

# Úloha č. 2: POLYSACHARIDY – ŠKROB

## A. STANOVENÍ ŠKROBU GRAVIMETRICKY

### Princip:

Gravimetrie je založena na vyloučení stanovované složky ve formě málo rozpustné sloučeniny a na jejím převedení na sloučeninu o přesně definovaném složení, která se následně váží. Lze vážit i přímo izolovanou sloučeninu.

Zkoušený vzorek se rozloží zásaditou hydrolyzou v prostředí KOH. Následně se škrobová zrna vysráží z roztoku vzorku.

### Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml (1x), nálevka, Büchenrova nálevka, odměrný válec 100 ml, kádinka 250 a 600 ml, váženka, pH papírky, mixer, vařič

### Vzorky:

kuřecí párky „Striptýzky“, paštika (nebo jiný masný výrobek)

### Chemikálie:

8% (w/v) roztok KOH v ethanolu, ethanol (96% a 50%)

### Pracovní postup:

1. Do vodní lázně (600 ml kádinka na magnetické míchačce) upevněte 100 ml Erlenmayerovu baňku.
2. Zvažte nejprve celou nožičku párku (staženého ze střívka) nebo balení paštiky.
3. Paštiku pouze jemně rozetřete, párek stáhněte ze střívka a rozemelte.
4. Do Erlenmayerovy baňky pak odvažte 2,5 – 3 g zhomogenizovaného vzorku
5. K masnému vzorku přilejte 80 ml 8% alkoholického roztoku KOH.
6. Vodní lázeň přiveďte k varu a obsah Erlenmayerovy baňky nechte za občasného míchání zahřívát na vodní lázni 45 min.
7. K plně rozpuštěnému vzorku přidejte 25 ml 50% horkého ethanolu. Dojde k vysrážení škrobových zrn, které nechte usadit na dno.
8. Opatrně odlijte horní vrstvu roztoku.
9. Usazený škrob 3x dekantujte 30 ml horkého 50% ethanolu. Účinnost dekantace sledujte pomocí pH papírku, kdy by hodnota pH měla poklesnout až k neutrální reakci.
10. Obsah Erlenmayerovy baňky přefiltrujte pomocí Büchnerovy nálevky s předem zvažným filtračním papírem.
11. Erlenmayerovu baňku důkladně vypláchněte horkým 50% ethanolem.
12. Sraženinu promyjte 20 ml chladného 96% ethanolu. Po dobu 10 minut nechte přes vzorek procházet vzduch.
13. Filtrační papír se vzorkem vložte do sušárny o teplotě cca 100 °C a sušte do konstantní hmotnosti.

**Výpočty:**

Vypočítejte obsah škrobu ve zkoumaném vzorku v hm %:

$$w_{\text{škrob}} = \frac{m_1}{m_0} * 100$$

kde  $m_1$  = hmotnost získaného škrobu,  $m_0$  = celková hmotnost vzorku,

**Vyhodnocení a závěr:**

Jako výsledek uveďte celkový obsah škrobu v analyzovaných výrobcích (přepočtete na hmotnost celé nožičky párku/balení paštiky) vyjádřený aritmetickým průměrem ze tří souběžných stanovení.

Vzájemně srovnajte oba testované výrobky a pokuste se o srovnání s hodnotami deklarovanými výrobcem.

<b>Vzorek</b>	<b>Navážka vzorku <math>m_0</math> v g</b>	<b>Obsah škrobu ve vzorku <math>m_1</math> v g</b>	<b>Celkový obsah škrobu v g</b>	<b>Celkový obsah škrobu v %</b>

## B. DĚLENÍ ŠKROBU NA AMYLOSU A AMYLOPEKTIN

### Pomůcky:

Plastová miska, kádinka 800 ml, odměrné válce 500 a 250 ml, nálevka, gáza, mixér, váhy, teploměr, skleněná tyčinka, indikátorový papírek, kapátko

### Vzorky:

Bramborové hlízy 200 g

### Chemikálie:

0,9% (w/v) NaCl, 35% HCl, 0,01M a 0,2M NaOH, Lugolův roztok

### Pracovní postup:

1. Zhomogenizujte v mixéru 200 g omytých a rozkrájených bramborových hlíz (na kaši) a převed'te do 800 ml kádinky naplněné 500 ml fyziologického roztoku.
2. Suspenzi během 5 minut 3x promíchejte, přefiltrujte na Büchnerově nálevce, odstraní se tak hrudky brambor.
3. Filtrát přelijte do dostatečně velké kádinky nechte usadit.
4. Kapalínu opatrně odlijte a usazený škrob 3x dekantujte 150 ml fyziologického roztoku, poté 150 ml 0,01M NaOH a nakonec 3x 150 ml destilované vody.
5. Škrob nechejte vysušit na vzduchu do dalšího cvičení.
6. Zvažte a proveďte důkaz pomocí Lugolova roztoku.
7. Izolovaný škrob převed'te do Erlenmayerovy baňky, přidejte 1,5 ml 35% HCl a postupným dokapáním 35% HCl pomocí kapátka upravte pH na hodnotu 6–7. Kontrolu pH proveďte indikátorovým papírkem.
8. Vzorek nechte stát do dalšího cvičení, kdy se na dně kádinky objeví bílý gel (amylopektin).
9. Amylopektin dekantujte a pomalu odfiltrujte na Büchnerově nálevce. Vzorek amylopektinu sušte za laboratorní teploty do konstantní hmotnosti.

### Výpočty:

Vypočet % obsahu škrobu/amylózy/amylopektinu ve vzorku:

$$w = \frac{m}{m_{\text{vzorek}}} \cdot 100$$

Vypočet obsahu amyλόzy a amylopektinu:

$$m_{\text{amyλόza}} = m_{\text{škrob}} - m_{\text{amylopektin}}$$

### Závěr:

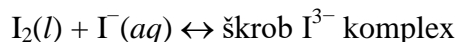
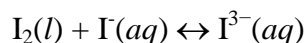
Jako výsledek uveďte procentuální výtěžek získaného škrobu z 200g bramborových hlíz, uveďte procentuální obsah amyλόzy a amylopektinu ve vzorku a jejich vzájemné zastoupení.

	škrob	amyλόza	amylopektin
g			
%			

## C. DŮKAZ PŘÍTOMNOSTI ŠKROBU A SOLANINU V HLÍZÁCH BRAMBOR

### Princip:

**Důkaz škrobu:** Principem Lugolovy reakce je vznik komplexu škrob- $I_3^-$



**Důkaz solaninu:** Reakcí kyseliny sírové s glykoalkaloidem solaninem (přítomný v naklíčených a zelených částech brambor) dochází ke vzniku červeného zbarvení. Dochází k narušení cyklopentanoperhydrofenanthrenového skeletu molekuly za vzniku specifického karbokationtu, který se projevuje červeným zbarvením

### Pomůcky:

Petriho miska, 4 kapiláry, nůž, pinzeta, filtrační papír, podložní skříčko, mikroskop

### Vzorky:

bramborová hlíza naklíčená a nenaklíčená

### Chemikálie:

Koncentrovaná  $H_2SO_4$ , koncentrovaná  $CH_3COOH$ , 1% vodný roztok formaldehydu, 1%  $H_2O_2$ , Lugolův roztok (5 g  $I_2$  a 10 g KI v 85 ml destilované vody)

### Pracovní postup:

1. Z bramborové hlízy (1x naklíčené, 1x nenaklíčené) ukrojíte tenký plátek slupky (v případě naklíčené i s klíčkem) a položte jej na Petriho misku nebo podložní skříčko.
2. Důkaz škrobu: na každý plátek kápněte 1–3 kapky Lugolova roztoku.
3. Důkaz solaninu: postupně kapejte na plátek 1–3 kapky konc.  $CH_3COOH$ , konc.  $H_2SO_4$ , 1% roztoku formaldehydu a 1%  $H_2O_2$ .
4. Přítomnost solaninu se projeví načervenalým zbarvením, přítomnost škrobu se projeví temně modrým zbarvením.

### Závěr

Jako výsledek uveďte porovnání naklíčené a nenaklíčené hlízy. Pokus monitorujte fotografiemi (postačí z mobilního telefonu).

## D. ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA ŠKROBU

### Princip:

Škrob je složený z amylopektinu a  $\alpha$ -amylózy, která vytváří šroubovici na kterou se váže Lugolův roztok (modrofialové zbarvení). V případě, že k roztoku škrobu přidáme sliny, které obsahují  $\alpha$ -amylasy, dojde ke štěpení  $\alpha$ -glykosidické vazby, a tím k degradaci škrobu na menší jednotky (dextrin, maltóza). V tomto okamžiku Lugolův roztok nezbarví obsah zkumavky, jelikož se jód nemá kam vázat.

O probíhající štěpení svědčí změna barvy produktu poskytovaného škrobem s roztokem jódu. Během reakce přechází modré zbarvení škrobu s Lugolovým roztokem, přes hnědé (dextrin) až po slabě žluté (maltóza).

### Pomůcky:

kádinka 250 ml, vaříč, zkumavky, kapátko, odměrný válec, kapkovací destička

### Vzorky:

Škrobový maz, lidské sliny (naředěné destilovanou vodou 1:1)

### Chemikálie:

Lugolův roztok

### Pracovní postup:

1. Příprava škrobového mazu – rozmíchejte 1 lžičku škrobu v několika ml destilované vody a směs nalijte za stálého míchání do 200 cm<sup>3</sup> vroucí vody. Maz nechte vychladnout.
2. Do 2 zkumavek nalijeme pomocí odměrného válce 5 ml škrobového mazu.

#### Postup A:

3. První zkumavku nechejte jako referenční, do druhé zkumavky přidejte asi 5 ml lidských slin.
4. Obě zkumavky vložte do vodní lázně a mírně zahřívejte (asi 20 min).
5. Do každé zkumavky přikápněte 2–3 kapky Lugolova roztoku.
6. U referenčního vzorku (obsahuje pouze škrobový maz) by mělo dojít k modrému zbarvení. U druhé zkumavky (maz a sliny) dojde k vytvoření oranžového zbarvení

#### Postup B:

7. Do obou zkumavek přidejte asi 5 ml lidských slin. První zkumavku nechte ve stojánku jako referenční. Druhou zkumavku vložte do vodní lázně a mírně zahřívejte.
8. V pravidelných intervalech (5 min) odebírejte na kapkovací destičku vzorek z obou zkumavek, přidejte kapku Lugolova roztoku a sledujte změnu zbarvení.
9. Zabarvení referenčního vzorku bude modré na důkaz přítomnosti škrobu, u zabarvení zahřívaného vzorku by mělo docházet k barevným změnám v závislosti na rychlosti enzymatické degradace škrobu lidskými slinami.

### Závěr:

Do protokolu uveďte barevnou změnu