



PIHKAN ERISTÄMINEN KÄVYISTÄ

KOHDERYHMÄ: Työ soveltuu lukiolaisille. Työn voi toteuttaa kursseilla KE1, KE2 tai työkurssilla.

KESTO: Kokeellinen osuus kestää 90 min. (Liuotus 60 min)

MOTIVAATIO: Oppilaat saavat itse suunnitella koejärjestelyn.

TAVOITE: Työn tavoitteena on oppia suunnittelemaan koejärjestely, jossa hyödynnetään aiempaa tietoa ja kokemusta uutosta sekä aineiden liukoisuuksista.

AVAINSANAT: Uutto - Pihka - Abietiinihappo - TLC - Liukoisuus - Tutkimuksellisuus

Olet kesätyöntekijänä tutkimuslaitoksessa, joka on juuri alkanut tutkia havupuiden pihkaa lääkinällisissä tarkoituksissa. Ohjaajasi haluaisi kehittää jonkin kätevän tavan, jolla kävyistä voitaisiin eristää pihkaa tutkimustarkoituksiin. Pääset avustamaan häntä tässä projektissa. Ohjaajallasi on jo tiedossa menetelmä, jolla voidaan tarkistaa, onnistuiko pihkan eristäminen kävyistä. Sinun tehtäväsi on nyt keksiä sopiva kokeellinen menetelmä, jolla pihka saataisiin kävyistä talteen!

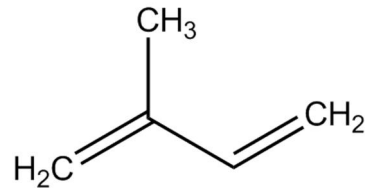
TAUSTAA

Oletko koskaan miettinyt, mitä pihka on? Pihkalla on tärkeä merkitys puulle. Jos esimerkiksi puun kuori rikkoutuu eli puuhun tulee haava, alkaa siitä erittyä pihkaa. Haavasta erittynyt pihka suojaa puuta erilaisilta taudinaiheuttajilta.

Havupuiden pihka sisältää terpeenejä. Terpeenit ovat orgaanisia yhdisteitä, jotka ovat muodostuneet isopreeniyksiköistä. Isopreeniyksiköiden lukumäärä vaihtelee eri terpeeneissä ja ne jaetaan ryhmiin sen perusteella. Esimerkiksi monoterpeenit ovat muodostuneet kahdesta isopreeniyksiköstä. Terpeenejä on sekä kasvi- että eläinkunnassa.



Kuva: Evelina Ander,
<https://www.flickr.com/photos/evelinaa/5646933040/sizes/l/>

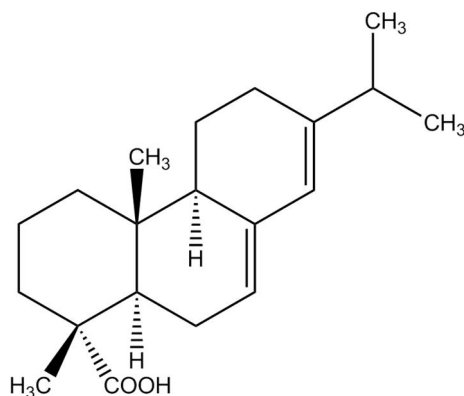


Isopreeniysikkö eli 2-metyyli-1,3-butadieeni

Pihkasta noin 20–50 % on helposti haihtuvia monoterpeenejä. Jos kävelet havumetsässä lämpimänä päivänä, saatat tuntea havupuiden tuoksun. Jouluna taas aidosta joulukuusesta leviää taloon ominainen tuoksu. Tuoksu johtuu lämmön vaikutuksesta haihtuneista monoterpeeneistä.

Helposti haihtuvat monoterpeenit ovat myös luonnon omaa ”saastetta”, sillä ilmakehässä ne voivat saavuttaa suuria pitoisuuksia. Ne kuuluvat niin kutsuttuihin VOC-yhdisteisiin (*volatile organic compound*, helposti haihtuvat orgaaniset yhdisteet), joiden päästöjä ihmisen aiheuttamista lähteistä pyritään hillitsemään.

Pihkassa on myös yhdisteitä, jotka eivät haihdu helposti. Näitä ovat pääasiassa diterpeenit, jotka ovat muodostuneet neljästä isopreeniysiköstä. Eräs yleinen diterpeeni mäntykasveissa on abietiinihappo.



Abietiinihappo

Havupuiden pihkalla on monenlaisia käyttökohteita. Tuoksuvia yhdisteitä voidaan käyttää esimerkiksi hajusteteollisuudessa. Jousisoittimien jousiin hangataan paremman soinnin aikaansaamiseksi hartsia, joka on kovetettua



pihkaa. Pihkaa on käytetty myös kansanparantajien keskuudessa Suomen Lapissa. Puista kerättyä pihkaa keitettiin voin tai sianihran kanssa, jolloin saatiin pihkasalvaa. Pihkasalvaa käytettiin ihosairauksien ja haavojen hoidossa.

Pihkavoidetta (esim. Abilar® 10 % pihkaa) löytyy nykyään apteekeista ja se on tarkoitettu haavojen hoitoon. Saatavilla on myös pihkalakkaa (esim. Abicin® 30 % pihkaa), jota käytetään kynsisienien hoidossa. Vaikuttavana aineena tutkijat pitävät pihkassa olevia antibakteerisia hartsihappoja, joihin kuuluu esimerkiksi abietiinihappo.

ETUKÄTEISTEHTÄVÄ

Mitä havupuiden pihka on?

Havupuiden pihka on muodostunut orgaanisista yhdisteistä, joita kutsutaan terpeeneiksi.

Mitä funktionaalisia ryhmiä on abietiinihappossa? Mitä voit päätellä sen liukoisuudesta esimerkiksi veteen?

Karboksyyliryhmä, kaksoissidoksia ja rengasrakenteita.

Abietiinihappo ei liukene veteen, koska vesi on poolinen, mutta abietiinihappossa ei ole riittävän voimakkaasti poolisia alueita. Abietiinihappo liukenee esimerkiksi asetoniin.

Pihkavoide on rohdostuote. Ota selvää, mitä eroa on lääkkeellä, lääkeaineella ja rohdoksella.

Lääkeaine on jokin tunnettu molekyyli, joka toimii lääkkeessä vaikuttavana aineena. Lääke voi sisältää vaikuttavien aineiden lisäksi esimerkiksi imeytymiseen tai makuun vaikuttavia aineita. Rohdokset ovat luonnosta saatavia aineita, esimerkiksi kuivattuja kasvin osia. Rohdoksia voidaan käyttää lääkinnällisiin tarkoituksiin. Rohdoskasvista voidaan myös esimerkiksi uuttaa erilaisia öljyjä, jotka ovat edelleen rohdoksia.

Missä pihka sijaitsee puussa? Entä missä pihka voisi sijaita kävyssä?

Pihkaa on puun rungossa kulkevissa pihkatiehyissä, joissa pihka myös erittyy. Pihkaa on käytännössä koko kävyssä, mutta siihen pääsee käsiksi rikkomalla kävyn rakenteen.

Mitä eri kemian erotusmenetelmiä tiedät?

Tislaus, uutto, ...



REAGENSIT

- (männyn) vihreitä käpyjä
- asetoni
- *n*-heksaani
- abietiinihappo
- etyyliasetaatti

TARVIKKEET

- sivuleikkurit
- huhmare ja survin
- 25 ml dekantterilasi
- pieni magneettisauva ja magneettisekoittaja
- pasteur-pipetti
- kromatografia-ajoastia (tai dekantterilasi ja kellolasi)
- TLC-levy
- kapillaariputkia
- pinsetit
- UV-valo

TYÖOHJE

Ratkaistava ongelma: Suunnittele koejärjestely, jolla voisit saada eristettyä kävystä pihkaa. Huomioi työturvallisuus suunnitelmaa tehdessäsi.

Pihkan eristäminen:

Valitse yksi noin 5 gramman painoinen, mahdollisimman vihreä käpy. Leikkaa käpy pieniin osiin. Käpyrouhetta voi halutessaan hienontaa vielä huhmareessa, johon on lisätty 10 ml asetonia.

Lisää käpyrouhe ja mahdollinen asetoni keitinlasiin. Mikäli asetonia on haihtunut tai sitä ei ole vielä käytetty, lisää *n*-heksaania ja asetonia 1:1 niin, että käpyrouhe

TYÖTURVALLISUUS JA JÄTTEIDEN KÄSITTELY

Laboratoriotakki, -lasit ja – hanskat. Työ on tehtävä **vetokaapissa**.

Asetoni ja **etyyliasettaatti** ovat helposti syttyviä, silmiä ärsyttäviä ja ihoa kuivattavia aineita. Höyryjen hengittämistä tulee välttää.

***n*-heksaani** on helposti syttyvä, aiheuttaa ihoärsytystä ja saattaa vaurioittaa pitkäaikaisessa käytössä elimiä. On ehdottomasti vältettävä höyryjen hengittämistä! Heksaani on myrkyllistä vesieliöille.

Abietiinihappo voi aiheuttaa ihoärsytystä. Pölyn hengittämistä on vältettävä.

Huuhtelee roiskeet heti runsaalla vedellä! Tarvittaessa lääkäriin.

Erottele kiinteä jäte nestemäisestä. Kiinteä jäte hävitetään sekajätteen mukana. Liuosjätteet kerätään orgaanisiin liuottimiin.



peittyy liuottimilla. Lisää magneettisauva ja aloita sekoitus. Varmista, että magneetti pyörii tasaisesti eikä sekoitus ole liian voimakas. Astia on hyvä peittää esimerkiksi kellolasilla. Anna olla sekoituksessa n. 1 tunti.

Erottele käpyrouhe liuottimesta esimerkiksi dekantoimalla tai pipetillä. Liuottimessa pitäisi olla nyt liuenneena kävyn pihka-aineet.

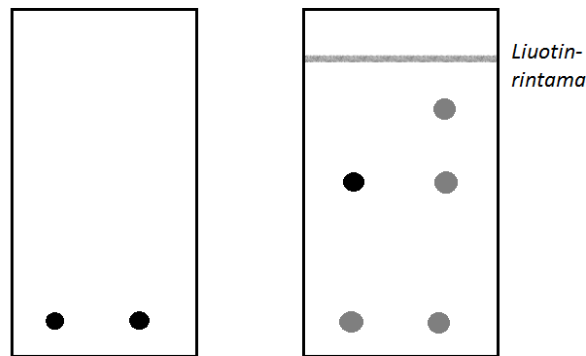
Ohutkerroskromatografinen tunnistus:

Eluenttiin eli ajoliuokseen tarvitaan *n*-heksaania ja etyyliasetaattia 4:1 (esim. 40 ml *n*-heksaania ja 10 ml etyyliasetaattia). Kaada dekanterilasın pohjalle ajoliuosta 0,5 cm kerros.

Leikkaa TLC-levystä noin 2 cm x 5 cm kokoinen suorakaiteenmuotoinen pala. Käsittele levyä varoen! Älä koske paljain käsin siihen, ettei levyn pintaan siirry esimerkiksi rasvaa iholta.

Valmista abietiinihaposta standardi, johon voit verrata eristettyjä pihka-aineita. Ota pieni spaattelin kärjellinen abietiinihappoa ja lisää siihen pisaroittain etyyliasetaattia niin, että se juuri ja juuri liukenee.

Siirrä tutkittavat näytteet levyille. Kasta kapillaariputki abietiinihappostandardiin ja paina sitä muutaman kerran levyn alaosaan, vähintään 0,5 cm päähän reunoista. Kasta toinen kapillaariputki pihkaliuokseen ja paina sitä noin 10 kertaa levyn toiseen laitaan. Anna täplien kuivahtaa hieman, ennekuin painat kapillaariputken uudelleen täsmälleen samaan kohtaan levyä. Näin näytetäplät eivät kasva liian isoiksi.



Vasemmalla levy ennen ajoa ja oikealla ajon jälkeen.

Laita levy ajokammioon ja anna ajoliuottimen nousta melkein levyn yläreunaan saakka. Ota levy kammioista pois pinseteillä ja anna sen kuivua. Aseta levy UV-valoon, niin pystyt havainnoimaan tutkittavat aineet. Voit myös merkitä täplien ääriiviivat lyijykynällä.

HUOM! Pihkaa voidaan käyttää vielä työssä ”Pihkan antibakteeriset ominaisuudet”.

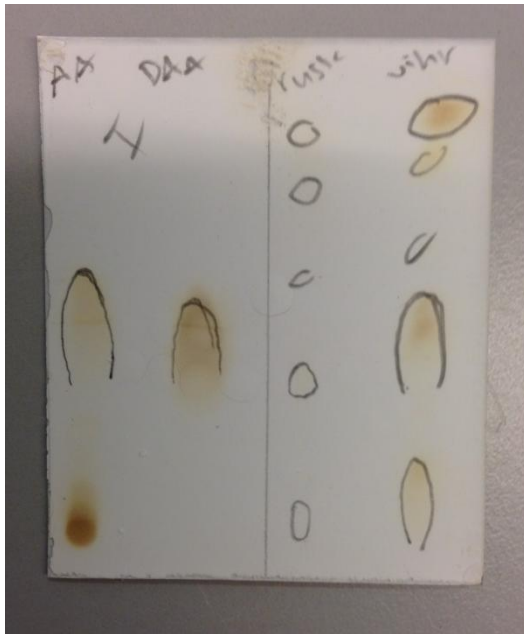
Työn ohjaajalle: Jos käpyrouhetta on hienonnettu asetonissa, voi asetoniliuoksesta mahdollisesti jo ajaa TLC:n. On tärkeää kuitenkin painottaa, ettei kannata heittää käpyrouhetta tai uuttoliuotinta menemään, ennen kuin on nähnyt tulokset TLC:llä. Jos TLC antaa heikon tuloksen, voi käpyrouheen uuttamista jatkaa vielä sekoituksessa.

Työn voi jakaa osiin ja toteuttaa eri päivinä. On kuitenkin huomattava, että terpeenit, erityisesti abietiinihappo hajoavat ajan kanssa, joten turhaa viivyttelyä on vältettävä.

Myös standardina käytettävä abietiinihappo tulee aina säilyttää jääkaapissa valolta suojattuna ilmatiiviissä astiassa.

Eluentista riittää useampaan kammioon ja kammion koosta riippuen siinä voidaan ajaa useita TLC-levyjä kerralla.

Vihreitä käpyjä on puissa kesällä. Työtä on tähän mennessä testattu ainoastaan männynkävyillä, mutta esimerkiksi apteekin pihkavoiteessa on kuusen pihkaa. Ei pitäisi olla syitä, jotka estävät myös vihreiden kuusen käpyjen käytön työssä.



Kuvassa TLC-levy, jossa näytetäplät on värjätty kastamalla levy rikkihappoon ja sen jälkeen kuumennettu lämpölevyllä varovasti.

*Näytetäplät vasemmalta oikealle:
abietiinihappo, dehydroabietiinihappo,
ruskeasta (vanhasta) kävystä saatu uutos ja
vihreästä kävystä saatu uutos.*

POHDINTAA TYÖN JÄLKEEN

Onnistuitko eristämään pihkaa kävyistä? Miten voit perustella vastauksesi?

Muuttaisitko koejärjestelyä työn testaamisen jälkeen? Miten ja miksi?

LÄHDE:

Anna-Kaarina Palomäki, Pro Gradu –tutkielma: Lääkeaineisiin ja rohdoksiin liittyvien tutkimuksellisten kokeellisten töiden kehittäminen lukion kemian opetukseen.