je popolnoma topen v vodi in v polarnih topilih.Uporaben je kot razkužilo, topilo in gorivo.¹⁶

4.3.2 Diklorometan (metilen klorid)

Diklorometan (DCM) alimetilen klorid je organska spojina s formulo C H₂Cl₂. Ta brezbarvna hlapna tekočina z zmerno sladko aromo se pogosto uporablja kot topilo . Čeprav se ne meša z vodo, se meša s številnimi organskimi topili. Ima nizko temperaturo vrelišča, in sicer 39,6 °C, temperaturo tališča pa -96°C. Njegova slaba lastnost je kancerogenost.Njegova dobra lastnost je, da bolje raztaplja snovi v primerjavi s triklorometanom, saj ima en klor manj.¹⁷

4.3.3 Toluen

Toluen je brezbarvna vnetljiva tekočina z vonjem po benzenu.Je pomembna sestavina premogovega katrana. Sintetično jo pridobivamo iz bencinskih frakcij, uporabljamo pa kot topilo in razredčilo za lake, za sintezo trinitrotoluena, saharina, benzojske kisline in benzaldehida. Tališče ima pri -95°C in vreliše pri 111°C.

4.4 Postopki in metode dela

Pri delu uporabimo različne metode dela. Najprej izvedemo preizkus topnosti komponent rožmarina v različnih topilih, natov treh topilih, ki so se izkazala, da je rožmarin najbolje topen izvedemo ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom. Nazadnje izvedemo še parno destilacijo in analizo produktov, ki jih dobimo pri ekstrakciji in parni destilaciji, s pomočjo spektrofotometrije in tankoplastne kromatografije.

4.4.1 Določanje topnosti

Topnostalitopljivost je zmožnost snovi, da se enakomerno porazdeli v določenem topilu, in sicer v ravnovesnem stanju, ko se dodatek nadaljnje količine topljenca več ne more raztopiti v topilu. Topilo je kapljevinska ali plinska komponenta sistema, medtem ko je topljenec trdnina, kapljevina ali plin.

Na topnost močno vpliva temperatura, zato se praviloma ob podatku za topnost (po navadi podan kot g topljenca/100 g topila) poda še temperatura topila.

¹⁶Povzeto po <http://sl.wikipedia.org/wiki/Etanol>

¹⁷Povzeto po <http://en.wikipedia.org/wiki/Dichloromethane>

Kadar je neka snov dobro topna v nekem topilu, nastane raztopina. Pri tem se gradniki ene faze porazdelijo med gradnike druge faze. To je mogoče le tedaj, ko se vezi med gradniki v topljencu in vezi med gradniki v topilu približno enako močne. Kadar so te moči različne, do raztapljanja ne pride.

Na topnost vplivajo poleg narave topila še zunanje okoliščine, zgradba snovi in geometrija, razvejanost verige, ionske interakcije, dipol-dipol interakcije ter molska masa topljenca.

Komponente v rožmarinu so dobro topne v vodi (vodna para), pri 20°C v etanolu, diklorometanu in toluenu, delno topne so v triklorometanu, slabo topne pa v etru.

4.4.2 Ekstrakcija trdno-tekoče

Pri tej metodi, je snov, ki jo želimo ekstrahirati v trdnem agregatnem stanju, topilo pa v tekočem agregatnem stanju. Pri izbiri topila moramo biti pozorni, da je snov v njem dobro topna. Snov, ki jo želimo ekstrahirati pa pred ekstrakcijo zmeljemo ali zdrobimo. Za način ekstrakcije izberemo ekstrakcijo s Soxhletovim aparatom. Aparat je sestavljen iz hladilnika, ekstraktorja in ekstrahirke. V tulec zatehtamo zdrobljeno snov in jo vstavimo v ekstraktor. V ekstraktor nalijemo topilo, vežemo ga skupaj z ekstrahirko in hladilnikom. Segrevamo, ko topilo zavre in destilira, hlapi prehajajo po stranski cevki v hladilnik kjer kondenzirajo in kapljajo na tulec. V ekstraktorju se zbira vroče topilo, ki trdno snov ekstrahira. Ko se topilo nateče do pregiba natege, ga ta pretoči v ekstrahirko. Proces ponavljamo, ekstrakcija namreč lahko poteka tudi od 5 do 6 ur. V ekstrahirki dobimo močno koncentriran ekstrakt, po odstranitvi tulca iz ekstraktorja pa je ekstrakcija končana in produkt je pripravljen na nadaljnji postopek.

4.4.3 Parna destilacija

Parna destilacija je postopek pri katerem z uvajanjem vroče vodne pare izločimo iz rastline eterična olja. Postopek pridobivanja eteričnega olja s parno destilacijo je relativno enostaven. V kotel se da cele dele rastline ali rastlinske dela iz katerih nameravamo pridobivati eterično olje in v kotel uvajamo vročo paro. Alternativno lahko cel kotel z vodo in drogo segrevamo do vretja. Iz kotla izparevajo hlapne snovi (eterična olja) ter vodna para. Te pare hladimo in dobimo kondenzat, ki je zmes eteričnega olja in vode, ki ji pravimo tudi cvetna voda ali hidrolat.

4.4.4 Tankoplastna kromatografija

Kromatografija je separacijska metoda, ki temelji na razlikah v hitrosti potovanja sestavin zmesi skozi kromatografski sistem.

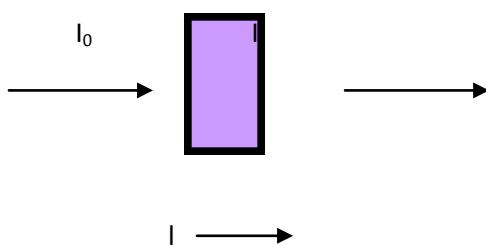
Pri kromatografiji vzorec v mobilni fazi pogosto v toku topila, spustimo skozi »stacionarno fazo«. Slednjo sestavlja snov, ki nudi upor komponentam raztopine vzorca. Praviloma ima vsaka komponenta zmesi karakteristično separacijsko hitrost, na podlagi katere lahko določimo komponente, ki sestavljajo prvotno zmes.

Kromatograf je priprava, ki zmes, katero nosi kapljevinalipin, loči na posamezne komponente na podlagi njihovih različnih separacijskih hitrosti v stacionarni tekoči ali trdni fazi.

4.4.5 UV-Spektrofotometrija

Spektrofotometrija je analizna metoda, pri kateri določamo koncentracijo obarvane raztopine na osnovi absorbirane in prepuščene svetlobe določene valovne dolžine. Metodo uporabljamo za določevanje vsebnosti elementov (npr: Cu, Fe, P, S, ...) v prehrambeni industriji, farmacevtski industriji, ekologiji.

Absorpcija svetlobe v raztopini



Monokromatska svetloba (svetloba ene valovne dolžine) intenzitete I_0 gre skozi kiveto, napolnjeno z obarvano prozorno raztopino, pri čemer se na steni kivete delno odbije, v raztopini delno absorbira, večji del pa je raztopina prepusti I_t .

Definicija prepustnosti - T (transmitanca):

T je delež prepuščene svetlobe

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

Definicija absorbance – A (optična gostota, ekstinkcija - E)

Absorbanca pomeni slabitev gostote svetlobnega toka zaradi absorpcije in sisanja.

Zveza med T in A:

$$A = -\log T = -\log (I_t/I_0)$$

Beer-Lambertov zakon

Podaja zvezo med množino absorbirane svetlobe in koncentracijo. Za razredčene raztopine velja, da je absorbanca premosorazmerna koncentraciji vzorca.

$$A = a \cdot l \cdot \gamma \quad \text{ali} \quad A = \epsilon \cdot l \cdot c$$

a – absorbtivnost ($1/(cm \cdot g \cdot L^{-1})$) l – širina kivete (cm)

ϵ -molska absorbtivnost ($1/(cm \cdot mol \cdot L^{-1})$) c – koncentracija vzorca (mol/L)

Spektrofotometer je naprava s katero merimo absorpcijo svetlobe. Sestavljen je iz izvora svetlobe, monokromatorja, kivete in detektorja. Merimo tako, da primerjamo količino prepuščene svetlobe skozi raztopino vzorca in referenčne raztopine (slepi vzorec) v določenem spektralnem območju. Spektrofotometrične meritve absorpcije izvajamo pri valovni dolžini absorpcijskega maksimuma. V tej točki je sprememba absorbance na enoto koncentracije največja.

5 Praktični del

Vso delo sem opravil v laboratorijih Šolskega centra Celje, Srednje šole za kemijo, elektrotehniko in računalništvo.

Preizkus topnosti sem opravil v različnih topilih. Ta topila so voda, dietil eter, etanol, diklorometan, triklorometan in toluen. Z uporabo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom in parno destilacijo sem izoliral produkte, pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom sem uporabil različna topila. Produkte sem pridobil iz sadike rožmarina, ki jo imam doma. Na koncu sem s pomočjo tankoplastne kromatografije primerjal čistost produktov, pridobljenih pri ekstrakciji, pri parni destilaciji pa sem kot standard uporabil vzorec eteričnega olja rožmarina, znamke *A.Vogel*. Izvedel sem tudi UV-Spektrofotometrijo produktov, pridobljenih pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom in dobljene vrednosti absorbance primerjal z absorbancami, ki sem jih pridobil iz spletnega vira.

5.1 Preizkus topnosti

Za preizkus topnosti potrebujemo šest epruvet, stojalo za epruvete, analizno tehtnico in kemikalije, ki so navedene v tabeli 1 z ustreznimi R in S stavki¹⁸

Tabela 1: Kemikalije.

Ime kemikalije	R-stavki	S-stavki
Vodna para	/	/
etanol	11	(2)-7-10
eter	10-35	(1/2)-23-26-45
diklorometan	40	(2)-23-24/25-36/37
triklorometan	40	(2)-23-36/37
Toluen	11-20	(2)-16-25-29-33

5.1.1 Potek dela

¹⁸ Podatki so najdeni na varnostnih listih kemikalij

Pred izvedbo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom in parno destilacijo izvedemo preizkus topnosti komponent rožmarina v topilih. V šest epruvet zatehtamo enako količino šestih vrst topil. Meritve topnosti izvajamo pri sobni temperaturi. V vsako epruveto dodajamo enako količino rožmarinovih listov tako dolgo, da dobimo močno koncentrirane raztopine.

5.2 Izbira topil

Topila izberemo na podlagi topnosti komponent iz rožmarinovih listov v topilih. Pri raziskovanju uporabimo samo tista topila, kjer je bila obarvanost po preizkusu intenzivno temno zelena. Tem kriterijem ustrezajo naslednja topila: vodna para, toluen, etanol in diklorometan. Pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom uporabimo topila: etanol, diklorometan in toluen. Pri parni destilaciji pa uporabimo vodno paro.

5.3 Vzorec

Vzorec, iz katerega bom pridobil eterična olja je sadika rožmarina.

5.4 Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom

Zdrobimo zmes, ki jo želimo ekstrahirati. V ekstrakcijski tulec to snov zatehtamo in tulec postavimo v eksikator. Stehtamo bučko ekstrahirko skupaj z vrelnimi kamenčki. Bučko ekstrahirko vežemo skupaj z ekstraktorjem. V ekstraktor nalijemo topilo, in sicer toliko, da ga natega potegne, in še malo več. Na ekstraktor vežemo hladilnik in odpremo vodo. Segrevamo, ko topilo zavre in destilira, hlapi prehajajo po stranski cevki v hladilnik kjer kondenzirajo in kapljajo na tulec. V ekstraktorju se zbira vroče topilo, ki trdno snov ekstrahira. Ko se topilo nateče do pregiba natege, ga ta pretoči v bučko. Proces se ponovi. Večji del topila odpari, v ekstrahirki pa ostane raztopina ekstrakta. Ekstrakcija poteka zelo dolgo, odvisno od snovi, ki jo ekstrahiramo. Zapisujemo čas, vsakokrat ko potegne natega topilo v ekstrahirko in iz tega dobimo število pretokov v eni uri. Ko končamo ekstrakcijo, topilo odparimo v rotavaporju in izračunamo izkoristek. Uporabljene kemikalije, so navadene v tabeli 2. Na *sliki 5* vidimo potek pripravljanja vzorca za ekstrakcijo, na *sliki 6* pa vidimo potek ekstrakcije s Soxhletovim aparatom. Na *sliki 7* je prikazan rotavapor in na *sliki 8* bučka s produktom, pri katerem smo že odparili topilo.



Slika 5: Priprava vzorca na ekstrakcijo.



Slika 6: Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom.



Slika 7: Rotavapor.



Slika 8: Produkt z odparjenim topilom.

Tabela 2: Kemikalije.

Ime kemikalije	R-stavki	S-stavki
Etanol	11	(2)-7-10
Diklorometan	40	(2)-23-24/25-36/37
Triklorometan	40	(2)-23-36/37
Toluen	11-20	(2)-16-25-29-33

5.5 Masa suhe snovi v vzorcu

Učinkovitost ekstrakcije ugotovimo tudi tako, da izračunamo maso suhe snovi v vzorcu. To storimo tako, da na čiste in suhe izparilnice iz porcelana zatehtamo od 2 do 3 ml ekstrakta, jih vstavimo v sušilnik ter sušimo od 4 do 5 ur pri temperaturi 60°C , nato stehtamo in izračunamo delež mase suhe snovi v vzorcu. Meritve izvedemo v dveh paralelkah.

5.6 Parna destilacija

Najprej pripravimo parorazvijalec in sestavimo destilacijsko napravo. Destilat lovimo v lij ločnik, zaradi manjših izgub produkta. Nato zatehtamo maso rožmarina v 500 mililitrsko bučko do dveh tretjin. Ko voda v parorazvijalcu zavre, povežemo bučko in cev parorazvijalca skupaj. Destilacija poteka zelo počasi. Mešanica pare in vode gre direktno v hladilnik in nato v lij ločnik. Po končani destilaciji ločimo olje od vode v liju ločniku in izračunamo izkoristek. Na slikah 9, 10 in 11 je prikazana naprava za parno destilacijo.



Slika 9: Del naprave za parno destilacijo.



Slika 10: Destilacijska bučka.



Slika 11: Lij ločnik kot predložka.

5.7 Kromatografija

Za izvedbo kromatografije si pripravimo zmestopil: 100 ml butan-1-ola, 10 ml etanola, 10 ml 10% koncentrirane ocetne kisline ter 40 mL destilirane vode. S kapilarami nanesemo vzorce eteričnih olj na 3 kromatografske plošče. Za vsako nanašanje uporabimo drugo kapilaro. Za produkt parne destilacije za primerjavo uporabimo eterično olje rožmarina kot standard.

Kromatogram pripravimo tako, da na 2 cm dolžini spodnjega roba s svinčnikom označimo startno linijo in s križcem mesto za standard in vzorec ter napišemo oznake zanj. Zmes topil vlijemo v kromatografsko komoro do višine 0,5 cm. Komoro zapremo, da se zasiči s parami topil.

Ploščo oziroma kromatogram vstavimo v kromatografsko komoro, jo pokrijemo in pazimo, da ostane pokrita ves čas razvijanja kromatograma. Zabeležimo pogoje razvijanja v laboratoriju.

Ko se vzorec loči na pričakovano število komponente in je topilo pripravljeno do $\frac{3}{4}$ plošče, ustavimo razvijanje in ploščo vzamemo iz komore. Takoj s svinčnikom označimo fronto topila in kromatogram nato dobro posušimo. Izmerimo pot topila d (razdalja od startne linije do fronte topila) in pot komponente di (razdalja od startne linije do središča lise vzorca) in izračunamo Rf. Nato vstavim kromatogram pod UV svetlobo in označimo dejansko pot komponente ter iz tega sklepamo o čistosti vzorca. Pri delu uporabimo kemikalije, navedene v tabeli 3. Na sliki 12 je razviden potek kromatografije.



Slika 12: Potek kromatografije.

Tabela 3: Kemikalije.

Ime kemikalije	R-stavki	S-stavki
Etanol	11	(2)-7-10
Ocetna kislina	10-39	(1/2)-24-26-45
n-butanol	10-20	(2)-10

5.8 UV-Spektrofotometrija

To metodo izvajamo samo pri produktih, pridobljenih z ekstrakcijo s Soxletovim aparatom. Uporabljam UV-spektrofotometer in kivete. V prvo kiveto vedno damo le slepi vzorec, ki je v tem primeru topilo, s katerim ekstrahiramo produkt. Nato v drugo in tretjo kiveto vstavimo ekstrakt in merimo absorbanco pri različnih valovnih dolžinah. Po končanih meritvah izrišemo grafe. Pri delu s kivetami moramo biti previdni, da ne nastanejo v kiveti

mehurčki in da kiveto pravilno pripravimo za meritev. Pri delu uporabimo kemikalije, navedene v tabeli 2. Na *slikah 13 in 14* je prikazan spektrofotometer in vzorci v kivetah.



Slika 13: UV-Spektrofotometer.



Slika 14: Vzorci v kivetah.

6 Meritve in izračuni

6.1 Preizkus topnosti komponent rožmarina v topilih

Ker podatkov o topnosti komponent rožmarina v različnih topilih nismo zasledili, smo topnost ocenili glede na obarvanost. Volumen topilasmo odmerili z merilnopipeto. V vsako epruveto zatehtamo enako količino rožmarina. V tabeli 4 so navedeni rezultati preizkusa topnosti

Tabela4: Preizkustnostirožmarina v topilih.

Vrstatopila	Masarožmarina (g)	Volumen topila (mL)	Obarvanost
Voda	0,200	1	Temnozelena
Dimetileter	0,200	1	Brezbarvna
Diklorometan	0,200	1	Temnozelena
Triklorometan	0,200	1	Svetlorumena
Etanol	0,200	1	Temnozelena
Toluen	0,200	1	Temnozelena

6.2 Ekstrakcija s Soxhletovimaparatom

Priekstrakciji s Soxhletovimaparatomsmobilinaslednjemeritve.

Število pretokov in časi trajanja ekstrakcij so podani v tabeli 5.

Tabela 5: Število pretokov in časi trajanja ekstrakcij.

Topilo	Število vseh pretokov	Celotni čas ekstrakcije	Število pretokov na celotni čas ekstrakcije [št. pretokov / uro]
Etanol	11	2h 7min	5,31
Diklorometan	11	2h 35min	4,68
Toluen	13	2h 2min	6,44

Meritve, kjer kot topilo uporabimo etanol so podane v tabeli 6.

Tabela6: Meritve pri etanolu.

Meritve Vzorec	Masa bučke	Masa vzorca	Masa bučke+produkta	Masa produkta	Izkoristek produkta po odparitvi topila
Rožmarin	303,93 g	10,0 g	309,23 g	5,302 g	53,02%

Račun:

$$m(\text{produkt}) = m(\text{bučka+produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt}) = 309,23\text{g} - 303,93\text{g}$$

$$m(\text{produkt}) = 5,302\text{g}$$

$$\eta = \frac{m(\text{produkta})}{m(\text{vzorca})}$$

$$\eta = 5,302 \text{ g} / 10,00 \text{ g}$$

$$\eta = 0,5302 \longrightarrow 53,02\%$$

Meritve, kjer kot topilo uporabimo diklorometan so v tabeli 7.

Tabela7: Meritve pri diklorometanu.

Meritve Vzorec	Masa bučke	Masa vzorca	Masa bučke+produkta	Masa produkta	Izkoristek produkta po odparitvi topila
Rožmarin	307,45g	10,0 g	313,57 g	6,124 g	61,24%

Račun:

$$m(\text{produkt}) = m(\text{bučka+produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt}) = 313,57\text{g} - 307,45\text{g}$$

$$m(\text{produkt}) = 6,124\text{g}$$

$$\eta = m(\text{produkta})/m(\text{vzorca})$$

$$\eta = 6,124 \text{ g} / 10,00 \text{ g}$$

$$\eta = 0,6124 \longrightarrow 61,24\%$$

Meritve, kjer smo kot topilo uporabimo toluen so v tabeli 8.

Tabela 8: Meritve pri toluenu.

Meritve Vzorec	Masa bučke	Masa vzorca	Masa bučke+produkta	Masa produkta po uparjanju	Izkoristek produkta po odparitvi topila
Rožmarin	405,20g	10,0 g	413,40g	8,206g	82,06%

Račun:

$$m(\text{produkt}) = m(\text{bučka+produkt}) - m(\text{bučka})$$

$$m(\text{produkt}) = 413,40 \text{ g} - 405,20 \text{ g}$$

$$m(\text{produkt}) = 8,206 \text{ g}$$

$$\eta = m(\text{produkta})/m(\text{vzorca})$$

$$\eta = 8,206 \text{ g} / 10,00 \text{ g}$$

$$\eta = 0,8206 \longrightarrow 82,06\%$$

6.4 Masa suhega vzorca

6.4.1 Etanol

Meritve, ki smo jih dobili pri ugotavljanju mase suhega vzorca so prikazane v tabeli 9.

Tabela 9: Meritve za etanol.

Paralelka	Masa izparilnice	Masa izparilnice + zatehtane snovi	Masa izparilnice +suhe snovi	Masa suhe snovi	Delež suhe snovi v produktu	Masa zatehtane snovi	Masa produkta
A1	105,99g	108,13g	107,15g	1,16g	28,74%	10,0 g	5,302 g
A2	114,27g	116,38g	115,43g	1,16g	29,15%	10,0 g	5,302 g

Računi:

A1 Paralelka:

a) Masa zatehtane snovi in masa suhe snovi

$$m(\text{zatehtane snovi}) = m(\text{zatehtane snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 108,13 \text{ g} - 105,99 \text{ g}$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 2,14 \text{ g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = m(\text{suhe snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 107,15\text{g} - 105,99\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 1,16\text{g}$$

b) Delež suhe snovi :

$$w = m(\text{suhe snovi}) / m(\text{zatehtane snovi})$$

$$w = 1,16\text{g} / 2,14\text{g}$$

$$w = 0,542$$

b) Izkoristek ekstrakcije z deležem suhe snovi

$$\eta = w \times m(\text{produkta}) / m(\text{zatehtane snovi}) \times 100\%$$

$$\eta = 0,542 \times 5,302\text{g} / 10,0\text{g} \times 100\%$$

$$\eta = 28,74\%$$

A2 Paralelka

a) Masa zatehtane snovi in masa suhe snovi

$$m(\text{zatehtane snovi}) = m(\text{zatehtane snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 116,38\text{g} - 114,27\text{g}$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 2,11\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = m(\text{suhe snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 115,43\text{g} - 114,27\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 1,16\text{g}$$

b) Delež suhe snovi :

$$w = m(\text{suhe snovi})/m(\text{zatehtane snovi})$$

$$w = 1,16g/2,11g$$

$$w = 0,549$$

b) Izkoristek ekstrakcije z deležem suhe snovi

$$\eta = w \times m(\text{produkta})/m(\text{zatehtane snovi}) \times 100\%$$

$$\eta = 0,549 \times 5,302g/10,0g \times 100\%$$

$$\eta = 29,15\%$$

6.4.2 Diklorometan

Meritve, ki smo jih dobili pri ugotavljanju mase suhega vzorca so prikazane v tabeli 10.

Tabela 10: Meritve za diklorometan.

Paralelka	Masa izparilnice	Masa izparilnice + zatehtane snovi	Masa izparilnice+suhe snovi	Delež suhe snovi v produktu	Masa zatehtane snovi	Masa produkta
B1	176,26g	180,43g	178,73g	36,27%	10,0 g	6,124 g
B2	175,26g	178,91g	177,35g	35,58%	10,0 g	6,124 g

Računi:

B1 Paralelka:

a) Masa zatehtane snovi in masa suhe snovi

$$m(\text{zatehtane snovi}) = m(\text{zatehtane snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 180,43\text{g} - 176,26\text{g}$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 4,17\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = m(\text{suhe snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 178,73\text{g} - 176,26\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 2,47\text{g}$$

b) Delež suhe snovi :

$$w = m(\text{suhe snovi}) / m(\text{zatehtane snovi})$$

$$w = 2,47\text{g} / 4,17\text{g}$$

$$w = 0,592$$

c) Izkoristek ekstrakcije z deležem suhe snovi

$$\eta = w \times m(\text{produkta}) / m(\text{zatehtane snovi}) \times 100\%$$

$$\eta = 0,592 \times 6,124\text{g} / 10,0\text{g} \times 100\%$$

$$\eta = 36,27\%$$

B2 Paralelka:

a) Masa zatehtane snovi in masa suhe snovi

$$m(\text{zatehtane snovi}) = m(\text{zatehtane snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 178,91\text{g} - 175,26\text{g}$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 3,65\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = m(\text{suhe snovi} + \text{izparilnica}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 177,35\text{g} - 175,26\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 2,09\text{g}$$

b) Delež suhe snovi :

$$w = m(\text{suhe snovi}) / m(\text{zatehtane snovi})$$

$$w = 2,09\text{g} / 3,65\text{g}$$

$$w = 0,573$$

c) Izkoristek ekstrakcije z deležem suhe snovi

$$\eta = w \times m(\text{produkta}) / m(\text{zatehtane snovi}) \times 100\%$$

$$\eta = 0,573 \times 6,124\text{g} / 10,0\text{g} \times 100\%$$

$$\eta = 35,58\%$$

6.4.3 Toluен

Meritve, ki smo jih dobili pri ugotavljanju mase suhega vzorca so prikazane v tabeli 11.

Tabela 11: Meritve za toluen.

Paralelka	Masa izparilnice	Masa izparilnice+suhe snovi	Masa izparilnice + suhe snovi	Masa suhe snovi	Delež suhe snovi v produktu	Masa zatehtane snovi
C*	57,92g	64,89g	63,20g	5,28g	52,8%	10,0g

*ker sem imel premalo vzorca, sem izvajal le eno paralelko

Računi:

C Paralelka:

a) Masa zatehtane snovi in masa suhe snovi

$$m(\text{zatehtane snovi}) = m(\text{izparilnica} + \text{zatehtane snovi}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 64,89\text{g} - 57,92\text{g}$$

$$m(\text{zatehtane snovi}) = 6,97\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = m(\text{izparilnica} + \text{suhe snovi}) - m(\text{izparilnica})$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 63,20\text{g} - 57,92\text{g}$$

$$m(\text{suhe snovi}) = 5,28\text{g}$$

b) Delež suhe snovi :

$$w = m(\text{suhe snovi}) / m(\text{zatehtane snovi}) \times 100\%$$

$$w = 5,28\text{g} / 6,97\text{g}$$

$$w = 0,7575$$

c) Izkoristek ekstrakcije z deležem suhe snovi

$$\eta = w \times m(\text{produkta}) / m(\text{zatehtane snovi}) \times 100\%$$

$$\eta = 0,7575 \times 8,206g / 10,0g \times 100\%$$

$$\eta = 62,16\%$$

6.5 Parnadestilacija

Meritve za parnodestilacijo so podane v tabeli 12.

Tabela12: Merite pri parnidestilaciji.

Meritve Vzorec	Masa lija ločnika	Masa vzorca	Masa lija ločnika+produkta	Masa produkta	Izkoristek
Rožmarin	775,05g	10,0 g	775,37g	0,32g	3,20%

Račun:

$$m(\text{produkt}) = m(\text{lijaločnika+produkt}) - m(\text{lijaločnika})$$

$$m(\text{produkt}) = 775,37g - 775,05g$$

$$m(\text{produkt}) = 0,32g$$

$$\eta = m(\text{produkta})/m(\text{vzorca})$$

$$\eta = 0,32 \text{ g} / 10,00 \text{ g}$$

$$\eta = 0,032 \longrightarrow 3,20\%$$

6.6 UV-Spektrofotometrija

6.6.1 Etanol

Meritve, kjer kot topilo uporabimo etanol so podane v tabeli 13. Navedene valovne dolžine so primerne zamerjenje absorbance zelenih barvil¹⁹. Podane so tudi teoretične vrednosti absorbance eteričnega olja rožmarina, pridobljenega z etanolom kot topilom²⁰.

Tabela 13: Meritve za etanol pri UV-Spektrofotometriji

Valovna dolžina (nm)	Absorbanca A paralelka	Absorbanca B paralelka	Teoretična Absorbanca
560	2,451	2,451	2,440
570	2,498	2,498	2,498
580	2,552	2,552	2,532
590	2,799	2,799	2,789
600	2,709	2,737	2,709
610	2,659	2,659	2,649
620	2,552	2,571	2,552
630	2,466	2,466	2,466
640	2,635	2,644	2,635
650	2,659	2,659	2,649
660	2,683	2,683	2,684

¹⁹Povzeto po: Sodja-Božič, J.: Vaje iz instrumentalne analize (1998). Založba Izolit.

²⁰Povzeto po: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643803000884>

6.6.2 Diklorometan

Meritve, kjer kot topilo uporabimo diklorometano podane v tabeli 14. Navedene valovne dolžine so primerne za merjenje absorbance zelenih barvil²¹. Podane so tudi teoretičnevrednosti absorbance eteričnega olja rožmarina, pridobljenega z diklorometanom kot topilom²².

Tabela 14: Meritve za diklorometan pri UV-Spektrofotometriji.

Valovnadolžina (nm)	Absorbanca A paralelka	Absorbanca B paralelka	Teoretična Absorbanca
560	2,571	2,659	2,615
570	2,436	2,436	2,436
580	2,301	2,301	2,312
590	2,323	2,323	2,345
600	2,533	2,533	2,533
610	2,635	2,635	2,638
620	2,451	2,451	2,451
630	2,301	2,301	2,309
640	2,436	2,498	2,439
650	2,960	3,068	2,991
660	3,430	3,436	3,435

6.6.3 Toluen

Meritve, kjer kot topilo uporabimo toluen so podane v tabeli 15. Navedene valovne dolžine so primerne za merjenje absorbance zelenih barvil²³. Podane so tudi teoretičnevrednosti absorbance eteričnega olja rožmarina, pridobljenega s toluenom kot topilom²⁴.

²¹Povzeto po: Sodja-Božič,J.: Vaje iz instrumentalne analize (1998).Založba Izolit.

²²Povzeto po: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643803000884>

²³Povzeto po: Sodja-Božič,J.: Vaje iz instrumentalne analize (1998).Založba Izolit.

²⁴Povzeto po: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643803000884>

Tabela 15: Meritve z toluen pri UV-Spektrofotometriji.

Valovna dolžina (nm)	Absorbanca A paralelka	Absorbanca B paralelka	Teoretična absorbanca
560	4,000	4,000	4,000
570	3,783	3,797	3,789
580	3,436	3,436	3,442
590	3,215	3,215	3,215
600	2,961	2,961	2,961
610	2,659	2,659	2,659
620	2,552	2,552	2,552
630	2,515	2,515	2,515
640	2,481	2,481	2,481
650	2,457	2,457	2,457
660	2,436	2,436	2,436

6.6.4 Parna destilacija

Meritve za eterično olje rožmarina pri parni destilaciji nismo izvajali, ker nismo imeli podatkov teoretičnih vrednosti.

6.7 Kromatografija

Prvotno smo kromatografijo produktov hoteli izvajati s standardom rosmanol. Ker pa je ta standard zelo drag, smo se odločili primerjati le čistosti produktov med sabo. Za produkt, pridobljen z etanolom smo uporabili oznako A. Za produkt, pridobljen z diklorometanom smo uporabili oznako B. Za produkt s toluenom smo uporabili oznako C. Pri parni destilaciji smo izvedli tako, da smo za standard vzeli eterično olje rožmarina, znamke A. Vogelin primerjali s produktom.

6.7.1 Primerjava čistosti med produktoma A in B

Meritve, dobljene s kromatografijo so prikazane v tabeli 16.

Tabela 16: Retenzijski faktorji produktov A in B.

Produkt	d	d _i	R _f
A	5 cm	2,5 cm	0,5
B	5 cm	2,8 cm	0,56

6.7.2 Primerjava čistosti med produktoma A in C

Meritve dobljene s kromatografijo so prikazane v tabeli 17.

Tabela 17: Retenzijski faktorji produktov A in C.

Produkt	d	d _i	R _f
A	5 cm	2,7 cm	0,54
C	5 cm	2,5 cm	0,5

6.7.3 Primerjava čistosti med produktoma B in C

Meritve dobljene s kromatografijo so prikazane v tabeli 18.

Tabela 18: Retenzijski faktorji za produkta B in C.

Produkt	d	d _i	R _f
B	5 cm	2,3 cm	0,46
C	5 cm	2,5 cm	0,5

6.7.4 Primerjava čistosti produkta pri parnidestilaciji

Meritve dobljene pri kromatografiji so prikazane v tabeli 19.

Tabela 19: Retenzijski faktor eteričnega olja.

Produkt	d	d _i	R _f
Standard	5 cm	2,5 cm	0,5
Vzoreceteričnegaolja	5 cm	3 cm	0,6

7 Rezultati

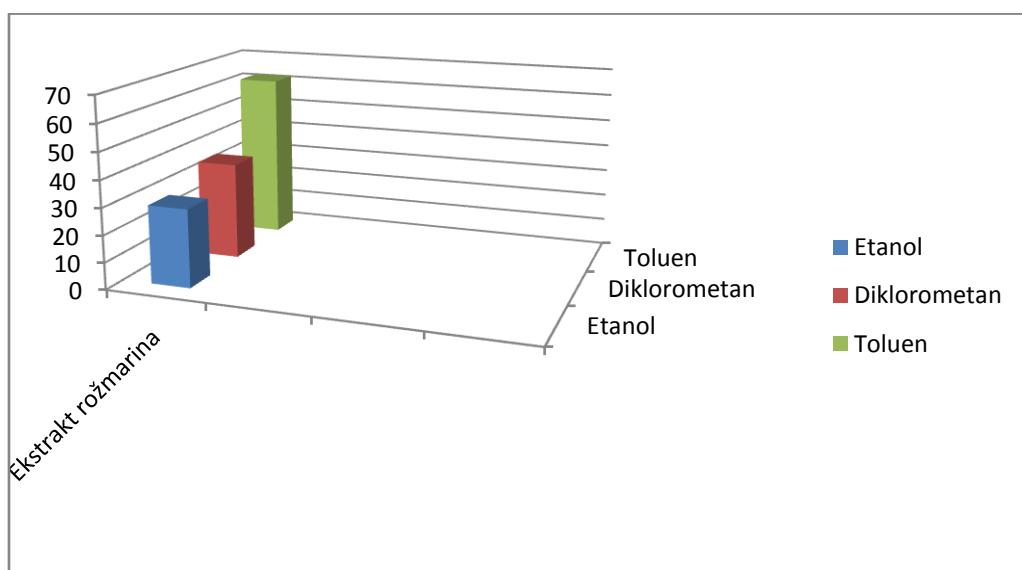
Rezultati izkoristkov komponent iz rožmarina, glede na različne metode in uporabo različnih topil so podani v tabeli 20.

Tabela 20: Rezultati izkoristkov.

Metoda	Ekstrakcija s Soxhletovim aparatom			Parna destilacija
Topilo Vzorec	Etanol	Diklorometan	Toluen	Vodna para
Rožmarin	29,15%	36,27%	62,16%	3,20%

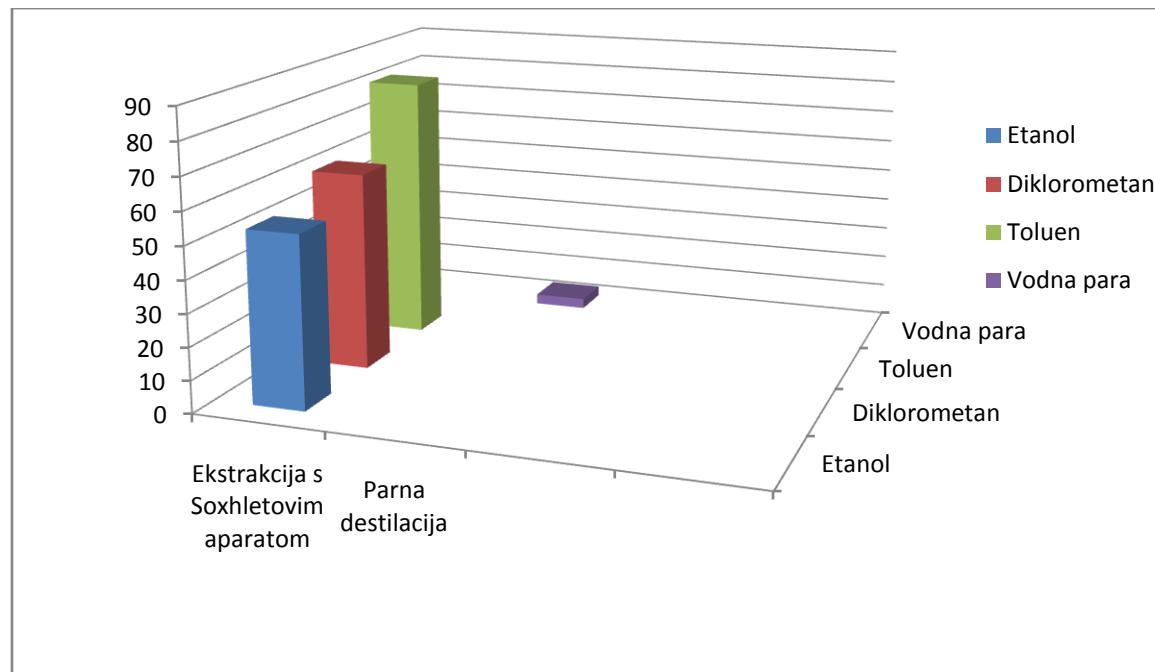
V grafu 1 lahko vidite primerjavo izkoristkov pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom ob uporabi različnih topil.

Graf 1: Primerjava izkoristkov pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom ob uporabi različnih topil.



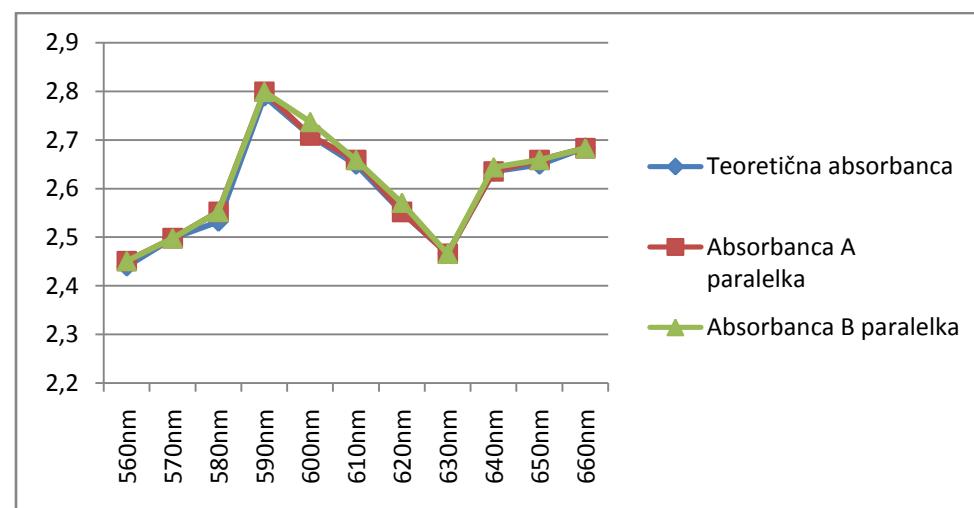
V grafu 2 lahko vidite primerjavo izkoristkov glede na metode dela.

Graf 2: Primerjava izkoristkov glede na metodo dela.



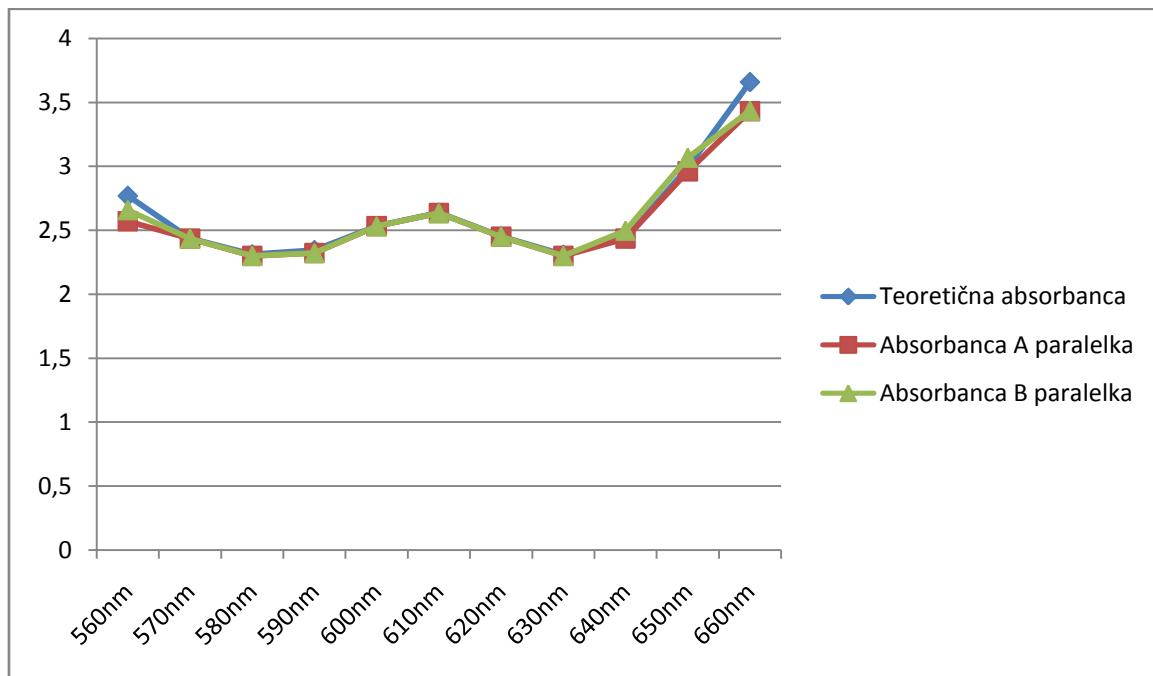
V grafu 3 lahko vidite odvisnost absorbance od valovne dolžine pri ekstraktu rožmarina, ki je bil pridobljen z etanolom in primerjavo s teoretičnimi vrednostmi absorbance pri ekstraktu rožmarina, ki je bil pridobljen z etanolom.

Graf 3: Primerjava teoretičnih in praktično dobljenih absorbanc ekstrakta rožmarina, ki je bil pridobljen z etanolom.



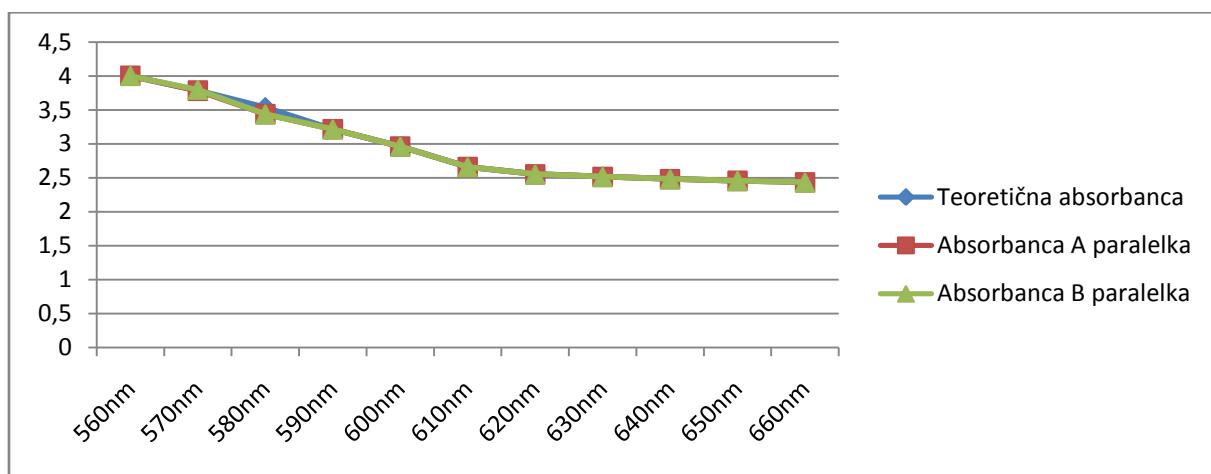
V grafu 4 lahko vidite odvisnost absorbance od valovne dolžine pri ekstraktu rožmarina, ki je bil pridobljen z diklorometanom in primerjavo s teoretičnimi vrednosti absorbance pri ekstraktu rožmarina, ki je bil pridobljen z diklorometanom.

Graf 4: Primerjava teoretičnih in praktičnih absorbanc ekstrakta rožmarina, ki je bil pridobljen z diklorometanom.



V grafu 5 lahko vidite odvisnost absorbance od valovne dolžine pri ekstraktu rožmarina, ki je bil pridobljen s toluenom in primerjavo s teoretičnimi vrednosti absorbance pri ekstraktu rožmarina, ki je bil pridobljen s toluenom.

Graf 5: Primerjava teoretičnih in praktičnih absorbanc ekstrakta rožmarina, ki je bil pridobljen z diklorometanom.



8 Komentar rezultatov in opažanja

Iz rezultatov mojega raziskovalnega dela je razvidno, da je bila uspešnejša metoda ekstrakcije s Soxhletovim aparatom. Produkt po končani ekstrakciji je temno zelene barve, po analizi produkta z UV-Spektrofotometrijo pa je iz meritev absorbanc in grafov razvidno, da so absorbance paralelk produktov v veliki meri enake teoretičnim vrednostim absorbanc, v primeru, ko odstopajo od teoretičnih vrednosti pa so odstopanja zelo majhna. Tako lahko sklepamo, da je produkt čist.

Najvišji izkoristek rožmarinovih komponent sem pridobil pri ekstrakciji s Soxhletovim aparatom, pri kateri sem kot topilo uporabil toluen. Iz kromatogramov primerjanja čistosti produktov je razvidno, da je produkt, pri katerem sem uporabil toluen kot topilo najčistejši izmed vseh produktov, pridobljenih z metodo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom. Iz rezultatov absorbanc in grafov absrobanc je prav tako razvidno, da je produkt, pridobljen s toluenom kot topilom najčistejši produkt izmed vseh produktov, pridobljenih z metodo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom. Kot sem navedel v teoretičnih osnovah vaje, rožmarinska kislina preprečuje raka na jetrih, trebušni slinavki in pljučih, rosmanol pa preprečuje nastanek tumorjev. Gledano iz zdravstvenega stališča bi velik izkoristek teh komponent lahko ugodno vplival na zdravje človeka. Produkt, ki sem ga pridobil s toluenom bi lahko uporabili v zdravstvu, vendar bi morali ustrezno odstraniti topilo. Predvideval sem, da bom najvišji izkoristek pridobil z uporabo diklorometana kot topila na podlagi kemijskih in fizikalnih lastnosti topila. Med izvajanjem ekstrakcije je bučka ekstrahirka počila. Predvidevam, da je imela bučka ekstrahirka razpoko, ki je nisem opazil. Razpoka se je pri visokih temperaturah širila dokler ni bučka počila. Zaradi tega sem moral ekstrakcijo prekiniti in namestiti novo bučko ekstrahirko. Ker pa sem imel premalo časa za novo pripravo ekstrakcije, sem ekstrakcijo samo nadaljeval. Predvideval sem, da bo posledica tega manjši izkoristek ekstrakcije, kar je razvidno tudi iz rezultatov. Produkt, pridobljen z diklorometanom kot topilom je primeren za uporabo v zdravstvu, ampak je treba biti dovolj skrben pri odstranitvi topila, saj je diklorometan kancerogen. Iz analize produkta s pomočjo kromatografije sem ugotovil, da je v produktu, pridobljenem z diklorometanom kot topilom več nečistoč, kot v ostalih dveh produktih, ki sta pridobljena z etanolom in toluenom z metodo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom. Opazil pa sem, kar je razvidno tudi iz rezultatov UV-spektrofotometrije, da je analiza produkta s to metodo pokazala ravno nasprotno, saj so teoretične vrednosti absorbanc in vrednosti absorbanc obeh paralelk v veliki meri enake, v

primerih, kjer se razlikujejo pa so odstopanja zelo majhna. Glede na to, da je iz rezultatov razvidno, da so rezultati analize produkta z metodo UV-Spektrofotometrije bolj točni in natančni kot pri kromatografiji sklepam, da je pri analizi produkta s kromatografijo prišlo do napake.

Produkt, ki sem ga pridobil z uporabo etanola kot topila pri metodi ekstrakcije s Soxhletovim aparatom ima najmanjši izkoristek izmed produktov, pridobljenih z metodo ekstrakcije s Soxhletovim aparatom, kar sem tudi predvideval na podlagi lastnosti topila, a je kljub temu čist produkt, kar je razvidno iz rezultatov analize produkta z uporabo metode UV-spektrofotometrije in metode kromatografije. Produkt, pridobljen z etanolom kot topilom pri metodi ekstrakcije s Soxhletovim aparatom je primeren za uporabo v zdravstvu, toda potrebna je dovolj skrbna in ustrezna odstranitev topila.

Produkt, ki sem ga pridobil z metodo parne destilacije ima najmanjši izkoristek, kar sem tudi predvideval na podlagi predznanja o postopku parne destilacije. Iz rezultatov analize produkta s pomočjo kromatografije je razvidno, da je dobljen produkt zelo nečist, to lahko tudi predvidimo, saj se pri parni destilaciji v predložki nahaja velik delež odpadne faze in predvidevam, da produkt zato vsebuje veliko nečistoč. Ker nisem imel podatka o teoretičnih vrednostih absorbanc za eterično olje v tem primeru UV-spektrofotometrije nisem izvajal. Produkt, pridobljen pri parni destilaciji z uporabo vodne pare kot topila je primeren za uporabo v zdravstvu, a se ga ne spača pridobivati, ker je neekonomičen in dobimo majhne izkoristke.

Ker sem dobil velike izkoristke pri metodi ekstrakcije s Soxhletovim aparatom, sem opravil še metodo določanja deleža suhe snovi v vzorcu. Iz rezultatov je razvidno, da je delež suhe snovi v vzorcu manj, kot kažejo izkoristki uparjanju, saj so produkti vsebovali določen del neodparjenega topila. Iz rezultatov je razvidno, da je v produktu, kjer smo kot topilo uporabili toluen največ suhe snovi, v produktu, kjer pa smo uporabili kot topilo etanol pa najmanj suhe snovi. Pričakoval sem, da bo delež suhe snovi pri produktu, pridobljenem z diklorometanom najmanjši zaradi morebitnih nečistoč v produktu. Naj še omenim, da sem pri ugotavljanju mase suhega vzorca v produktu, pridobljenem s toluenom delal le eno paralelko, saj sem imel premalo vzorca, poleg tega pa mi je toluen že pred sušenjem izhlapel iz produkta. Kljub temu, je izkoristek oziroma delež suhe snovi v tem vzorcu največji. Da je delež suhe snovi v tem

vzorcu največji je odvisno tudi od tega, da je bilo pri tej ekstrakciji največ pretokov na uro, medtem ko je pri ostalih dveh ekstrakcijah bilo manj pretokov na uro.

9 Zaključek

Namen raziskovalne naloge je bil poiskati najučinkovitejšo metodo za izolacijo in pridobitev čim več in čim bolj čistega eteričnega olja iz rožmarina. Pri raziskavi sem ugotovil, da je to metoda ekstrakcije s Soxhletovim aparatom ob uporabi toluena kot topila. V tem primeru je bilo produkta največ, produkt je bil najčistejši in tudi delež suhe snovi v produktu je bil največji. Tako sem lahko iz svojih rezultatov:

- 1) Potrdil prvo hipotezo, pri kateri sem predvidel, da bom pri metodi parne destilacije dobil manj produkta, ki bopo predvidevanjih vseboval veliko nečistoč.
- 2) Prav tako sem potrdil drugo hipotezo, pri kateri sem predvidel, da bom pri metodi ekstrakcije s Soxhletovim aparatom dobil več produkta, ki bo čistejši kot pri parni destilaciji.
- 3) Tretjo hipotezo, kjer sem predvidel, da bom pri uporabi diklorometana kot topila dobil največ produkta sem ovrgel. Iz rezultatov je razvidno, da sem največ produkta pridobil pri uporabi toluenakot topila.
- 4) Nazadnje sem lahko potrdil tudi četrto hipotezo, saj je iz rezultatov analize produkta z metodo kromatografije in metodo UV-spektrofotometrije razvidno, da je produkt, kjer sem uporabil toluen kot topilo najčistejši produkt.

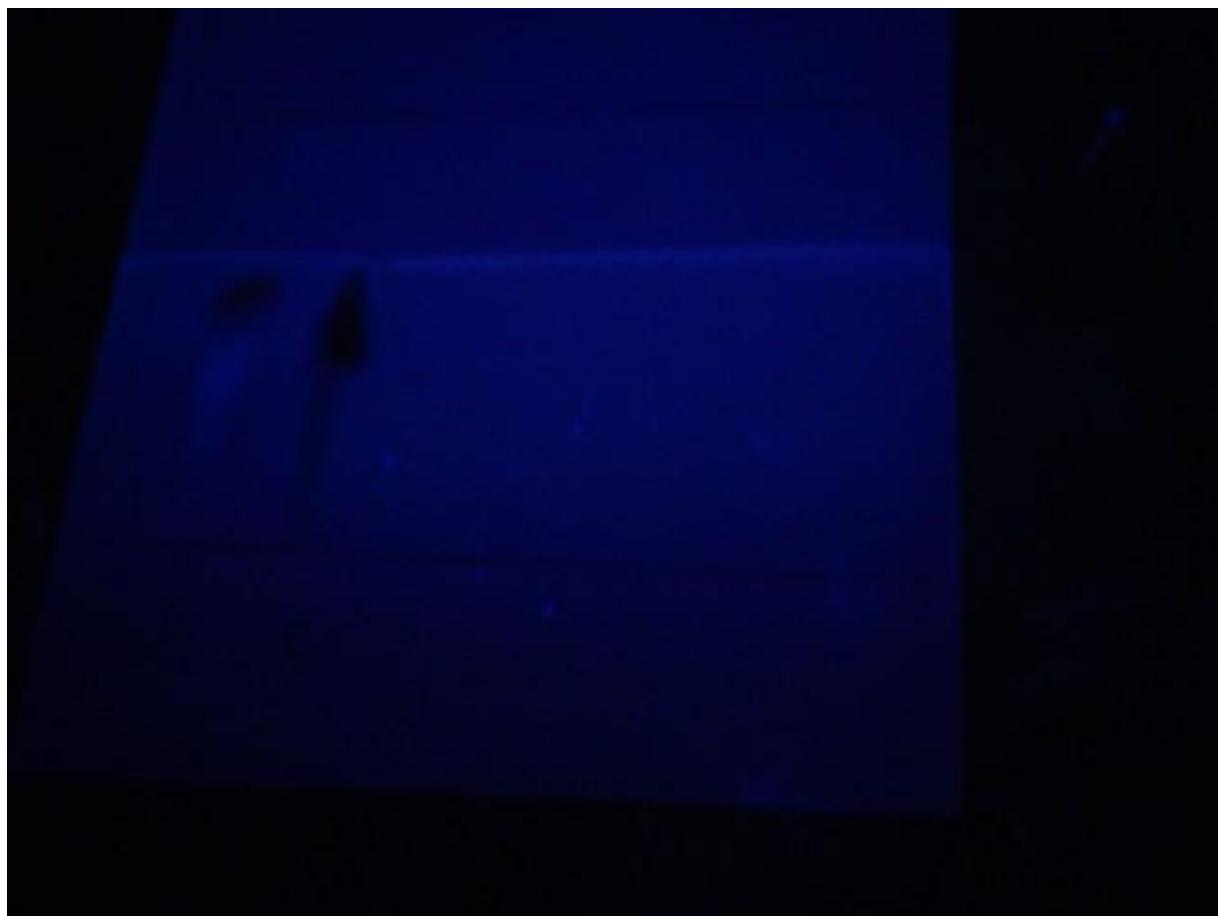
Pri raziskavi sem ugotovil, da največjo količino produkta, ki je obenem tudi najčistejši dosežemo z uporabo metode ekstrakcije s Soxhletovim aparatom in uporabo toluena kot topila.

Z raziskovalnim delom bi radv prihodnosti nadaljeval. Zanima me predvsem področje zdravljenja rakavih obolenj. Kot sem navedel v teoretičnih osnovah, rožmarin vsebuje komponente rosmanol, karnosol in rožmarinsko kislino. Slednja preprečuje raka na trebušni slinavki, jetrih in pljučih. Komponenta rosmanol pa preprečuje nastanek tumorjev. Glede na navedene lastnosti sklepam, da bi bilo v prihodnosti možno uporabljati te zeliščne učinkovine, kot dopolnilno zdravljenje rakavih obolenj na omenjenih organih. Zato bi se v nadaljevanju raziskovalnega dela želel posvetiti predvsem iskanju takšnega topila, ki da še več in še bolj čistprodukt, kot ga da toluen, a obenem ne škoduje človeškemu organizmu.

10 Priloge



Slika 15: Kromatogram primerjanja čistosti produktov pridobljenih z etanolom(A) in diklorometanom (B)



Slika 16: Kromatogram primerjanja čistosti produktov pridobljenih z diklorometanom(B)-LEVO in toluenom(C)-DESNO



Slika 17: Kromatogram primerjanja čistosti produktov, pridobljenih z etanolom(A) in toluenom(C)

11 Viri

11.1 Viri literature

Spletni viri

1. <http://www.esenca-zivljenja.si/index.php/aromaterapija> (22.2.2013)
2. <http://www.esenca-zivljenja.si/index.php/aromaterapija> (23.2.2013)
3. <http://www.etericna-olja.si/p/delovanje-etericnih-olj.html> (22.2.2013)
4. <http://www.etericna-olja.si/p/pridobivanje-etericnih-olj.html> (22.2.2013)
5. <http://www.bilkabaloh.com/?p=12566> (22.2.2013)
6. <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1550> (22.2.2013)
7. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9025713> (22.2.2013)
8. www.vasezdravlje.com/izdanje/clanak/1378 (22.2.2013)
9. http://sl.wikipedia.org/wiki/Ro%C5%BEemarska_kislina (22.2.2013)
10. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Etanol> (22.2.2013)
11. <http://en.wikipedia.org/wiki/Dichloromethane> (22.2.2013)

Knjižni viri

1. Sodja-Božič, J., Laboratorijska tehnika, Ljubljana, Založba DZS, 1992
2. Sodja-Božič, J., Laboratorijske vaje, Ljubljana, Založba DZS, 1992
3. Sodja-Božič, J., Analizna kemija, Ljubljana, Zavod SR Slovenije za šolstvo, 1989
4. Sodja-Božič, J., Vaje iz instrumentalne analize, Trzin, Založba Izolit, 1998
5. Ignatowitz, E., prevedel Čelik, L., Kemijska tehnika, Ljubljana, Založba Jutro, 1996

6. Kuhelj, R., Biokemija v praksi: načela in tehnike, Ljubljana, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Ljubljani, 2009

11.2 Viri slik

Slika 1: <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1550> (22.2.2013)

Slika 2: http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/dp/davidova/www_ucitele1/horciny.html
(22.2.2013)

Slika 3:

<http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF679A66406202CB0B91ED266899D29A1> (22.2.2013)

Slika 4: http://sl.wikipedia.org/wiki/Ro%C5%BEEmarinska_kislina (22.2.2013)

Slike 5-17: Lastna zbirka slik

12 Zahvale

Skozi celotno raziskovalno delo mi je pomagalo veliko ljudi.

Posebna zahvala gre moji mentorici Mojci Drofenik Čerček, ki mi je pomagala s koristnimi nasveti in strokovno pregledala mojo raziskovalno nalogu.

Zahvala gre moji profesorici Andreji Tkalec, ki mi je nalogo lektorirala in mi pomagala s koristnimi nasveti za čim boljšo oblikovno in jezikovno pravilno nalogu.

Zahvala gre profesorici angleškega jezika Ireni Sojč, ki mi je lektorirala povzetek raziskovalne naloge v angleškem jeziku.

Zahvala gre tudi celtnemu kolektivu Srednje šole za kemijo, elektrotehniko in računalništvo, posebej laborantu Sebastianu Klovarju.