

Opracowanie ekstrakcji porfiryn ze skorupek jaj kurzych

MAKSYMILIAN OSTROWSKI

Abstrakt

Porfiryny to grupa związków chemicznych charakteryzujących się złożoną strukturą aromatyczną, co umożliwia im absorpcję światła oraz tworzenie stabilnych kompleksów z metalami. Niniejsza praca koncentruje się na protoporfirynie IX, odpowiedzialnej za brązowe zabarwienie skorupki jaj kurzych, oraz procesie jej ekstrakcji. Skorupki jaj zostały rozdrobnione i poddane działaniu kwasu solnego oraz octanu etylu, co pozwoliło na wydzielenie fazy organicznej zawierającej protoporfirynę. Ekstrakt wykazywał fluorescencję pod wpływem światła UV, co potwierdziło obecność porfiryn. W pracy szczegółowo opisano proces ekstrakcji, a także omówiono możliwości jego modyfikacji w celu zwiększenia wydajności.

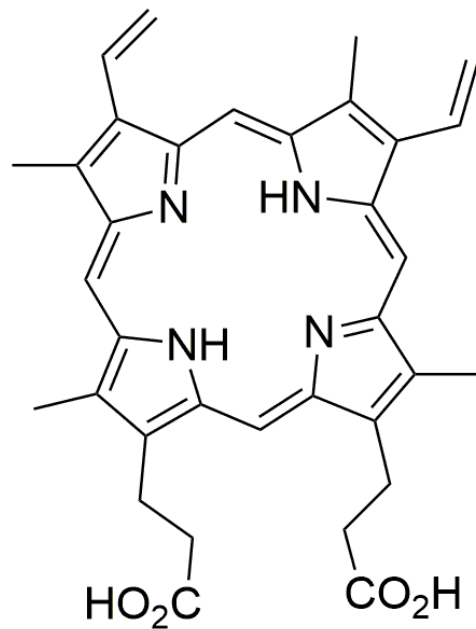
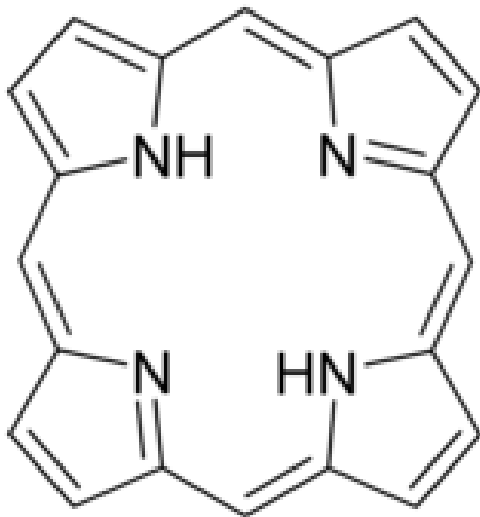
Wprowadzenie

Porfiryny to klasa związków chemicznych charakteryzujących się wspólną cechą strukturalną, jaką jest pochodzenie od porfiryny – związku macierzystego, od którego pochodzi ich nazwa. Centralnym elementem ich budowy jest tzw. układ porfirynowy, będący złożonym, wielopierścieniowym układem aromatycznym, który wykazuje zdolność do absorpcji światła, co wynika bezpośrednio z jego specyficznej budowy elektronowej. Ta struktura umożliwia również tworzenie stabilnych kompleksów z metalami, co jest kluczowe dla ich biologicznych i chemicznych funkcji.

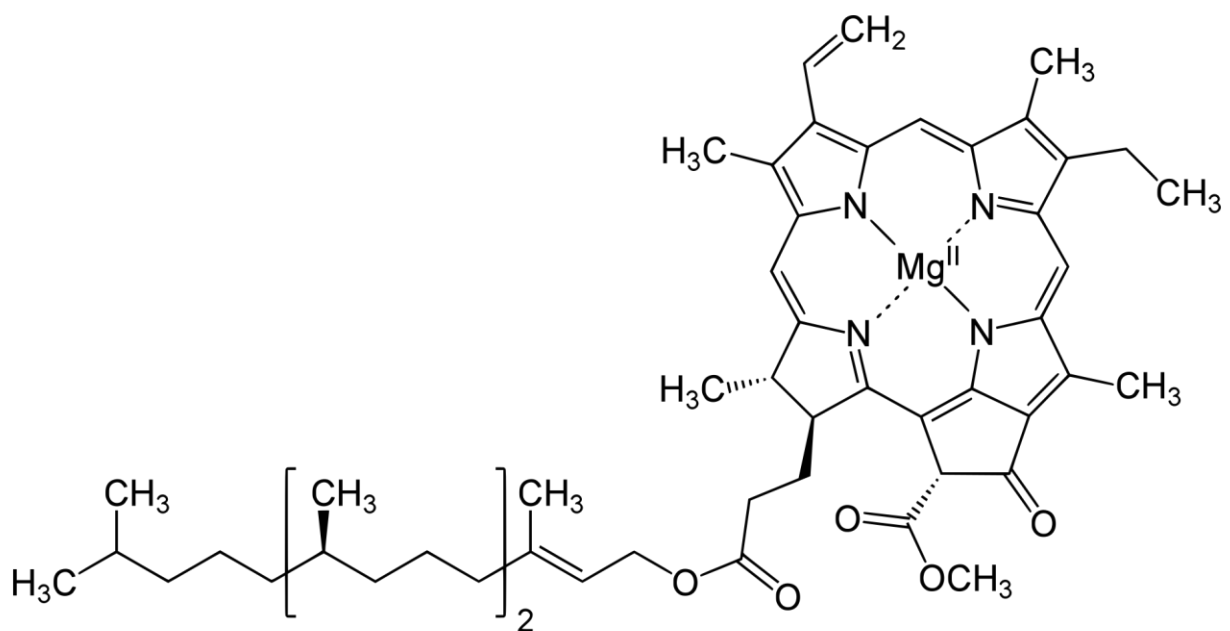
Przykłady naturalnych porfiryn obejmują hem, który jest integralnym składnikiem hemoglobiny w krwi ludzkiej, oraz chlorofil, który odpowiada za fotosyntezę w roślinach. W obu przypadkach porfiryny pełnią kluczową rolę w procesach biologicznych: w hemie poprzez wiązanie i transport tlenu, a w chlorofilu poprzez absorpcję energii świetlnej.

Porfiryny występują również w innych organizmach, a jednym z ciekawych przykładów ich obecności jest protoporfiryna IX, zwana także ooporfiryną, która odpowiada za brązowe zabarwienie skorupki jaj kurzych. Jest to jeden z licznych związków z grupy porfiryn naturalnie występujących w organizmach zwierzęcych.

W niniejszej pracy zostanie szczegółowo opisany proces ekstrakcji porfiryn,
a w szczególności protoporfiryny IX, ze skorupki jaj kurzych.



(Układ porfiryrowy), (Wzór strukturalny porfiryrowy IX)



(Wzór strukturalny chlorofilu A jako przykład związku który zawiera układ porfiryrowy)

Ekstrakcja

Brązowe skorupki jaj kurzych zostają rozdrobnione do postaci drobnej frakcji za pomocą moździerza, a następnie przeniesione do zlewki o pojemności 2000 ml. W kolejnym etapie, za pomocą cylindra miarowego, odmierzone 200 ml wody destylowanej, którą następnie dodano do rozdrobnionych skorupki. Odmierzono także 100 ml stężonego kwasu solnego (HCl, 35–38%), a następnie wprowadzono do mieszaniny. Kolejnym reagentem użytym w procedurze był octan etylu ($C_4H_8O_2$), którego 500 ml dodano do zlewki zawierającej uprzednio wymieszane substancje.

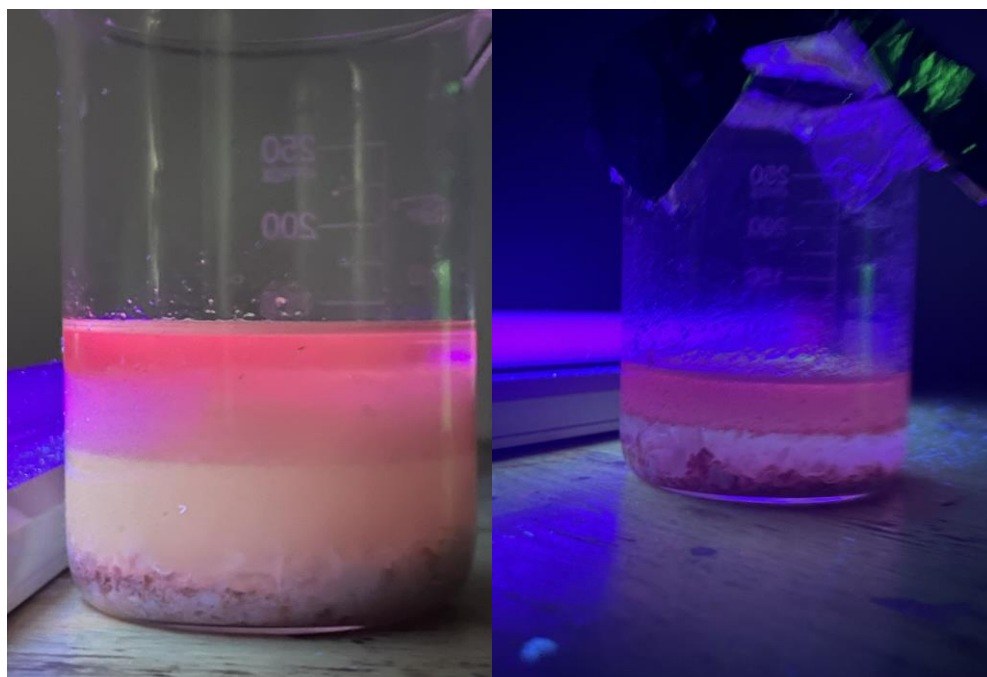
Do przeprowadzenia separacji faz zastosowano zestaw laboratoryjny, składający się ze statywu, łącznika, obręczy na lejek, lejka i sączka. Mieszanina reakcyjna została poddana procesowi sączenia. Ze względu na większą wydajność i szybkość filtracji próżniowej, metoda ta została rekomendowana, jednakże w ramach tego eksperymentu, z uwagi na ograniczenia sprzętowe, zastosowano alternatywną metodę filtracji grawitacyjnej.

Otrzymany przesącz przeniesiono partiami do rozdzielacza, w którym dokonano rozdzielenia fazy wodnej od fazy organicznej zawierającej octan etylu. Związki interesujące nas z punktu widzenia ekstrakcji, w tym protoporfiryna IX, znajdują się w fazie organicznej. W celu zabezpieczenia związków przed degradacyjnym wpływem światła, faza octanu etylu, zawierająca rozpuszczone związki, została przeniesiona do butelki z oranżowego szkła, które chroni zawartość przed promieniowaniem UV i widzialnym.

Taka ostrożność jest niezbędna, ponieważ ekspozycja na światło mogłaby wpłynąć negatywnie na stabilność i właściwości chemiczne ekstraktowanych porfiryn.



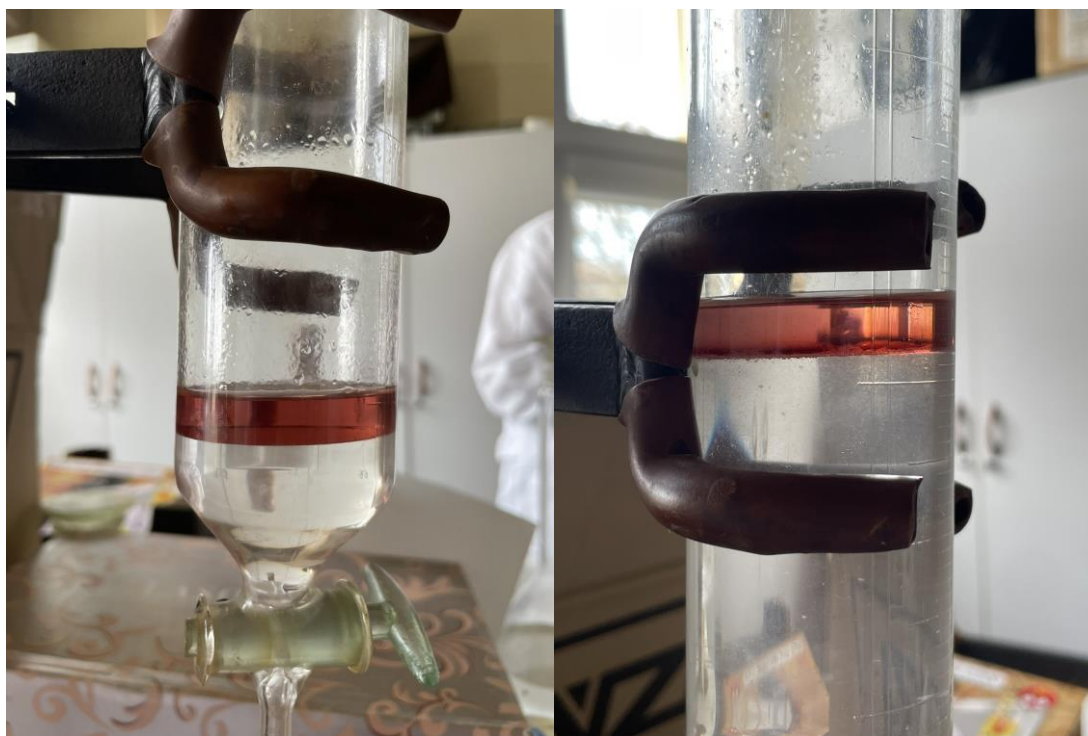
(zmielone skorupki jaj kurzych)



(Przebiegająca reakcja pomiędzy kwasem a skorupkami jaj kurzych)



(Sączenie grawitacyjne, w celu oddzielenia cieczy od materiału biologicznego czyli skorupki jaj kurzych.)

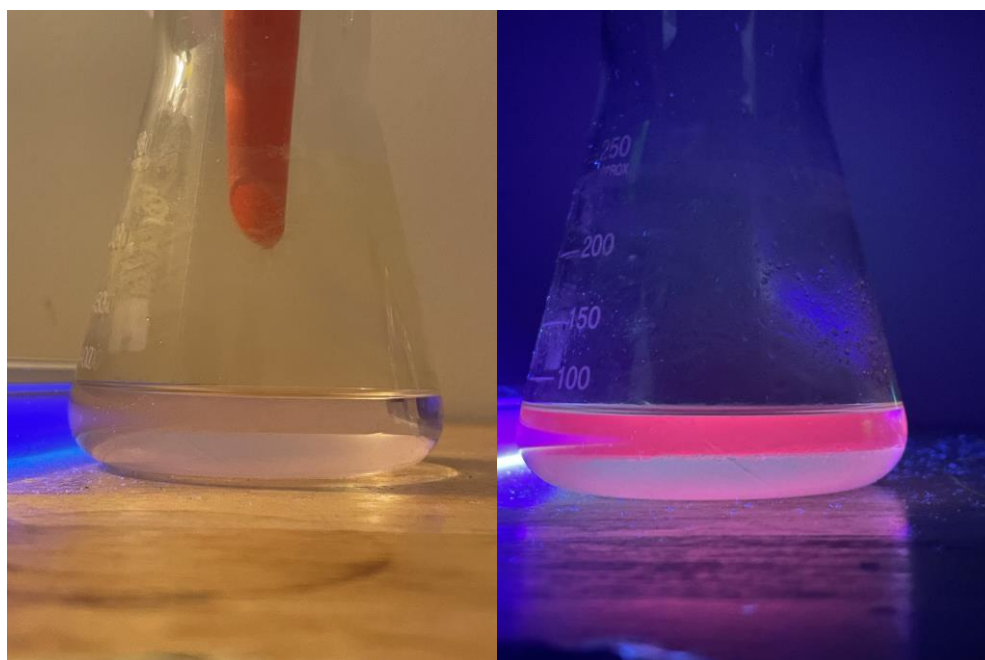


(Rozdzielanie dwóch faz - organicznej i wodnej.)

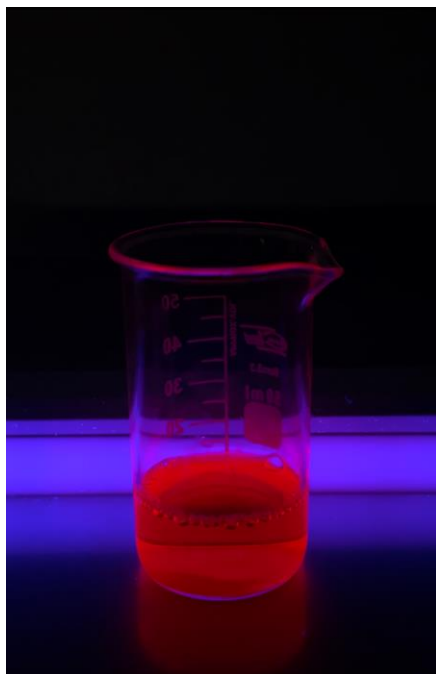
Fluorescencja ekstraktu

Po wzbudzeniu otrzymanego ekstraktu światłem UV można zaobserwować zjawisko emisji czerwonego światła, co jest wynikiem zjawiska fluorescencji. Fluorescencja ta jest bezpośrednio związana z obecnością układu porfiryнового w badanej próbce. Układ ten, ze względu na swoją złożoną budowę aromatyczną i rozległy system sprzężonych wiązań podwójnych, wykazuje zdolność do absorpcji energii w zakresie promieniowania elektromagnetycznego, w tym promieniowania ultrafioletowego (UV).

Mechanizm fluorescencji polega na tym, że cząsteczki porfiryn, po zaabsorbowaniu energii fotonów UV, ulegają wzbudzeniu, przechodząc z niższego stanu energetycznego (stanu podstawowego) do wyższego (stanu wzbudzonego). Następnie, w wyniku relaksacji, energia ta jest częściowo emitowana w postaci światła o dłuższej fali, czyli w zakresie widzialnym – w tym przypadku jako światło czerwone. Zjawisko to jest charakterystyczne dla porfiryn i związane z ich zdolnością do przechwytywania i przekształcania energii świetlnej. Obserwowane zjawisko fluorescencji w analizowanym ekstrakcie potwierdza obecność porfiryn w skorupkach jaj kurzych, a jego szczegółowe badanie może dostarczyć informacji na temat ilości oraz właściwości fizykochemicznych tych związków.



*(Porównanie układów w dwóch naświetleniach.
Po lewej w świetle dziennym, po prawo w świetle UV.)*



(Fluorescencja próbki po rozdzieleniu faz. Na zdjęciu obecna jest jedynie faza organiczna.)

Możliwe modyfikacje procesu ekstrakcji porfiryn ze skorupek jaj kurzych

Podczas prowadzenia ekstrakcji porfiryn z materiału biologicznego, jakim są skorupki jaj kurzych, możliwe są różne modyfikacje procedury, które mogą zwiększyć wydajność procesu, poprawić jakość uzyskanych wyników lub ułatwić prowadzenie eksperymentu. Poniżej przedstawiono trzy potencjalne usprawnienia: zastosowanie blendera zamiast moździerza, obróbka termiczna skorupki oraz wykorzystanie sączenia próżniowego.

Zastosowanie blendera zamiast moździerza

W pierwotnej wersji eksperymentu skorupki jaj kurzych są rozdrabniane ręcznie za pomocą moździerza, co może być czasochłonne i prowadzić do uzyskania nieregularnych frakcji materiału. Zastosowanie blendera jako alternatywy pozwoliłoby na szybsze i bardziej równomierne rozdrobnienie skorupki. Użycie urządzenia mechanicznego daje następujące korzyści:

- **Szybsze i dokładniejsze rozdrabnianie:** Blender o wysokiej mocy może w krótkim czasie rozdrobnić duże ilości skorupki na drobne cząstki, co zwiększa powierzchnię kontaktu materiału z reagentami chemicznymi, a tym samym może poprawić wydajność ekstrakcji.

- **Zwiększona jednorodność próbki:** Mechaniczne rozdrabnianie zapewnia bardziej jednorodny rozmiar cząsteczek, co ułatwia równomierne działanie kwasu solnego na cały materiał.
- **Zmniejszenie błędów ludzkich:** Blender eliminuje subiektywność w procesie rozdrabniania, co minimalizuje różnice między powtórzeniami eksperymentu.

Jednak należy zwrócić uwagę na potencjalne ryzyko związane z użyciem blendera. Mechaniczne rozdrabnianie generuje ciepło, które może wpływać na delikatne związki chemiczne w skorupkach jaj. Dlatego konieczne może być monitorowanie temperatury podczas pracy blendera lub stosowanie urządzenia o niskiej mocy, aby uniknąć degradacji porfiryn w wyniku podwyższonej temperatury.

Obróbka termiczna skorupek jaj

Jedną z możliwych modyfikacji procesu jest wstępna obróbka termiczna skorupek jaj. Takie działanie może mieć pozytywny wpływ na rozpuszczalność protoporfiryny IX w późniejszych etapach ekstrakcji. Obróbka termiczna, w zależności od wybranej temperatury i czasu trwania, mogłaby przynieść następujące korzyści:

- **Usunięcie zanieczyszczeń organicznych:** Podgrzanie skorupki do wysokich temperatur, na przykład w piecu laboratoryjnym w temperaturze ok. 100–150°C, mogłoby skutecznie usunąć resztki organiczne (błonki wewnętrzne, resztki białka), które mogłyby zakłócać proces ekstrakcji lub zanieczyszczać uzyskany ekstrakt.
- **Poprawa struktury materiału:** Termiczna obróbka mogłaby spowodować modyfikacje strukturalne skorupki, ułatwiając penetrację reagentów chemicznych (kwasu solnego i octanu etylu), co mogłoby poprawić wydajność procesu ekstrakcji porfiryn.
- **Dezynfekcja materiału biologicznego:** Obróbka termiczna skutecznie eliminuje drobnoustroje i bakterie obecne na skorupkach, co jest ważne, gdy materiał biologiczny ma być przechowywany lub wykorzystywany w późniejszych badaniach.

Należy jednak pamiętać, że nadmiernie wysoka temperatura może powodować degradację związków porfiryńowych. W związku z tym, jeśli zdecydujemy się na obróbkę termiczną, należy dokładnie kontrolować czas i temperaturę procesu, aby uniknąć strat związanych z degradacją protoporfiryny IX.

Zastosowanie sączenia próżniowego

W pierwotnym eksperymencie zastosowano sączenie grawitacyjne, które jest wolniejsze i mniej efektywne w porównaniu do filtracji próżniowej. Wprowadzenie sączenia próżniowego może znacznie poprawić szybkość i wydajność procesu separacji fazy organicznej od pozostałości stałych. Zalety tej modyfikacji obejmują:

- **Szybsza filtracja:** W przypadku sączenia próżniowego, różnica ciśnień przyspiesza przepływ cieczy przez filtr, co znacząco skraca czas potrzebny na oddzielenie cieczy od stałych fragmentów skorupki.
- **Wyższa wydajność:** Sączki próżniowe są bardziej efektywne w usuwaniu drobnych cząstek stałych, co pozwala uzyskać klarowny przesącz. Dzięki temu minimalizuje się ilość zanieczyszczeń w fazie organicznej zawierającej porfiryny.
- **Redukcja strat materiału:** Ze względu na szybkie działanie, sączenie próżniowe zmniejsza ryzyko degradacji porfiryn pod wpływem światła lub powietrza, ponieważ czas kontaktu ekstraktu z otoczeniem jest krótszy.

Zastosowanie filtracji próżniowej wymaga odpowiedniego wyposażenia, w tym zestawu do próżni (pompa próżniowa, kolby filtracyjne, sączki o odpowiedniej przepuszczalności). Jest to więc rozwiązanie technicznie bardziej zaawansowane, ale z pewnością przynoszące korzyści, jeśli chodzi o efektywność i czystość uzyskanych ekstraktów.

Podsumowanie/Wnioski

Badania nad ekstrakcją protoporfiryny IX ze skorupki jaj kurzych potwierdziły skuteczność zastosowanej metody, opartej na rozdrobnieniu skorupki i ich działaniu kwasem solnym oraz octanem etylu. Proces ten, mimo że efektywny, można usprawnić poprzez wprowadzenie kilku modyfikacji, takich jak zastosowanie blendera do rozdrabniania skorupki, obróbka termiczna w celu usunięcia zanieczyszczeń oraz sączenie próżniowe dla zwiększenia wydajności filtracji. Ekstrakt wykazał fluorescencję pod wpływem światła UV, co stanowi dowód na obecność porfiryn i wskazuje na potencjał tej metody w dalszych badaniach nad izolacją tych związków. Modyfikacje mogą dodatkowo poprawić jakość i szybkość procesu, co otwiera możliwości bardziej efektywnej ekstrakcji porfiryn z materiałów biologicznych na większą skalę.

Źródła

1. Naturalne związki organiczne / Aleksander Kotodziejczyk
2. Porphyrins in egg shells (Short Communication) <https://doi.org/10.1042/bj1370596>
3. Comparison of the total amount of eggshell pigments in Dongxiang brown-shelled eggs and Dongxiang blue-shelled eggs <http://dx.doi.org/10.3382/ps.2008-00434>
4. A Review of eggshell pigmentation <https://doi.org/10.1079/WPS19870016>

