

# Sinteza vanilina

---

Ivančić, Mario

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Split, Faculty of Science / Sveučilište u Splitu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:166:373509>

Rights / Prava: [Attribution 4.0 International](#)/[Imenovanje 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-03**

Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Science](#)



SVEUČILIŠTE U SPLITU  
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET  
ODJEL ZA KEMIJU

MARIO IVANČIĆ  
**SINTEZA VANILINA**  
ZAVRŠNI RAD

SPLIT, 2023.

Ovaj rad, izrađen u Splitu, pod vodstvom izv. prof. dr. sc. Ivice Ljubenkova i neposrednim voditeljstvom asistentice Linde Mastelić, predan je na ocjenu Odjelu za kemiju Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Splitu radi stjecanja zvanja prvostupnik biologije i kemije.

## Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Splitu

Završni rad

Prirodoslovno-matematički fakultet

Odjel za kemiju

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Hrvatska

### SINTEZA VANILINA

Mario Ivančić

Vanilin je spoj iz skupine aromatskih benzaldehida. Dobro je topljiv u organskim otapalima, a metoksilna skupina čini ga topljivim u polarnim otapalima. Primarnu primjenu nalazi u prehrambenoj industriji, a također se koristi i u farmaceutskoj industriji za sintezu farmaceutskih proizvoda i u industriji parfema zahvaljujući svom ugodnom mirisu. Prirodni izvor vanilina je biljka vanilije, a prvi su se vanilijom koristili narodi Srednje Amerike još u 12. stoljeću. Prvi je put izoliran 1858. godine, sintetiziran 1874. iz koniferina, a krajem 19. stoljeća postaje komercijalno dostupan. Danas postoji više načina sinteze: biosinteza, sinteza iz lignina te kemijska sinteza iz jednostavnijih preteča poput 4-hidroksibenzaldehida s natrijevim hidroksidom. Cilj ovoga rada je usporedba rezultata sinteze vanilina iz 4-hidroksibenzaldehida provedene u studentskom laboratoriju s rezultatima dostupnim u literaturi.

**Ključne riječi:** vanilin, sinteza vanilina, IR spektroskopija

Rad je pohranjen u knjižnici Prirodoslovno-matematičkog fakulteta, Sveučilišta u Splitu

**Rad sadrži:** 29 stranice, 19 grafičkih prikaza, 1 tablicu i 24 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

**Mentor:** Dr. sc. Ivica Ljubenkov, izvanredni profesor

**Neposredni voditelj:** Linda Mastelić, mag. educ. biol. et chem.

**Ocjenjivači:** Dr. sc. Ivica Ljubenkov, izvanredni profesor

Dr. sc. Renata Odžak, izvanredni profesor

Dr. sc. Marina Kranjac, docent

Rad prihvaćen: 18. srpnja 2023. godine

## Basic documentation card

University of Split

B. Sc. Thesis

Faculty of Science

Department of Chemistry

Ruđera Boškovića 33, 21000 Split, Croatia

### VANILLIN SYNTHESIS

Mario Ivančić

Vanillin is a compound belonging to the aromatic benzaldehyde group. It is mostly soluble in organic solvents, and the methoxy group makes it soluble in polar solvents. It is primarily used in the food industry but it is also used in the pharmaceutical to make pharmaceuticals and by the perfumes industry thanks to its pleasant scent. The vanilla plant is the natural source of vanillin, and, in the 12<sup>th</sup> century, the people of Central America were the first to use it. Vanillin was first isolated in 1858, synthesized in 1874 from coniferin, and became commercially available at the end of the 19<sup>th</sup> century. Today there are several ways to synthesize vanillin: biosynthesis, synthesis from lignin and chemical synthesis from simpler precursors such as 4-hydroxybenzaldehyde with sodium methoxide. The aim of this study is to compare the results of vanillin synthesis from 4-hydroxybenzaldehyde done in a student laboratory with those available in literature.

**Keywords:** vanillin, vanillin synthesis, IR spectroscopy

Thesis deposited in the library of Faculty of Science, University of Split

**Thesis consists of:** 29 pages, 19 figures, 1 tables and 24 references, original in: Croatian

**Mentor:** Ivica Ljubenkov, Ph.D. *Associate Professor*

**Assistant Supervisor:** Linda Mastelić, mag. educ. biol. et chem. *Research Assistant*

**Reviewers:** Ivica Ljubenkov, Ph.D. *Associate Professor*

Renata Odžak, Ph.D. *Associate Professor*

Marina Kranjac, Ph.D. *Assistant Professor*

Thesis accepted: July 18<sup>th</sup> [2023.]

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. RAZRADA TEME .....	2
2.1. Vanilin.....	2
2.2. 4-hidroksibenzaldehid.....	4
2.3. Spojevi srodni vanilinu .....	5
2.3.1. Etilvanilin.....	5
2.3.2. <i>o</i> -Vanilin .....	6
2.4. IR spektroskopija .....	7
2.5. Načini sinteze vanilina.....	8
2.5.1. Biosinteza.....	8
2.5.2. Sinteza pomoću mikroorganizama.....	9
2.5.3. Vanilin iz lignina.....	10
3. MATERIJALI I METODE.....	14
3.1. Kemikalije .....	14
3.2. Otapala .....	14
3.3. Sinteza vanilina.....	15
3.3.1. Prvi korak sinteze .....	15
3.3.2. Drugi korak sinteze.....	17
3.4. Analiza spojeva IR spektroskopijom.....	19
4. REZULTATI I RASPRAVA.....	21
4.1. Rezultati sinteze .....	21
4.2. Rezultati IR spektroskopije.....	22
4.3. Rasprava.....	25
5. ZAKLJUČAK.....	26
6. LITERATURA .....	27

## 1. UVOD

Vanilin je organski spoj iz skupine benzaldehida. Riječ je o spoju formule  $C_8H_8O_3$ , a prema nomenklaturi Unije za čistu i primijenjenu kemiju, kemijski naziv vanilina je 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid. Vanilin je blago polarni spoj koji se tali pri  $81,5\text{ }^\circ\text{C}$  te se slabo otapa u vodi, a dobro u organskim otapalima. Čisti vanilin je bijela kristalična tvar ugodnog i slatkastog mirisa.

Cilj je ovoga rada sintetizirati vanilina koristeći se 4-hidroksibenzaldehidom kao reaktant te dobivene rezultate usporediti dostupnim u literaturi. Sinteza se odvija u dva koraka. Prvi korak je bromiranje 4-hidroksibenzaldehida na *meta*-položaj, a drugi korak je  $S_N2$  supstitucija broma metoksilnom skupinom.

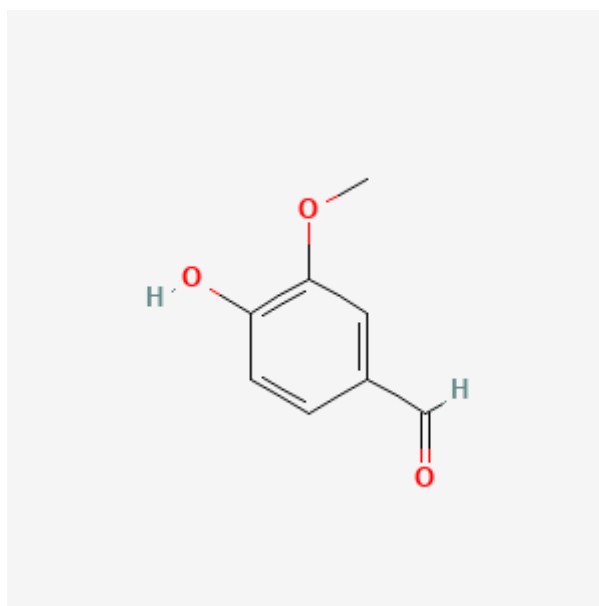
U prvom koraku sinteze dikloretan služi ako otapalo, a reaktanti su 4-hidroksibenzaldehid, sumporna kiselina, vodikov peroksid i brom otopljen u dikloretanu. Reakcija se odvija pri sniženoj temperaturi i atmosferskom tlaku. U drugom koraku sinteze dimetilformamid je otapalo, a kao reaktanti su bakrov(II) klorid, natrijev metoksid otopljen u metanolu i 3-brom-4-hidroksibenzaldehid koji je dobiven u prethodnom koraku.

Za provjeru dobivenog međuprodukta i konačnog produkta korištena je IR spektroskopija. Uspoređeni su spektri 4-hidroksibenzaldehida i 3-brom-4-hidroksibenzaldehida kako bi se vidjela njihova razlika te spektri sintetiziranog vanilina i čistog vanilina kako bi se potvrdila struktura.

## 2. RAZRADA TEME

### 2.1. Vanilin

Vanilin je glavni sastojak svih ekstrakata vanilije na tržištu. (Slika 1). Ima ugodan okus i miris po vaniliji te blago oksidira kada je izložen zraku.



Slika 1: Struktura vanilina

(izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vanillin#section=Structures>)

U prirodi ga sintetizira biljka vanilije (*Vanilla planifolia*) iz porodice orhideja (*Orchidaceae*), koju isključivo oprašuju pčele iz porodice *Eulaema*. Vanilin se u biljci ne nalazi u slobodnom obliku već je vezan za glukozu u obliku  $\beta$ -D-glukozida. Posebnost biljke vanilije je da svaka jedinka cvjeta samo jednom godišnje, u razdoblju od ožujka do lipnja te ostaje otvorena maksimalno 24 sata. Ova karakteristika, uz činjenicu da nije sigurno hoće li uopće doći do oprašivanja, čini plodove vanilije iznimno rijetkima. Prirodno stanište biljke je Meksiko, ali danas ju je moguće pronaći na plantažama duž tropskog pojasa, primarno u Madagaskaru i Indoneziji. Sve suvremene plantaže vanilije ručno oprašuju svoje biljke, što je bio slučaj i u prošlosti. Plodovi vanilije beru se dok su još zeleni i tada se vanilin isključivo nalazi u svom konjugiranom obliku kao  $\beta$ -D-glukozid. Tek 8 do 9 mjeseci nakon berbe, vanilin se oslobađa u svom čistom obliku (Anilkumar, 2004.). Sam proces ekstrahiranja vanilina iz



ploda vanilije dug je, skup i kvaliteta produkta nije stalna. Zbog navedenih problema, uzgoj prirodne vanilije jako je zahtjevan te je samim time prirodno uzgojena vanilija, odnosno prirodno ekstrahirani vanilin jako skup.



Slika 2: *Vanilla planifolia* (izvor: <https://afriorchids.co.za/products/afri657>)

Generalno je prihvaćeno da je vanilija prvo kultivirana u Srednjoj Americi i da se u 16. stoljeću proširila u Europu. Novija otkrića upućuju na to da se koristila već u brončanome dobu (Linares i sur. 2019). Drevni su se Asteci vanilijom koristili kao dodatkom čokoladnom piću poznatom pod imenom *xocolatl*, a tragovi vanilije pronađeni su u vinskih čupovima u Jeruzalemu (Amir i sur., 2022).

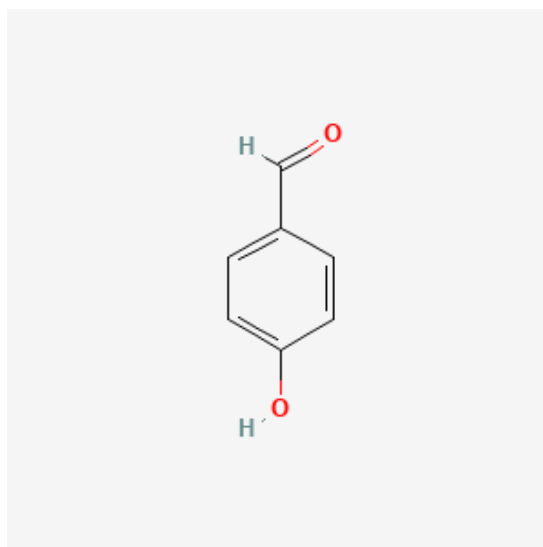
Francuski znanstvenik Nicolas-Theodore Gobley je 1858. godine prvi izolirao čisti vanilin tako što je uparavao ekstrakt vanilije do suha i potom prekrystalizirao dobivenu krutinu u vrućoj vodi. Manje od 20 godina kasnije, 1874. njemački znanstvenici Ferdinand Tiemann i Gustav Ludwig Friedrich Wilhelm Haarmann otkrili su strukturu vanilina i uspješno ga sintetizirali iz glukozida izoeugenola, koji se nalazi u kori i smoli drveća iz roda *Pinus*. Uzevši u obzir cijenu prirodno ekstrahiranog vanilina, ovaj laboratorijski sintetizirani vanilin otvorio je vrata novim idejama o jednostavnijim i jeftinijim načinima dobivanja vanilina (Hocking, 1997). Karl Reimer svega je 2 godine nakon Tiemanna i Haarmanna otkrio novi, jeftiniji put sinteze iz *o*-metoksifeonla. Skupa s Tiemannom usavršio je postupak koji je danas poznat kao Reimer-Tiemann reakcija (Wynberg, 1960).

Krajem 19. stoljeća ulje klinčića postalo je komercijalno dostupno, što je dodatno olakšalo sintezu vanilina i povećalo njegovu komercijalnu dostupnost. Razlog tome je eugenol, spoj koji se može koristiti kao prekursor za sintezu vanilina, a nalazi se u ulju klinčića. Sinteza vanilina iz lignina počela je 1930-ih godina koja se koristila ostacima drva iz industrije papira, a koja je tada činila 60% svjetskog tržišta. Danas se tim procesom proizvodi svega 15% svjetskog vanilina, dok ostalih 85% čini sinteza iz *o*-metoksifenola i oksoacetatne kiseline (Esposito i sur. 1997). Procijenjeno je da se godišnje sintetizira 12 000 tona vanilina, a samo 1 800 tona dobiveno je iz ploda vanilije (Dignum i sur., 2001).

Vanilin primarnu primjenu ima u prehrambenoj industriji kao dodatak slasticama i ekstrakt za kućnu uporabu, te se čak 60% svjetskog vanilina koristi u tu svrhu, 33% koristi se u mirisnim svijećama i kozmetici, a ostalih 7% pronalazi primjenu u farmaceutskoj industriji zahvaljujući njegovim protuupalnim svojstvima (Paul i sur., 2021).

## **2.2. 4-hidroksibenzaldehid**

Biljni i mišji metabolit, 4-hidroksibenzaldehid ili *p*-hidroksibenzaldehid je spoj koji, kao i vanilin, spada u skupinu aromatskih benzaldehida. (Slika 3). To je kristalična, blago smeđa tvar koja sublimira na zraku. Molarna masa mu je 122,12 g/mol, talište pri atmosferskom tlaku je 117 °C a vrelište 310 °C. Slabo se otapa u vodi, a dobro u organskim otapalima. Izaziva iritaciju kože i očiju u direktnom kontaktu, ali sigurno ga je konzumirati u jako malim količinama pa služi kao pojačivač okusa u hrani. Također služi u sintezi lijekova i drugih farmaceutskih proizvoda.



Slika 3: Struktura 4-hidroksibenzaldehida (izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Hydroxybenzaldehyde>)

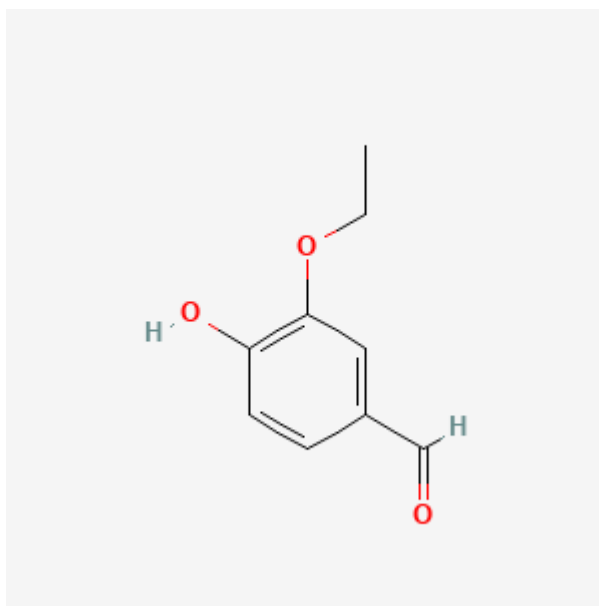
## 2.3. Spojevi srodni vanilinu

### 2.3.1. Etilvanilin

Etilvanilin je spoj koji, kao i vanilin, spada u skupinu benzaldehida i strukturno je jako sličan vanilinu. Jedina je razlika u trećem C-atomu, gdje etilvanilin umjesto metoksilne skupine ima etoksilnu (Slika 4). Zbog tako slične građe, ta dva spoja imaju slična fizikalna svojstva.

Talište etilvanilina je za svega 5 °C niže od tališta vanilina i iznosi 76,7 °C te je slabije topljiv u vodi. Nestabilan je na zraku, osjetljiv na svjetlo i zagrijavanjem se raspada dajući iritirajuće pare oštra mirisa. Također, u dodiru sa željezom i solima alkalijskih metala poprima crvenu boju i gubi karakterističnu aromu. Prednost etilvanilina nad vanilinom je činjenica da ima 3 puta jači okus i miris te se zbog istih njime koristi industrija parfema.

Davne 1889. godine Jacques Edouard Guerlain impulzivno je dodao značajnu količinu kemijski sintetiziranog etilvanilina u ujakov parfem *Jicky*. Time ne samo da je napravio prototip za svoj *magnum opus*, parfem *Shalimar*, već je pokazao parfumerijama svoga vremena da ne moraju ovisiti isključivo o prirodnim aromama nego da kemija ima odgovor (Fahlbusch i sur., 2003).

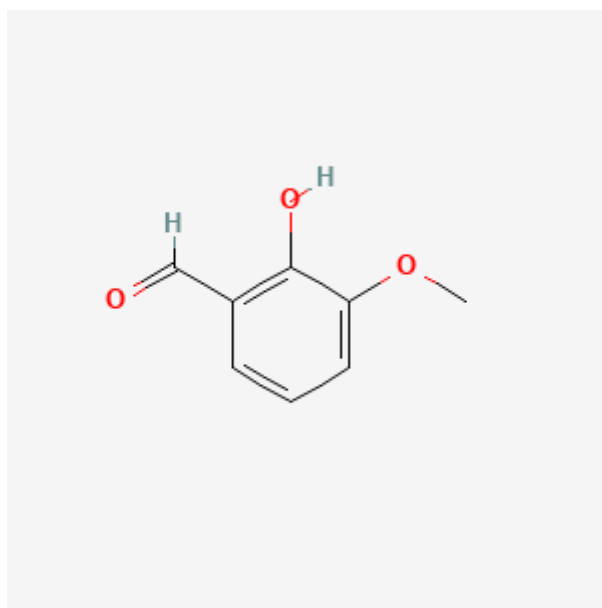


Slika 4: Struktura etilvanilina

(izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethyl-vanillin#section=2D-Structure>)

### 2.3.2. *o*-Vanilin

*Orto*-vanilin ima istu molekulsku formulu kao vanilin, ali metoksilna skupina nalazi se na *orto*-položaju umjesto na *meta*- položaju, kako i samo ime govori (2-hidroksi-3-metoksibenzaldehid). Spoj je prvi put izolirao Ferdinand Tiemann 1876. godine (Tiemann, 1876).



Slika 5: Struktura *o*-vanilina

(izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8991#section=2D-Structure>)

Za razliku od vanilina, *o*-vanilin je opasno konzumirati, slab je inhibitor tirozinaze i uzrokuje iritacije kože, očiju i dišnog sustava (Kubo, Kinst-Hori, 1999). Uz to pokazuje slaba antimutagena i jaka komutagena svojstva kod bakterije *Escherichia coli* (Watanabe i sur., 1989). Zbog svega prethodno navedenog, glavnu korist danas pronalazi u farmaceutskoj industriji kao prekursor raznim lijekovima i u istraživanju mutageneze. Također se može pronaći kao dodatak bojama te u proizvodnji i tretiranju životinjske kože, ali značajno manje (Gerngross, 1920).

## 2.4. IR spektroskopija

Infracrvena (IR) spektroskopija je tehnika koja se koristi elektromagnetskim zračenjem u infracrvenom području kako bi izazvala vibracije veza unutar ispitivane molekule. Zasniva se na interakciji elektromagnetskih valova i kemijskih veza unutar molekule te mijenja vibracijska stanja molekule. Vibracije se odgađaju unutar infracrvenog područja zbog toga što apsorbirana energija nije dovoljna za pobudu elektronskih prijelaza. Moguće vibracije su savijanje (*scissoring*), simetrično i asimetrično istezanje.

IR spektroskopijom se može analizirati velik niz anorganskih i organskih spojeva jer, uz izuzetak nekih homonuklearnih molekula kao N<sub>2</sub>, Cl<sub>2</sub> i O<sub>2</sub>, infracrveno zračenje apsorbiraju sve molekulske vrste. Također svaka molekulska vrsta ima specifičan IR spektar tako da se nepoznat spoj može nesumnjivo identificirati usporedbom njegovog spektra sa spektrom spoja poznate strukture. Iznimka su kiralne molekule u kristaličnom stanju. IR spektar grafički se prikazuje tako da se na ordinati označavaju apsorpcija ili emisija infracrvenog svjetla, a na apscisi frekvencija ili valna duljina. Tipična mjerna jedinica koja se koristi u IR-u jest cm<sup>-1</sup> (Schrader, 1995).

Uzorci svih agregatnih stanja mogu se ispitivati na IR-u. Kod plinskog uzorka koristi se staklena kiveta duga 5 do 10 cm, sa IR propusnim prozorima na svakom kraju, kroz koju prolazi uzorak. Tekući uzorci se mogu mjeriti čisti ili, kao i kruti, pomoću pastile. Uzorak se pomiješa s nekom od soli te ispreša u pastilu kako bi se uzorak fiksirao. Najčešće soli koje se koriste za tu namjenu su natrijev klorid (NaCl), kalijev bromid (KBr) i kalcijev fluorid (CaF<sub>2</sub>) jer ne apsorbiraju IR valove (Harwood, Moody 1989).

## 2.5. Načini sinteze vanilina

Komercijalni vanilin moguće je dobiti iz ploda vanilije ili sintezom u laboratoriju. Neki od sintetskih načina su sinteza pomoću mikroorganizama, sinteza vanilina iz lignina i koristeći 4-hidroksibenzaldehid kao reaktant.

### 2.5.1. Biosinteza

Poznato je da biljka *Vanilla planifolia* sadrži vanilin u svojim plodovima, ali točan put sinteze nije u potpunosti razjašnjen. Tijekom godina bilo je mnogo predloženih puteva sinteze, počevši od cijepanja bočnog lanca na C3 ugljiku i hidroliza glukozida koristeći se glukozidom izoeugenola kao prekursorom preko CoA ovisnog  $\beta$ -oksidativnog puta, sve do direktne enzimatske sinteze vanilina iz ferulinske kiseline. Nedavno je biosintetski put ispitan pomoću soja *Escherichia coli*, koji je bio genetički promijenjen (Kundu, 2018). U tom eksperimentu stanice *E. coli* koristile su se lako dostupnim izvorima ugljika poput glukoze, glicerola i ksiloze kao primarnim prekursorima za sintezu vanilina.

Iznenadujuće je da stanice nisu pratile fenolpropanoidni sintetski put, već sintetski put iz L-tirozina koji je potom pretvoren u 4-kumarinsku kiselinu i dalje sintetiziran u vanillin (Kundu, 2018). Općenito je bilo prihvaćeno da sinteza vanilina počinje sintezom fenilalanina putem šikiminske kiseline i zatim ulazi u centralni fenilpropanoidni put. S obzirom na to da mnoge molekule tog puta mogu biti prekursori za vanilin (npr. hidroksicimetna, kavena, ferulinska 4-kumarinska kiselina), glavne nedoumice su bile kada dolazi do cijepanja bočnog lanca i kako nastaje vanilin- $\beta$ -D-glukozid iz vanilina (Kundu 2018,).

Put sinteze vanilina može se razlikovati ovisno o potrebama biljke u trenutačnim uvjetima. Interesantno bi bilo otkriti koji put prevladava, a iz istraživanja autora Kundu je proizašao novi način pripreme vanilina koji se koristi mikroorganizmima (Kundu, 2018)

### 2.5.2. Sinteza pomoću mikroorganizama

Glavne prednosti ove metode su jednostavnost, metabolička prilagodljivost, laka dostupnost mikroorganizama i činjenica da je financijski isplativa, dok je kemijska sinteza opasnija za okoliš i ljudsko zdravlje.

Tablica 1. Popis gljivica i mikroorganizama koji uspješno sintetiziraju vanilin.

	<b>Mikroorganizam</b>	<b>Supstrat</b>	<b>Iskorištenje</b>	<b>Literatura</b>
1	<i>Aspergillus niger</i>	Ferulinska kiselina	5 mg/L	(Tang i Hassan 2020)
2	<i>Rhodococcus jostii</i>	Eugenol	2,9 g/L	(García-Bofill i sur. 2019)
3	<i>Bacillus safensis</i> SMS 1003	Eugenol	0,12 g/L	(Singh i sur. 2019)
4	<i>Bacillus aryabhatai</i> BA03	Ferulinska kiselina	147,1 mg/L	(Paz i sur. 2018)
5	<i>Pediococcus acidilactici</i> BD16	Ferulinska kiselina	4,01 g/L	(Chakraborty i sur. 2017)
6	<i>Bacillus subtilis</i>	Ferulinska kiselina	0,047 g/L	(Yan i sur. 2016)
7	<i>Pseudomonas sp.</i> OSC1	Izoeugenol	2,43 g/L	(Haridoss i sur. 2015)
8	<i>Bacillus sp.</i> C1	Izoeugenol	1,52 g/L	(Haridoss i sur. 2015)
9	<i>Aspergillus niger</i> I-1472	Izoeugenol	0,137 g/L	(Tan i sur. 2015)
10	<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	Ferulinska kiselina	0,192 g/L	(Hussin i sur. 2015)
11	<i>Amycolatopsis sp.</i> ATCC 39116	Ferulinska kiselina	19,5 g/L	(Ma i Daugulis 2014)
12	<i>Phanerochaete chrysosporium</i> NCIM 1197	Lignoceluloza	55 µg/mL	(Karode i sur 2013)
13	<i>Pediococcus acidilactici</i>	Ferulinska kiselina	1,269 g/L	(Kaur i Chakraborty 2013)
14	<i>Aspergillus niger</i> K8 i <i>Phanerochaete chrysosporium</i> ATCC 24725	Ferulinska kiselina	44,8 mg/L	(Motedayen i sur. 2013)
15	<i>Bacillus subtilis</i> (MTCC 1427)	Ferulinska kiselina	1,04 mg/mL	(Rana i sur. 2013)
16	<i>Rhodococcus rhodochrous</i> MTCC 265	Kurkumin	3,56 gm/L	(Nagpure i Gupta 2011)
17	<i>Pycnoporus cinnabarinus</i>	Ferulinska kiselina	126 mg/L	(Tilay i sur. 2010)
18	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	Glukoza	65 mg/L	(Hansen i sur. 2009)
19	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Glukoza	45 mg/L	(Hansen i sur. 2009)
20	<i>Pseudomonas sp.</i> ISPC2	Izoeugenol	1,15 mg/L	(Ashengroph i sur.2008)
21	<i>Pseudomonas cholovoraphis</i>	Izoeugenol	1200 mg/L	(Kasana i sur. 2007)
22	<i>Debaryomyces hansenii</i>	Ferulinska kiselina	169 mg/L	(Mathew i sur. 2007)
23	<i>A. niger</i> CGMCC0774; <i>P. cinnabarinus</i> CGMCC1115	Ferulinska kiselina	2,8 g/L	(Zheng i sur. 2007)
24	<i>Bacillus fusiformis</i> CGMCC1347	Izoeugenol	8,10 g/L	(Zhao i sur. 2006)
25	<i>Bacillus subtilis</i> HS8	Izoeugenol	1360 mg/L	(Zheng i sur. 2007)
26	<i>Bacillus fusiformis</i>	Izoeugenol	32,5 g/L	(Zheng i sur. 2005)

No uz sve to postoje i ograničenja, kao što su identifikacija i stvaranje novih sojeva mikroorganizama koji imaju dobar doprinos vanilina, nastajanje neželjenih metaboličkih nusproizvoda i citotoksičnost supstrata i produkta za kulture (Tablica 1). Da bi neki soj bio prikladan za ovakvu sintezu mora ispunjavati sljedeće uvjete:

- može izdržati kiselost medija u kojem nastaje vanilin
- može proizvoditi ekstracelularnu esterazu za ferulinsku kiselinu
- ima sposobnost sinteze vanilina iz ferulinske kiseline (Kundu 2018.)

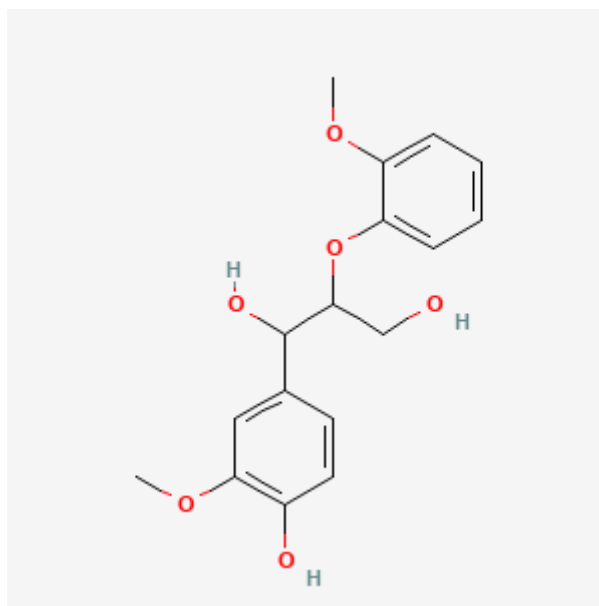
### 2.5.3. Vanilin iz lignina

Lignin je biljni polimer koji je primarno građen od fenolnih spojeva i najčešći je prirodni polimer nakon celuloze. Nalazimo ga u staničnim stijenkama vaskularnih biljaka gdje daje čvrstoću i kohezivnost stanici.

Sinteza lignina zasniva se na polimerizaciji hidroksicinamil-alkohola u monolignole *p*-kumaril-, koniferil- i sinapil- alkohol. Svaki od ovih monolignola građen je od zasebnog tipa podjedinica, konkretno *p*-hidroksifenila, gvajacila i siringila. Razlika između tih podjedinica je u stupnju metoksilacije aromatskog prstena unutar strukture same podjedinice. Opći naziv za sve navedene podjedinice je fenilpropanska podjedinica. Te se podjedinice vežu esterski i ugljik-ugljik vezama za alifatski i/ili aromatski ostatak te čine dilignole.

Najčešći od ovih dilignola je arilglicerol- $\beta$ -aril eter ( $\beta$ -O-4) (Slika 6) i on pruža osnove za razne industrijske procese zahvaljujući činjenici da se kemijski lako cijepa, za razliku od ostalih dilignola. Definirana kemijska struktura lignina ne postoji zbog činjenice da se različiti lignoli mogu međusobno vezati na mnogo različitih načina. Uz to mogu biti i vezani za različite dijelove stanice. Također, sastav lignina razlikuje se među različitim skupinama biljaka, vrstama i unutar samih jedinki, ovisno o morfološkom dijelu koji se promatra. Postoji više načina izolacije ovih spojeva od kojih su 3 glavna; u obliku lignosulfonati, kraft lignina i pomoću organskih otapala (Lebo i sur. 2002).





Slika 6: Struktura arilglicerol- $\beta$ -aril etera

(izvor: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Guaiacylglycerol-beta-guaiacyl-ether>)

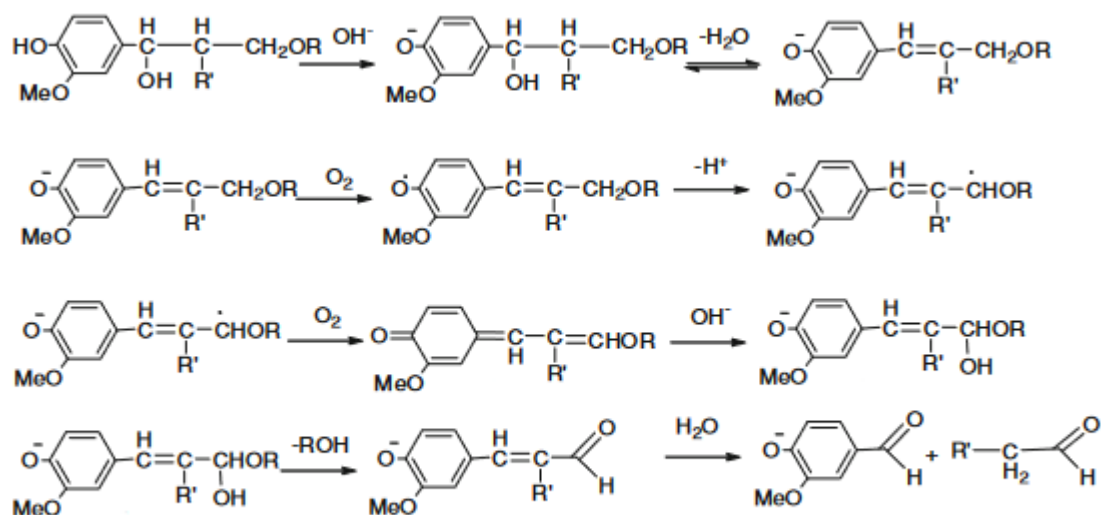
Lignosulfonati nastaju kada se drvo tretira kiselim sulfitima za proizvodnju drvene kaše i do 1940.-ih je ovaj proces bio glavni način dobivanja celuloze sve dok ga nije nadišao kraft proces. Srž ovoga procesa je stvaranje derivata lignina koji su topljivi u vodi pomoću sufitnog ili bisulfitnog iona. Glavna reakcija je sulfoniranje  $\alpha$ - ili  $\gamma$ -ugljikovog atoma što povećava hidrofilnost samih derivata i omogućava njihovo izoliranje iz polisaharidnog matriksa. Za izdvajanje lingosulfonata iz kiselog vodenog sloja industrijski najčešće korišten je Howard-ov proces gdje se dodatkom vapna talože lignosulfonati, a potom se fermentacijom uklanjaju šećeri (Fache i sur., 2015).

Za razliku od lignosulfonata, kraft proces odvija se u lužnatom mediju, u vodenoj otopini NaOH i Na<sub>2</sub>S. U ovome se procesu  $\alpha$ - i  $\beta$ -aril eterske veze na fenolnim i nefenolnim jedinicama sulfidolitički cijepaju, čime nastaje kraft lignin koji je netopljiv u vodi ako je pH niži od 10. U ovom procesu može doći do raznih kompleksnih kemijskih reakcija između različitih komponenata drva. Najnoviji način izdvajanja lignina iz ovakve otopine je *LignoBoost* proces koji se sastoji od 2 koraka. Prvi korak je taloženje lignina zakiseljavanjem otopine pomoći CO<sub>2</sub> i potom filtriranje prešom. U drugom se koraku taj lignin ispiru kiselom vodenom otopinom i ponovo osuši filter prešom. Za razliku od lignosulfonata, ovaj proces izdvaja  $\beta$ -O-4 podjedinice (Rodrigues i sur., 2012).

Lignini se mogu izdvojiti iz celuloznih struktura koristeći se organskim otapalima, najčešće metanolom ili etanolom i kiselim katalizatorom pri visokoj temperaturi i tlaku. To

dovodi do pucanja  $\alpha$ - i  $\beta$ -eterskih veza unutar lignina i raznih drugih veza između lignina i sastavnica stanične stijenke. Na industrijskoj razini ovi lignini talože pomoću vodene pare, potom se filtriraju, ispiru i suše. Iskorištenje ovog procesa znatno je više u odnosu na prethodno spomenute postupke. Sinteza vanilina iz lignina temelji se na oksidaciji ligninske kaše molekulskim kisikom pri visokom pH, tlaku i temperaturi. Uvjeti su iznimno lužnat pH (skoro 14), temperature preko 100 °C i tlak kisika od minimalno 3 bara koji se stalno održava tijekom reakcije. Od svih spojeva prisutnih u ligninskom matriksu, najzanimljiviji je gvajacil koji služi kao reaktant za samu sintezu. Osim vanilina, može doći do nastanka sličnog spoja, siringaldehida koji se razlikuje u samo jednom dodatnom metoksilnom skupinom na *meta* položaju. Zbog toga taj spoj može poslužiti istoj svrsi kao i vanilin u farmaceutskoj industriji, za sintezu 3,4,5-trimetoksibenzaldehida, što je kamen temeljac za sintezu antibiotika ormetoprima i trimetoprima. Koji produkt se dobije ovim načinom sinteze ovisi o tome kojim se drvom koristi; ako se koristi mekim drvom nastaje isključivo vanilin, a ako se koristimo tvrdim drvom nastaje mješavina vanilina i siringaldehida (Rodrigues i sur., 2012).

Što se tiče uvjeta u kojima se reakcija odvija, otkriveno je da različito utječu na reakciju. Povećanjem početne koncentracije NaOH povećava se iskorištenje reakcije, ali previsok pH može dovesti do taloženja nusprodukata na stijenkama reaktora. S druge strane, prenizak pH dovodi do brže oksidacije vanilina, odnosno gubitka produkta. Proučavanjem kinetike oksidacije vanilina otkriveno je da je reakcija drugog reda s obzirom na vanilin, a nultog reda s obzirom na kisiku ako je  $\text{pH} < 11,5$ , ako je veći od 11,5 onda je reakcija prvog reda s obzirom na kisik i vanilin. Veće iskorištenje može se postići povećanjem temperature, što ujedno i povećava brzinu reakcije, no negativna strana je ubrzanje degradacije vanilina. Ubrzavanje reakcije možemo postići tako da povećamo tlak kisika i time ne riskiramo degradaciju, no ta promjena nema nikakav utjecaj na samo iskorištenje. Slika 7 prikazuje reakciju oksidacije ligninske podjedinice do vanilina (Rodrigues i sur., 2012).



Slika 7: Oksidacija ligninske podjedinice (izvor: *Lignin as Source of Fine Chemicals: Vanillin and Syringaldehyde. Biomass Conversion Rodrigues i sur. 2012.*)

Katalizatori su još jedan faktor u ovoj reakciji i trenutačno su u fokusu najnovijih iskraživanja (Bourbiaux i sur., 2021). Primarno se koriste soli prijelaznih metala kao što su bakrov(II) oksid ( $\text{CuO}$ ), bakrov(II) sulfat ( $\text{CuSO}_4$ ), željezov(III) klorid ( $\text{FeCl}_3$ ) i željezov(III) oksid ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ). Istraživanja su rađena i s  $\text{Co(II)}$  i  $\text{Ce(IV)}$  solima gdje se ispostavilo da  $\text{Co(II)}$  soli imaju isti učinak kao i  $\text{Cu(II)}$  soli na efikasnost reakcije, dok je  $\text{Ce(IV)}$  soli ne mijenjaju značajno. Ovi se katalizatori mogu i kombinirati pa tako smjesa željezovih i kobaltovih oksida gdje je omjer  $\text{Fe:Co}$  jednak 1:1 pogoduje nastanku aromatskih spojeva više nego zasebni oksidi. Treba naglasiti da nisu sve kombinacije nužno bolje, kao na primjer  $\text{Fe}_2\text{O}_3$  i  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  koja pokazuje slabu aktivnost (Bourbiaux i sur., 2021). Najnoviji katalizator koji se pokazao kao jedan od boljih je  $\text{LaFe}_{0.8}\text{Cu}_{0.2}\text{O}_3$  koji ne samo da ima veću efikasnost od standardnih već se može i reciklirati te ponovno koristiti. Svakako ovaj dio sinteze nema definirano rješenje i zahtjeva daljnja istraživanja (Rodrigues i sur., 2012).

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Kemikalije

Komercijalno dostupne kemikalije korištene za izradu ovoga završnog rada su sljedeće: 4-hidroksibenzaldehid ( $C_7H_7O_2$ ,  $M = 122,12$  g/mol) proizvođača *Sigma-Aldrich*, brom ( $Br_2$ , 99,5%,  $M = 159,80$  g/mol,  $\rho = 3,32$  kg/L) proizvođača *Sigma-Aldrich*, sumporna kiselina ( $H_2SO_4$ , 98%,  $M = 98,08$  g/mol,  $\rho = 1,84$  kg/L) proizvođača *Gram-mol d.o.o.*, vodikov peroksid ( $H_2O_2$ , 28%  $M = 34,02$  g/mol) proizvođača *Gram-mol d.o.o.*, natrijev hidrogenkarbonat ( $NaHCO_3$ , *pro analysis*, 99%,  $M = 84,01$  g/mol) proizvođača *T.T.T. d.o.o.*, natrijev metoksid ( $NaOCH_3$ , 25% otopina u etanolu,  $M = 54,03$  g/mol) proizvođača *Sigma-Aldrich*, bakrov(II)klorid ( $CuCl_2$ , 97%  $M = 134,45$  g/mol) proizvođača *Sigma-Aldrich*, klorovodična kiselina ( $HCl$ , 35%,  $M = 36,46$  g/mol,  $\rho = 1,19$  kg/L) proizvođača *Chem-lab NV*.

#### 3.2. Otapala

Za izradu ovog rada, korištena su slijedeća komercijalno dostupna otapala: dietil-eter [ $(CH_3CH_2)_2O$ , 98%,  $M = 74,12$  g/mol  $\rho = 0,71$  kg/L] proizvođača *VWR BDH Chemicals*, dikloretnan ( $ClCH_2CH_2Cl$ , 99%,  $M = 98,96$  g/mol,  $\rho = 1,25$  kg/L) proizvođača *VWR BDH Chemicals*, dimetilformamid ( $C_3H_7NO$ , *pro analysis*,  $M = 73,10$  g/mol,  $\rho = 0,95$  kg/L) proizvođača *VWR BDH Chemicals*.

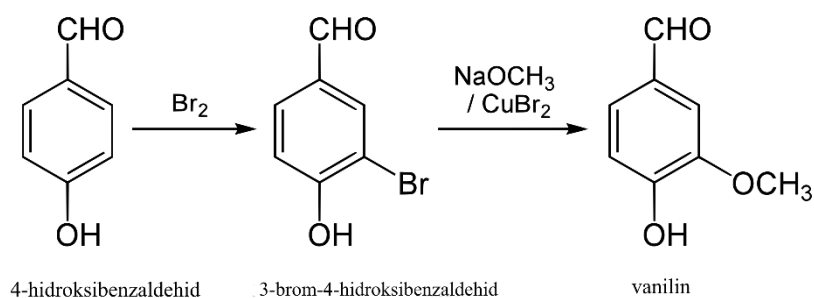
Prije same sinteze potrebno je pripremiti otopinu broma, 25% sumpornu kiselinu, zasićenu otopinu natrijeva hidrogenkarbonata i 5% klorovodičnu kiselinu.

Otopina broma pripremi se otapanjem 0,88 g ( $5,5 \times 10^{-3}$  mol) broma u 2 mL dikloretnana i dobije se cjelokupni volumen do 2,28 mL. Razrijeđena (25%) sumporna kiselina pripremi se razrjeđivanjem 0,41 mL 98% sumporne kiseline sa 1,2 mL destilirane vode. Razrijeđena (5%) klorovodična kiselina se pripremi po istome principu, razrjeđivanjem 5 mL 35% klorovodične kiseline s 30 mL destilirane vode. Zasićena otopina natrijevog hidrogenkarbonata pripremi se tako da se u 250 mL destilirane vode doda krutine do nastanka taloga.

### 3.3. Sinteza vanilina

Ova sinteza koristi 4-hidroksibenzaldehid kao polazni spoj i na njoj se bazira eksperimentalni dio ovoga rada. Kao prvi korak sinteze vanilina trebalo je pripremiti 3-brom-4-hidroksibenzaldehid iz 4-hidroksibenzaldehida. To se postiglo bromiranjem 4-hidroksibenzaldehida pri niskoj temperaturi, atmosferskom tlaku i kiselj sredini, a mehanizam reakcije je bila elektrofilna aromatska supstitucija. Nakon toga slijedila je S<sub>N</sub>2 supstitucija broma metoksilnom skupinom pri povišenoj temperaturi i atmosferskom tlaku, destilacija pri sniženom tlaku, ekstrakcija i na kraju uparavanje otapala.

Čisti monobromirani međuprodukt teško je dobiti jer lako disproportionira u dibromirani 3,5-dibrom-4-hidroksibenzaldehid i 4-hidroksibenzaldehid. Dobiveni vanillin se dalje može pročititi prekrizacijom iz vode. Zbog hlapljivosti otapala i toksičnosti broma cijela se sinteza izvodi u digestoru (Taber i sur., 2007). Također treba biti oprezan s otopinom natrijeva metoksida jer je zapaljiva i snažan reducens.



Slika 8: Kemijske reakcije u postupku dobivanja vanilina iz 4-hidroksibenzaldehida

#### 3.3.1. Prvi korak sinteze

U tikvici koja se nalazi u ledenoj kupelji pripremila se smjesa 1,22 g 4-hidroksibenzaldehida i 6,2 mL dikloretana. Zbog toga što je 4-hidroksibenzaldehid slabo topljiv u dikloretanu, reakcija se odvijala u suspenziji, a ne u otopini. Početak reakcije je prikazan slikom 9.

Kada se reakcijska smjesa ohladila, polagano se dodalo 1,6 mL 25% sumporne kiseline pazeći da ne dođe do nagle promijene temperature. Tijekom iduća 2 sata temperatura smjese je bila održavana pri 0 °C i otopina broma je postupno dodavana u obrocima od 100 μL svakih

5 minuta. Za vrijeme tog procesa smjesa je poprimila blagu narančastu boju koja se vidi na slici 10 i s vremenom izgubila.



*Slika 9: Reakcijska smjesa prije prve reakcije*



*Slika 10: Reakcijska smjesa nakon dodatka cijele otopine broma*

Nakon toga dodalo se 0,6 mL 28% vodikovog peroksida tijekom sljedećih sat vremena, u obrocima od 50  $\mu$ L svakih 5 minuta. Završetak ovog koraka je ujedno i kraj reakcije što je prikazano slikom 11.

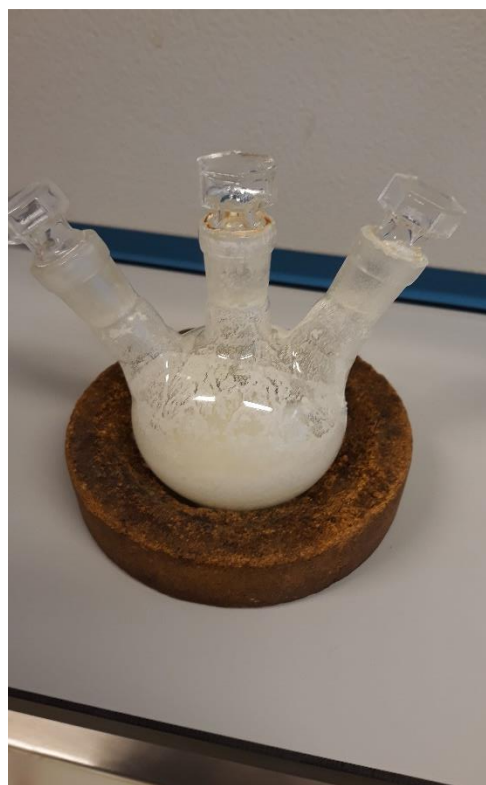
Reakcijska tikvica ostavila se u hladnjaku preko noći kako bi se produkt bolje iskristalizirao, nakon čega je slijedilo filtriranje preko Büchnerovog lijevka, ispiranje hladnom destiliranom vodom i sušenje u sušioniku pri 60 °C. Konačni iskristalizirani produkt prikazan je na slici 12.

Stehiometrija reakcije je 1:1 i uzevši u obzir početnu masu 4-hidroksibenzaldehida iskorištenje iznosi 39,8 % (iskorištenje prema literaturnim podacima je 88,0%) (Torii i sur., 1979).





*Slika 11: Kraj reakcije*

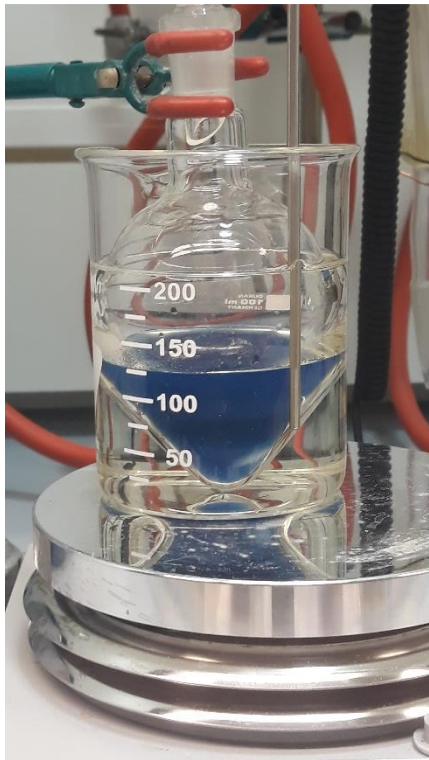


*Slika 12: Iskristalizirani produkt*

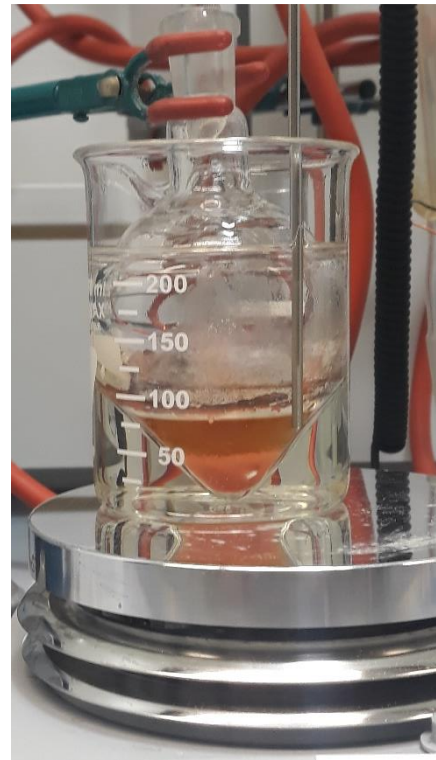
### *3.3.2. Drugi korak sinteze*

Nakon toga slijedio je drugi korak sinteze vanilina, a to je  $S_N2$  supstitucija broma s metoksilnom skupinom.

U tikvici malog volumena otopilo se 0,28 g 3-brom-4-hidroksibenzaldehida u 8 mL dimetilformamida te se dodalo 0,11g barijeva(II) klorida. Nakon toga se dodalo 20 mL 25% otopine natrijevog metoksida u metanolu, stavilo se u uljnu kupelj i refluksiralo 3 sata pri 110 °C.



*Slika 13: Reakcijska smjesa prije refluksa*



*Slika 14: Reakcijska smjesa nakone refluksa*

Otopina je početno bila modre boje i kako je reakcija napredovala promijenila je boju u tamnozelenu, potom u žuto-zelenu i na kraju žutu. Volumen se također smanjio. Opisana promjena prikazana je slikama 13 i 14. Refluks je započeo pri 80 °C i prvo zamjetno smanjenje volumena moglo se primijetiti pri 89,7 °C. Volumen se nastavio smanjivati sve do 105,8 °C, kada se ustalio i ostao takav do kraja refluksa.

Nakon 3 sata reakcijska smjesa se destilirala još 90 minuta, prvih 30 pri atmosferskom tlaku, a zatim pri sniženom tlaku. Za to je vrijeme većina otapala isparila i u tikvici je ostala krutina i jako malen volumen uljaste tekućine.





*Slika 15: Destilacija pri sniženom tlaku*

Dodatkom 35 mL 5% klorovodične kiseline krutina se otopila i nastala su 2 sloja. Reakcijska je smjesa bila prebačena u lijevak za odjeljivanje i ekstrahirana sa 60 mL dietil-etera (3 ekstrakcije od 20 mL). Dietil-eter je bio ispran sa 40 mL (4 ispiranja od 10 mL) zasićene otopine natrijeva hidrogenkarbonata i sušen na bezvodnom natrijevom sulfatu preko noći. Sljedećeg je dana dietil-eter profiltriran u okruglu tikvicu i uparen na rotauparivaču (pri sniženom tlaku i temperaturi od 35 °C. Na stjenkama tikvice pojavili su se bijeli kristali s karakterističnim mirisom vanilije. Stehiometrija ovoga koraka je također 1:1 i uzevši u obzir masu 3-brom-4-hidroksibenzaldehida iskorištenje ovoga koraka je 66,2% (iskorištenje prema literaturnim podacima je 71,0%) (Torii i sur., 1979).

### **3.4. Analiza spojeva IR spektroskopijom**

Bromirani međuprodukt i sintetizirani vanilin bili su ispitani na IR spektrometru kako bi se dobili podatci o čistoći sintetiziranih spojeva. Također su bili snimljeni i spektri 4-hidroksibenzaldehida i čistog vanilina kao referentni podatci.

Bile su pripremljene 4 pastile, prema sljedećem postupku. Oko 1 mg uzorka je uzet i stavljen u ahatni tarionik zajedno sa odprilike 100 puta većom masom kalijevog bromida (KBr) čistoće za spektroskopiju. Tučkom se smjesa usitnila i izmiješala, pazeći da sam proces što kraće traje kako KBr ne bi vezao vlagu iz zraka. Dobiveni se prah prebacio u kalup za pastile i

prešao pod tlakom. Dobivena pastila se pažljivo izvadila iz kalupa, postavila u držač koji je postavljen na predviđeno mjesto u uređaju te se snimio spektar.

Uzorci su bili snimani na FTIR spektrometru IRAffinity 1-s (Shimadzu) u području od  $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ , rezolucijom od  $4 \text{ cm}^{-1}$  i 16 ponavljanja.

## 4. REZULTATI I RASPRAVA

### 4.1. Rezultati sinteze

U prvom je koraku uspješno bio sintetiziran ciljani spoj 3-brom-4-hidroksibenzaldehid, a u drugom je koraku uspješno bio sintetiziran vanilin.

Račun i iskorištenje prvog koraka uzevši u obzir 4-hidroksibenzaldehid kao mjerodavni reaktant:

$$m_1 \text{ (4-hidroksibenzaldehid)} = 1,22 \text{ g}$$

$$M_1 \text{ (4-hidroksibenzaldehid)} = 122,12 \text{ g/mol}$$

$$n_1 \text{ (4-hidroksibenzaldehid)} = \frac{m_1}{M_1} = \frac{1,22 \text{ g}}{122,12 \text{ g/mol}} = 1 \times 10^{-2} \text{ mol}$$

$$m_2 \text{ (3-brom-4-hidroksibenzaldehid)} = 0,8 \text{ g}$$

$$M_2 \text{ (3-brom-4-hidroksibenzaldehid)} = 201,02 \text{ g/mol}$$

$$n_2 \text{ (3-brom-4-hidroksibenzaldehid)} = \frac{m_2}{M_2} = \frac{0,8 \text{ g}}{201,02 \text{ g/mol}} = 3,98 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

$$\frac{n_2}{n_1} = \frac{3,98 \times 10^{-3} \text{ mol}}{1 \times 10^{-2} \text{ mol}} \times 100 \% = 39,8 \%$$

Račun i iskorištenje drugog koraka uzevši u obzir 3-brom-4-hidroksibenzaldehid kao mjerodavni reaktant:

$$m_3 \text{ (3-brom-4-hidroksibenzaldehid)} = 0,28 \text{ g}$$

$$n_3 \text{ (3-brom-4-hidroksibenzaldehid)} = \frac{m_3}{M_2} = \frac{0,28 \text{ g}}{201,02 \text{ g/mol}} = 1,39 \times 10^{-3} \text{ mol}$$

$$m_4 \text{ (vanilin)} = 0,14 \text{ g}$$

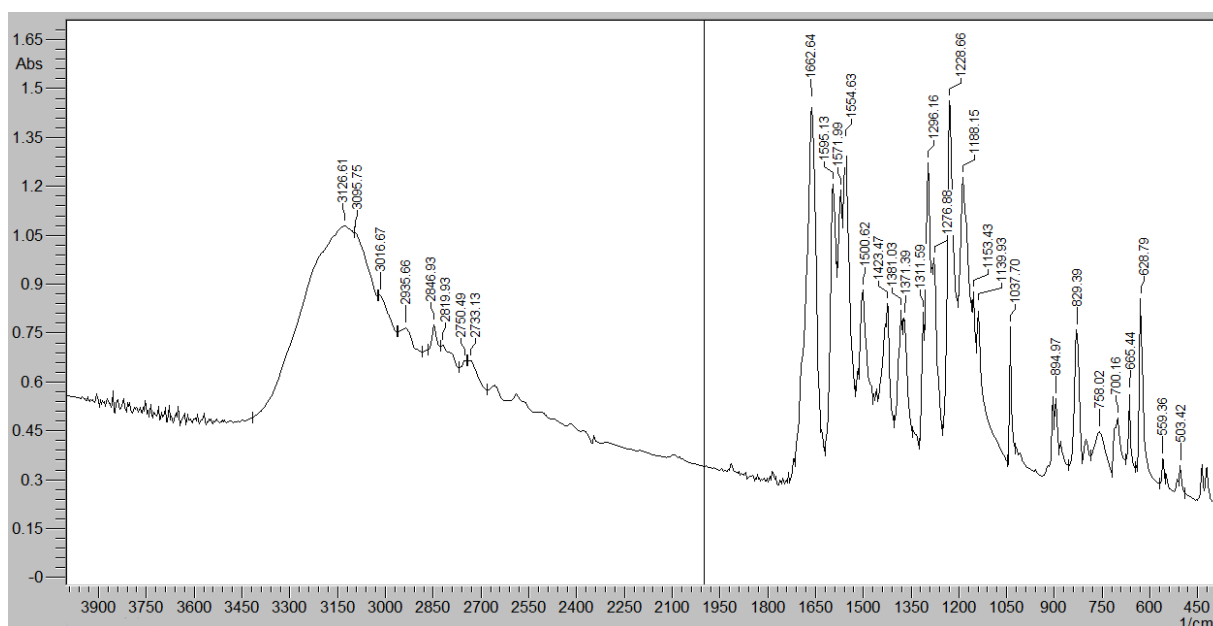
$$M_4 \text{ (vanilin)} = 152,15 \text{ g/mol}$$

$$n_4 \text{ (vanilin)} = \frac{m_4}{M_4} = \frac{0,14 \text{ g}}{152,15 \text{ g/mol}} = 9,2 \times 10^{-4} \text{ mol}$$

$$\frac{n_4}{n_3} = \frac{9,2 \times 10^{-4} \text{ mol}}{1,39 \cdot 10^{-3} \text{ mol}} \times 100 \% = 66,2 \%$$

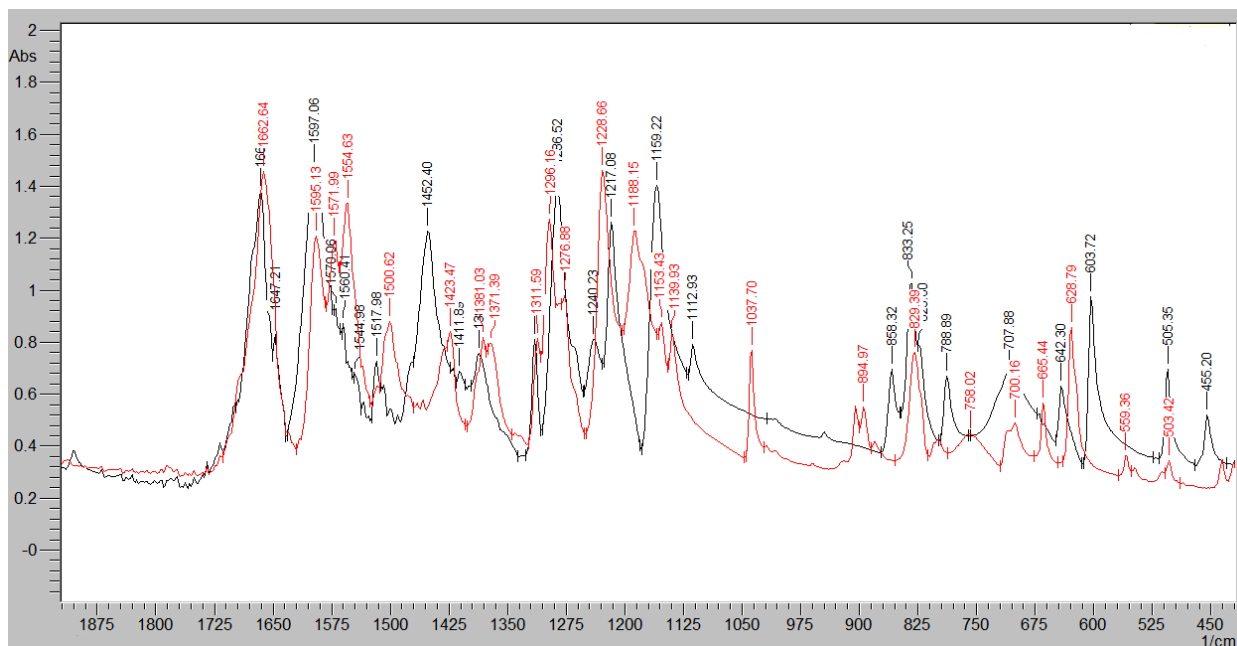
## 4.2.Rezultati IR spektroskopije

Slika 16 prikazuje IR spektar 3-brom-4-hidroksibenzaldehida. Na spektru se može vidjeti istežanje aldehidne skupine na  $1662,64 \text{ cm}^{-1}$ , u području oko  $3000 \text{ cm}^{-1}$  može se vidjeti istežanje OH skupine i na  $3016,67 \text{ cm}^{-1}$  istežanje aromatskih C-H veza. Također su uočljiva karakteristična istežanja C=C veza unutar aromatskog prstena u području od  $1600 \text{ cm}^{-1}$  do  $1400 \text{ cm}^{-1}$ . Mogu se uočiti istežanje na  $628,79 \text{ cm}^{-1}$  što ukazuje na C-Br istežanje u ciljanom međuprodukt 3-brom-4-hidroksibenzaldehid.



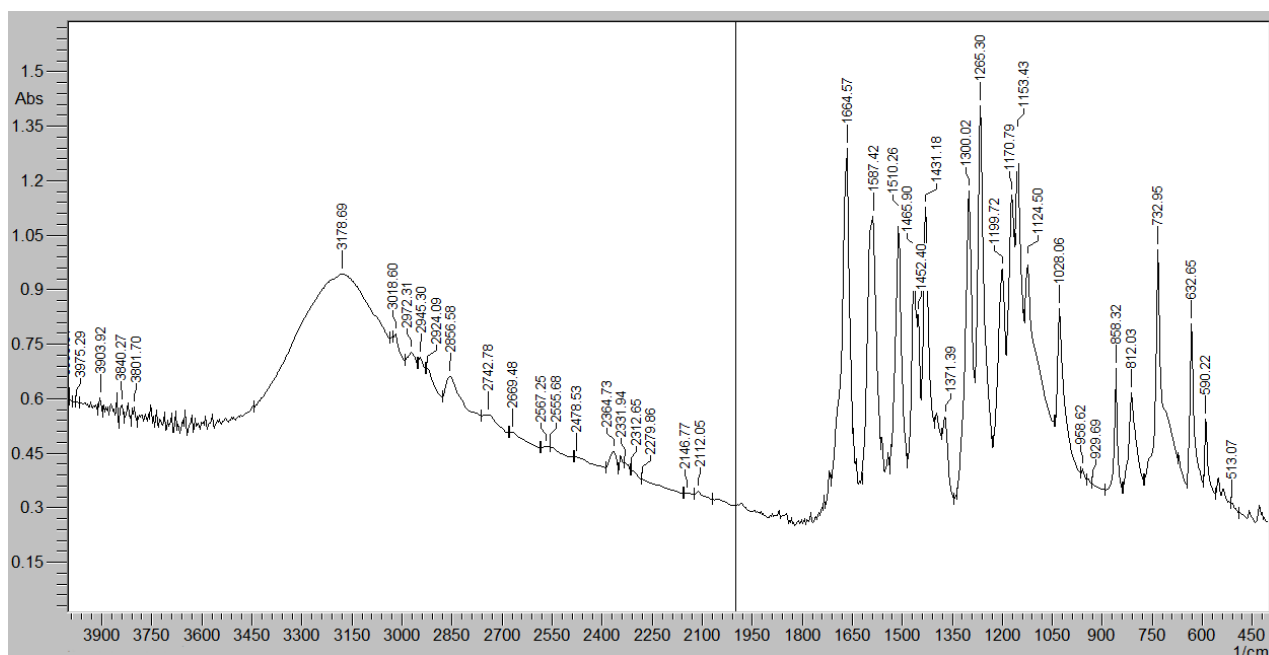
Slika 16: IR spektar 3-brom-4-hidroksibenzaldehida

Slika 17 daje usporedbu spektara 4-hidroksibenzaldehida i produkta dobivenog u prvom koraku sinteze. Može se primijetiti da se neke apsorbanције preklapaju, kao na primjer aldehidna skupina  $1662,64 \text{ cm}^{-1}$ , ali se može uočiti i nedostatak istežanja na  $628,79 \text{ cm}^{-1}$  što služi kao potvrda da je međuprodukt 3-brom-4-hidroksibenzaldehid uspješno sintetiziran.



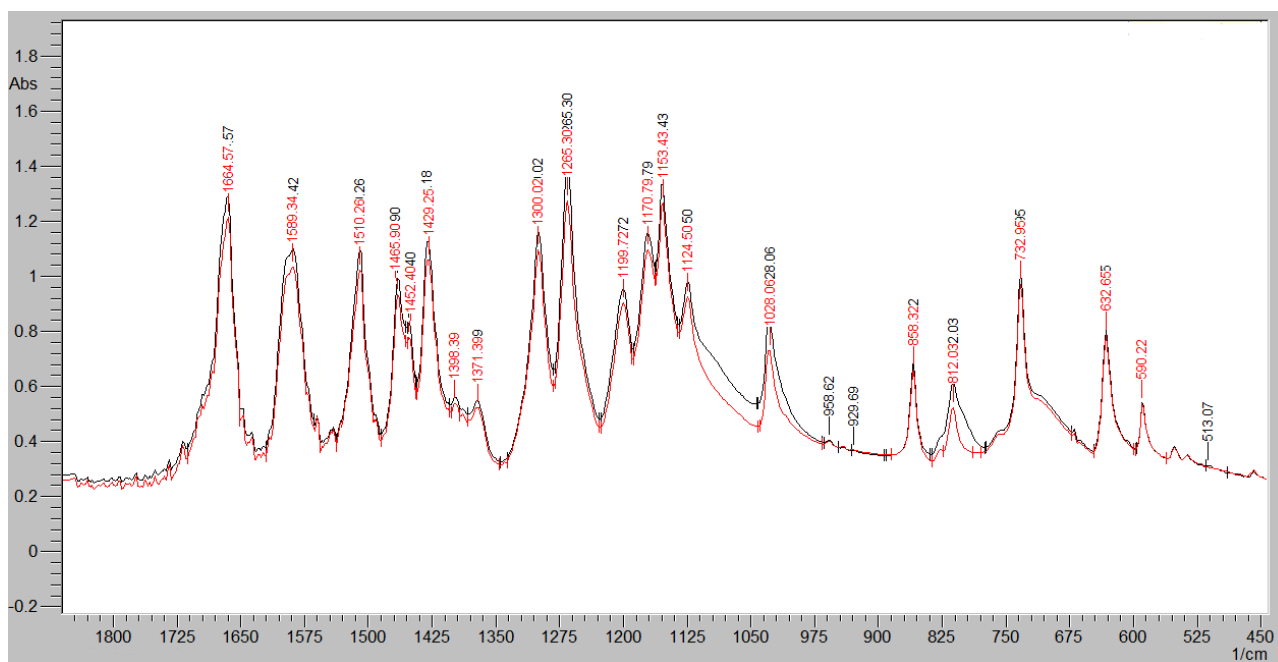
Slika 17: Usporedba IR spektara 4-hidroksibenzaldehida (crno) i 3-brom-4-hidroksibenzaldehida (crveno)

Slika 18 prikazuje IR spektar čistog vanilina i služi kao referentni spektar za potvrdu uspješnosti sinteze vanilina. Kao i u spektru 4-hidroksibenzaldehida može se uočiti OH skupina na oko  $3000\text{ cm}^{-1}$  zajedno sa C-H vezom na aromatskom prstenu na  $3018,60\text{ cm}^{-1}$  i aldehidnom skupinom na  $1664,57\text{ cm}^{-1}$ . Razliku pronalazimo na  $1265,30\text{ cm}^{-1}$  gdje se vidi C-O veza između aromatskog prstena i metoksilne skupine i na  $1028,06\text{ cm}^{-1}$  gdje se vidi C-O veza unutar metoksilne skupine.



Slika-18: IR spektar sintetiziranog vanilina

Slika 19 daje usporedbu spektara čistog vanilina i sintetiziranog vanilina kao produkta dobivenog u drugom koraku sinteze. Vrlo je očito da se spektri skoro u potpunosti preklapaju što je dokaz da je sinteza uspješno provedena. Također se može primijetiti da nema pika pri  $603\text{ cm}^{-1}$  i iz toga zaključiti da u sintetiziranom vanilinu nema zaostalog 3-brom-4-hidroksibenzaldehida.



Slika 19: Usporedba IR spektara sintetiziranog vanilina (crveno) i čistog vanilina (crno)

### 4.3. Rasprava

Cilj je ovoga rada bio sintetizirati vanilin iz 4-hidroksibenzaldehida pomoću broma i natrijevog metoksida po uzoru na Toriija i suradnike. Sinteza se odvijala u dva koraka, gdje je prvi korak bromiranje 4-hidroksibenzaldehida kako bi se dobio međuprodukt 3-brom-4-hidroksibenzaldehid, a drugi je korak supstitucija broma metoksilnom skupinom pomoću natrijevog metoksida u polarnom, aprotičnom mediju. (Torii i sur., 1979)

Iskorištenje prvog koraka bilo je 39,8%, što je manje nego literaturni podaci od 88,0%. Ova razlika u iskorištenju vjerojatno proizlazi iz činjenice da su količine korištene u ovome eksperimentu manje nego u korištenoj literaturi i da je sinteza provedena u studentskom laboratoriju.

Iskorištenje drugog koraka bilo je 66,2 % što je jako blizu literaturnom podatku od 71,0%. Razlika ovih iskorištenja također vjerojatno proizlazi iz gore navedenih razloga.

Rezultati IR spektroskopije dali su potvrdu da su produkti prvog i drugog koraka ove sinteze uistinu oni koji su i bili cilj sinteze te uzevši u obzir da iskorištenja oba koraka ne odstupaju drastično od literaturnih, rezultati sinteze su zadovoljavajući.

## 5. ZAKLJUČAK

U ovome je radu uspješno provedena sinteza vanilina iz 4-hidroksibenzaldehida kao reaktanta po dostupnim literaturnim podacima.

Sinteza se sastojala od dva koraka i oba su pokazala iskorištenja od 39,8% i 66,2% što je manje nego u literaturnim podacima. S obzirom da je sinteza provedena u studentskom laboratoriju, dobivena iskorištenja su zadovoljavajuća.

Kao dodatna potvrda korištena je IR spektroskopija, koja je potvrdila da su ciljani produkti doista dobiveni. To se dalo zaključiti preklapanjem spektara 4-hidroksibenzaldehida, 3-brom-4-hidroksibenzaldehida i vanilina.

Iz dobivenih rezultata da se zaključiti da je ovaj način sinteze vanilina dovoljno jednostavan i pristupačan kako bi se mogao izvoditi u uvjetima studentskog laboratorija.



## 6. LITERATURA

- Amir, A.; Finkelstein, i sur. (2022). Residue analysis evidence for wine enriched with vanilla consumed in Jerusalem on the eve of the Babylonian destruction in 586 BCE. *PLoS ONE* 17(3)
- Anilkumar, A. S. (2004). Vanilla cultivation: A profitable agri-based enterprise. *Kerala Calling: 26–30*.
- Banerjee, G. Chattopadhyay, P. Vanillin biotechnology: the perspectives and future. *Journal of the Science and Food of Agriculture*. 2018.
- Bourbiaux, D., Pu, J., Rataboul, F., Djakovitch, L., Geantet, C., & Laurenti, D. (2021). Reductive or oxidative catalytic lignin depolymerization: An overview of recent advances. *Catalysis Today*, 373, 24–37.
- Dignum, Mark J. W.; Josef Kerlera; Rob Verpoorte (2001). "Vanilla Production: Technological, Chemical, and Biosynthetic Aspects"
- Esposito, L.J., Formanek, K. i sur. (1997). Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, fourth ed. John Wiley Sons, New York. 812–825
- Fache, M., Boutevin, B., & Caillol, S. (2015). Vanillin Production from Lignin and Its Use as a Renewable Chemical. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 4(1), 35–46.
- Fahlbusch, K.-G., Hammerschmidt, F.-J., Panten, J., Pickenhagen, W., Schatkowski, D., Bauer, K., ... Surburg, H. (2003). *Flavors and Fragrances. Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Paul, V., Rai, D. C., T.S, R. L., Srivastava, S. K., & Tripathi, A. D. (2021). A comprehensive review on vanillin: its microbial synthesis, isolation and recovery. *Food Biotechnology*, 35(1), 22-49
- Gerngross, Otto (1920). "Dyeing hide with o-vanillin and o-protocatechualdehyde and aldehyde tanning". *Angewandte Chemie*. 33 (44): 136–138
- Harwood, L. Moody, C. (1989). *Experimental organic chemistry: Principles and Practice*. Blacwell Science, Oxford.
- Hocking, M. B. (1997). Vanillin: Synthetic Flavoring from Spent Sulfite Liquor. *Journal of Chemical Education*, 74(9), 1055.
- Kubo, Isao; Kinst-Hori, Ikuyo (1999). "Tyrosinase inhibitory activity of the olive oil flavor compounds". *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 47 (11): 4574–4578

Kundu, Anish. Vanillin biosynthetic pathways in plants. *Planta* 245, 1069–1078. Berlin 2017.

Lebo, S. E., Gargulak, J. D., & McNally, T. J. (2002). Lignin. *Encyclopedia of Polymer Science and Technology*.

Linares, V.; Adams, M. Jet al. (2019). First evidence for vanillin in the old world: Its use as mortuary offering in Middle Bronze Canaan. *Journal of Archaeological Science: Reports*. **25**: 77–84.

Rodrigues Pinto, P. C., Borges da Silva, E. A., & Rodrigues, A. E. (2012). Lignin as Source of Fine Chemicals: Vanillin and Syringaldehyde. *Biomass Conversion*, 381–420.

Schrader, B (1995). *Infrared and Raman Spectroscopy*. VCH Publishers, New York.

Taber, D. F., Patel, S., Hambleton, T. M., & Winkel, E. E. (2007). Vanillin Synthesis from 4-Hydroxybenzaldehyde. *Journal of Chemical Education*, 84(7), 1158.

Tiemann, Ferdinand (1876). "Ueber die der Coniferyl- und Vanillinreihe angehörigen Verbindungen" [On coniferyl and vanillin series-related compounds]. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*. **9**: 409–423.

Torii, S.; Tanaka, H.; Siroi, T.; Akacla, M. (1979). *J. Org. Chem.*, 44

Watanabe, Kazuko; Ohta, Toshihiro; Shirasu, Yasuhiko (1989). "Enhancement and inhibition of mutation by o-vanillin in Escherichia coli". *Mutation Research/DNA Repair*. **218** (2): 105–9

Wynberg, H. (1960). *The Reimer-Tiemann Reaction*. *Chemical Reviews*, 60(2), 169–184.

### **Internetski izvori**

Anonimus. *Mexican Vanilla: A History*. URL: <https://mexicanvanilla.com/pages/history-of-vanilla>, pristupljeno: ožujak 2023.

Anonimus. *4-Hydroxybenzaldehyde*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Hydroxybenzaldehyde>, pristupljeno: ožujak 2023.

### **Medijski izvori:**

Slika 1: Anonimus. *Vanillin*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Vanillin>, pristupljeno: svibanj 2023.

Slika 2: Anonimus. *Vanilla planifolia*. URL: <https://afriorchids.co.za/products/afri657>, pristupljeno srpanj 2023.

Slika 3: Anonimus. *4-Hydroxybenzaldehyde*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Hydroxybenzaldehyde>, pristupljeno: ožujak 2023.

Slika 4: Anonimus. *Ethyl vanillin*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ethyl-vanillin#section=2D-Structure>, pristupljeno: lipanj 2023.

Slika 5: Anonimus. *2-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyde*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8991#section=2D-Structure>, pristupljeno; lipanj 2023.

Slika 6: Anonimus. *Guaiacylglycerol-beta-guaiacyl ether*. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Guaiacylglycerol-beta-guaiacyl-ether>, pristupljeno: svibanj 2023.