

PŘÍRODNÍ POLYMERY

Identifikace přírodních látek

RNDr. Ladislav Pospíšil, CSc.

LITERATURA – pouze ta, zaměřená na přírodní látky (polymery)

- J. Zelinger, V. Heidingsfeld, P. Kotlík, E. Šimůnková: **Chemie v práci konzervátora a restaurátora**, ACADEMIA Praha 1987,
- M. Večeřa, J. Gasparič: **Důkaz a identifikace organických látek**, SNTL Praha 1973
- H. Paulusová: **Základní látky v lakových vrstvách skleněných negativů**, přednáška **CHEMPOINT** (VUT, fakulta chemická), Vědci pro chemickou praxi (Ize najít na Internetu)
- **Infračervená spektroskopie** – Ize najít na www stránkách VŠCHT Praha
- **Atlasy spekter** dodávané s IFČ spektrometry

1. Barevné reakce

2. Bod tání

3. Dělicí metody

1. Destilace

2. Chromatografie

3. Elektroforéza

4. Spektroskopické metody

1. Hmotová spektroskopie

2. FTIR spektroskopie

3. NMR spektroskopie

Základní problémy analýzy přírodních látek (polymerů)

- **Nejsou to chemická individua**
- **Liší se podle místa původu, např. pryskyřice**
- **Vliv stárnutí, např. vysýchavé oleje**
- **Často se vyskytují směsi přírodních látek (polymerů)**
- **Při konzervování & restaurování není možné vzít větší množství vzorku**
-

Barevné reakce

Tabulka 12 Barevné reakce pojiv

Pojivo	Činidlo	Zbarvení	Poznámka
polysacharidy	směs anilinu, di-fenylaminu a kyseliny fosforečné	modré, zelené, hnědé	po hydrolyze vzorku
proteiny	ninhydrin	fialové	po hydrolyze vzorku
pryskyřice	amidočern (Naf-tol 10 B)	tmavě modré	
	fuchsin	červené	
	bromkresolová červeň	žluté	
oleje	Sudanová čern B	modré	

Bod tání

Podle chování při zahřátí je možné při pozorování pod mikroskopem rozoznat jednotlivá pojiva podle postupného tavení⁴⁶:

vosky – od 50 do 100 °C,

pryskyřice – od 120 °C,

polymerované oleje – od 160 °C,

žloutek – od 200 °C.

Takto předběžně rozlišené vzorky je možno analyzovat metodami, které jsou dále stručně popsány.

Dělicí metody

- Destilace – např. terpentýn
- Extrakce – pryskyřice ze dřeva
- **Chromatografie – dělení aminokyselin na tenké vrstvě**
- **Elektroforéza - dělení aminokyselin**
-

Dělicí metody - Destilace

- **Nevýhody:**

- Potřeba většího množství vzorku
- Nelze pracovat s pevnými látkami
- Dělení není tak ostré jako u např. chromatografie

- **Výhody:**

- Získá se množství, se kterým lze dále pracovat,
- Instrumentálně jednoduché, i vakuová rektifikace

Dělicí metody - Chromatografie

- **Nevýhody:**
 - **NEZíská** se množství, se kterým lze dále pracovat,
 - Instrumentálně **NENÍ** jednoduché
- **Výhody:**
 - **NENÍ** potřeba většího množství vzorku
 - Dělení **JE** tak ostré
 - Lze pracovat i s pevnými látkami, pokud je lze převést do roztoku
 - Velké množství chromatografických metod

Chromatografie – základní metody

- **Papírová (nejstarší)**
- **Na tenké vrstvě (TLC – Thin Layer Chromatography)**
- **Plynová (GC)**
- **Kapalinová (HPLC)**
- **Gelová**
- **Iontoměničová**
-

Chromatografické pojmy

Analyty – složky vzorku, které mají být chromatograficky rozděleny

Analytická chromatografie – chromatografie sloužící k zjištění existence analytu (tzv. kvalitativní stanovení) a k určení jeho koncentrace ve vzorku (tzv. kvantitativní stanovení).

Chromatograf – přístroj sloužící k chromatografické separaci složek vzorku

Chromatogram – záznam z chromatografu znázorňující jednotlivé analyty nejčastěji ve formě tzv. chromatografických píků (zón) oddělených navzájem základní linií

Chromatografická separace – rozdělení vzorku na jednotlivé složky (analyty) na základě rozdílné distribuce mezi mobilní a stacionární fází

Mobilní fáze – neboli eluent, je fáze pohybující se chromatografickým systémem.

Tato fáze přivádí vzorek do stacionární fáze, kde dochází k jeho separaci

Retenční čas – čas, který složka potřebuje k průchodu chromatografickým systémem

Preparativní chromatografie – slouží k izolaci čistých (nebo alespoň čistějších) složek vzorku, které jsou dále použity (k chemické reakci, další separaci apod.)

Stacionární fáze – je fáze ukotvená na místě, přes kterou prochází mobilní fáze a také složky vzorku. Jde např. o tenkou vrstvu silikagelu (při tenkovrstevné chromatografii) či kolona. Zde dochází k separaci v důsledku distribuce vzorku mezi stacionární a mobilní fází

Rozdělení chromatografických metod podle uspořádání

sloupcová chromatografie (kolonová chromatografie, CC, column chromatography) - stacionární fáze je v koloně

papírová chromatografie (PP, paper chrom.) - stacionární fáze je papír nebo upravená celulóza

chromatografie na tenké vrstvě (TLC, thin layer chromatography) - stacionární fáze je suspenze v podobě tenké vrstvy

Rozdělení chromatografických metod podle mobilní fáze

plynová chromatografie (GC, gas chromatography) -
mobilní fáze je plyn

kapalinová chromatografie (LC, HPLC, liquid chrom.,
rozdělovací chrom.) - mobilní fáze je kapalina.

Při kapalinové chromatografii je mobilní fází kapalina a
stacionární fází je pevná látka (případně kapalina
zakotvená v pevné látce). Kapalinová chromatografie se
také nazývá jako **rozdělovací chromatografie**.

Rozdělení kapalinové chromatografie podle principu dělení

adsorpční chromatografie - stacionární fáze je adsorbent.

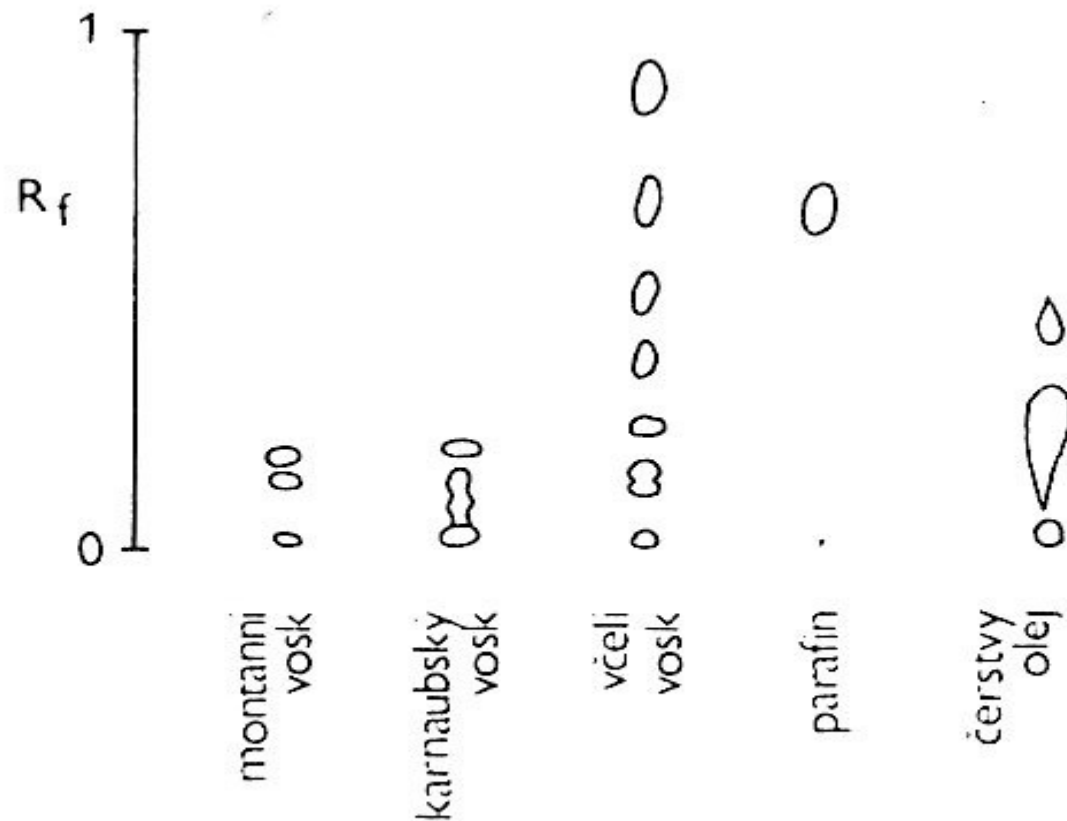
iontová chromatografie - stacionární fáze je ionex.

gelová chromatografie nebo **gelová filtrační chromatografie** - stacionární fáze je neionizovaný přírodní nebo syntetický gel.

afinitní chromatografie - stacionární fáze obsahuje zakotvené ligandy, na které se rozdělovaná látka váže.

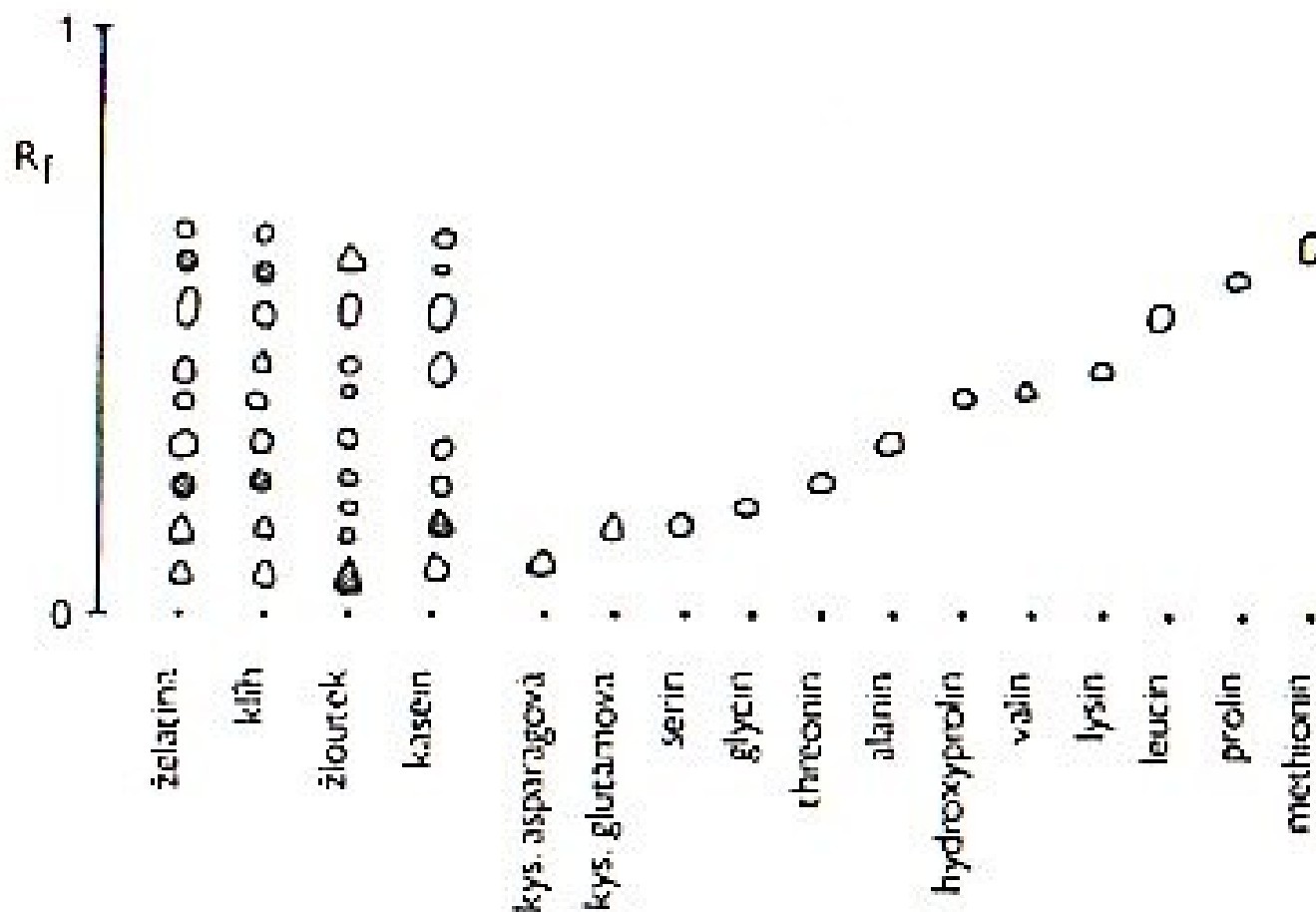
rozdělovací chromatografie - o separaci rozhoduje různá rozpustnost složek vzorku v stacionární a mobilní fázi

TL Chromatografie – bez předúpravy látky (např. hydrolýzou)



Obr. 22 Tenkovrstvý chromatogram vosků ⁵⁰.

TL Chromatografie – po hydrolýze látek na monomery (zde aminokyseliny)



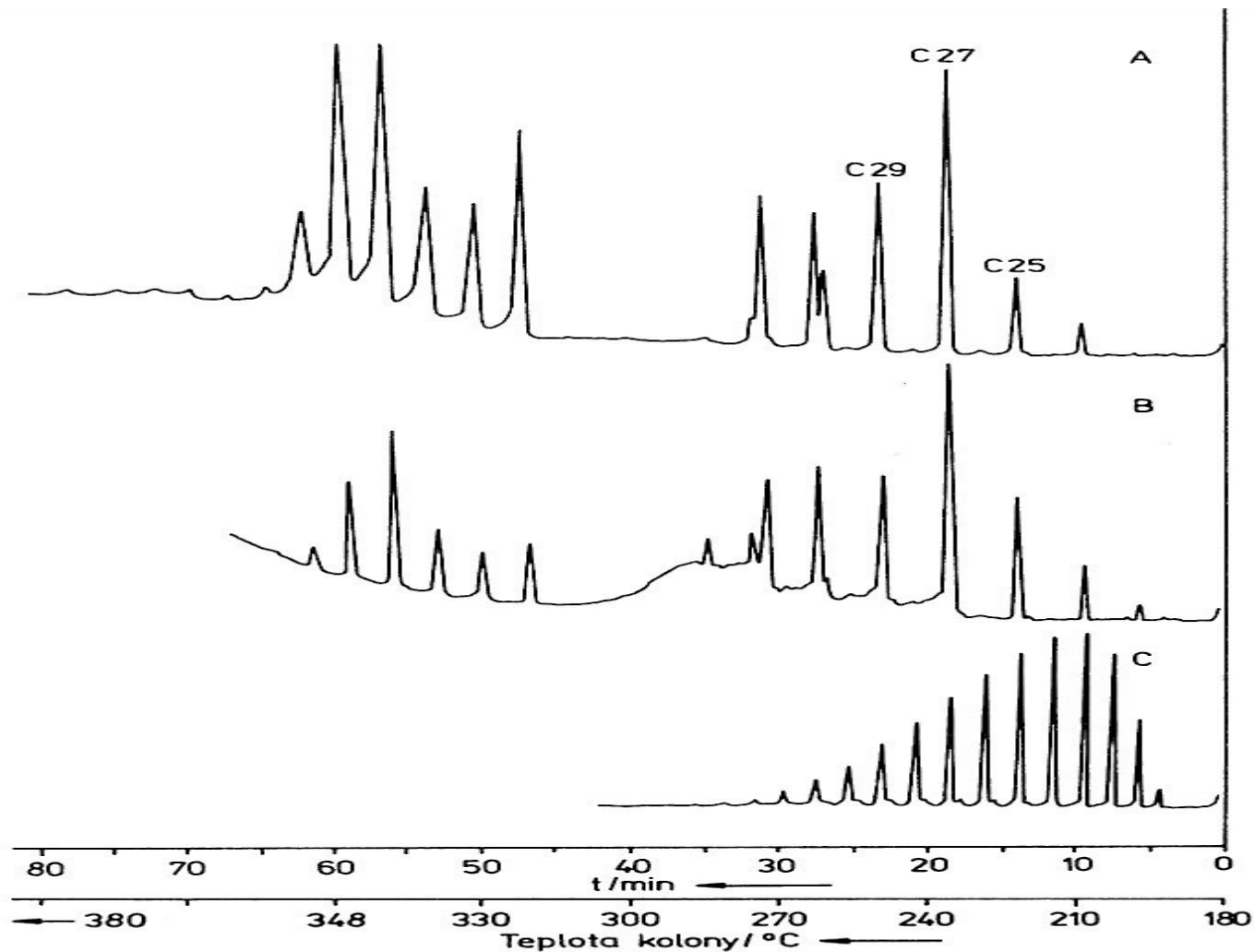
Obr. 21 Tenkovrstvý chromatogram hydrolyzátů proteinů a příslušných aminokyselin¹⁰.

Aminokyseliny v různých proteinech (bylo už v přednášce minulé)

Tabulka 13 Obsah aminokyselin v různých proteinech⁶⁰

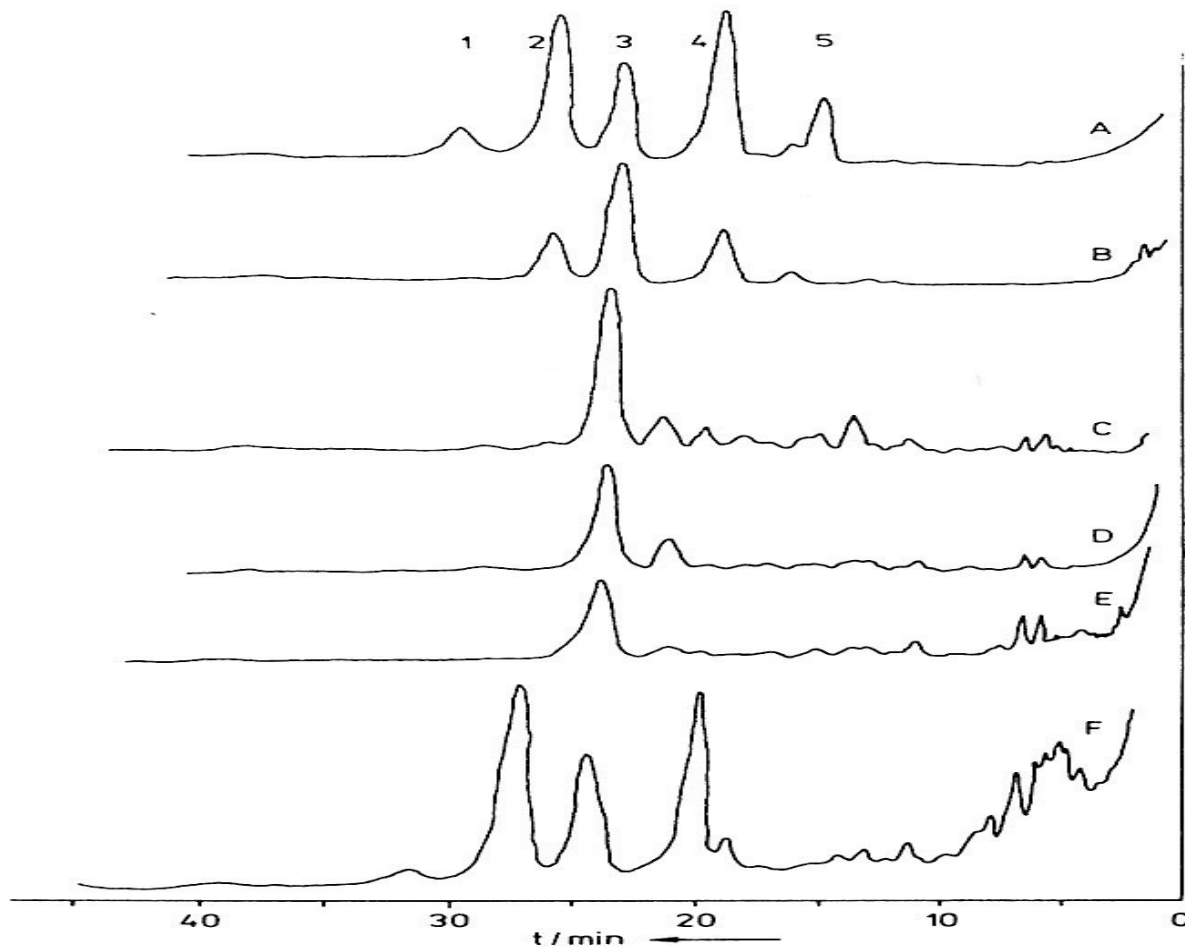
Aminokyselina	Protein			
	želatina	kasein	vaječný bílek	vaječný žloutek
	(mol. %)			
hydroxyprolin	6	0	0	0
asparagová kys.	4	6	10	11
threonin	2	3	4	6
serin	4	5	7	11
glutamová kys.	7	18	12	13
prolin	12	15	5	5
glycin	35	3	6	6
alanin	12	4	9	8
valin	2	8	9	7
1/2 cystin	0	0	2	2
methionin	1	2	1	2
isoleucin	1	6	6	5
leucin	3	9	10	9
tyrosin	0	4	1	2
fenylalanin	1	4	4	3
lysin	3	6	7	5
histidin	1	3	2	2
arginin	5	3	5	4

GC vosků po zmýdelnění a methylaci kyselin na methylestery



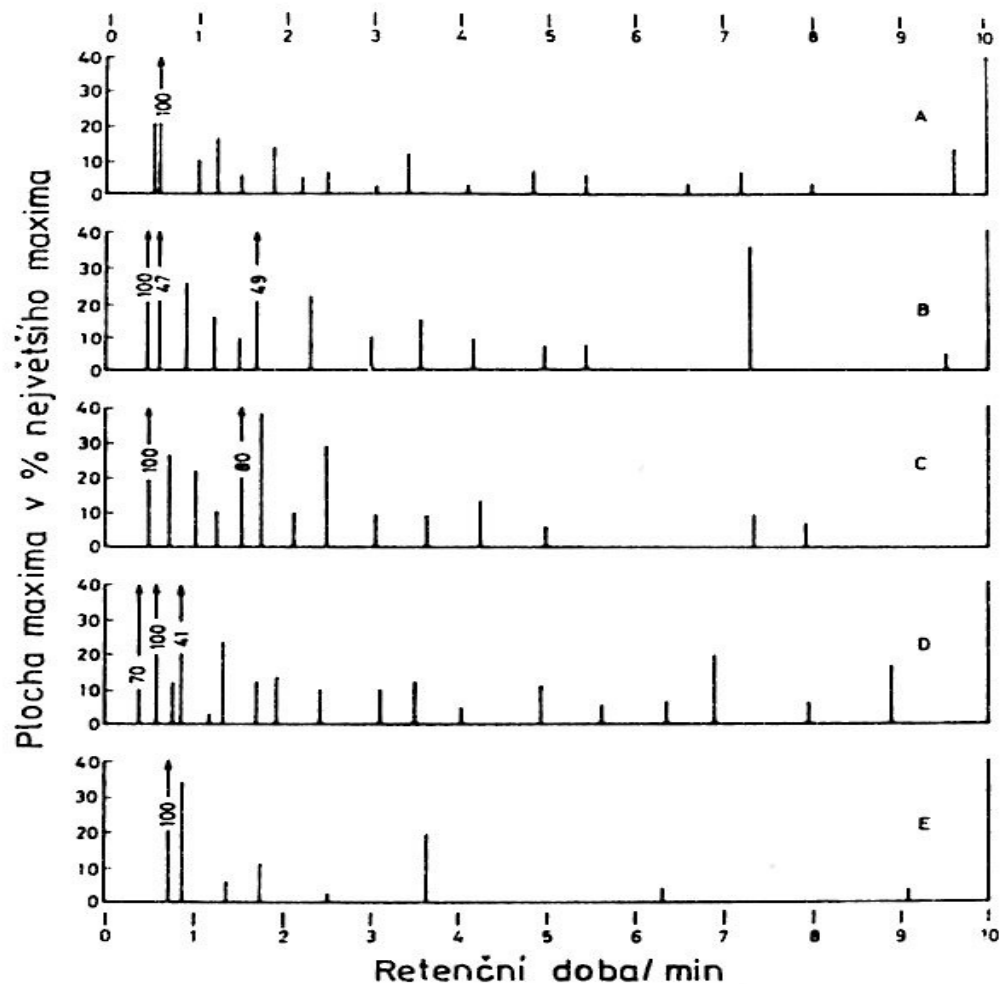
Obr. 23 Plynový chromatogram vosků²⁹. A – včelí vosk, B – punský vosk, C – ceresin.

GC pryskyřic po zmýdelnění a methylaci kyselin na methylestery



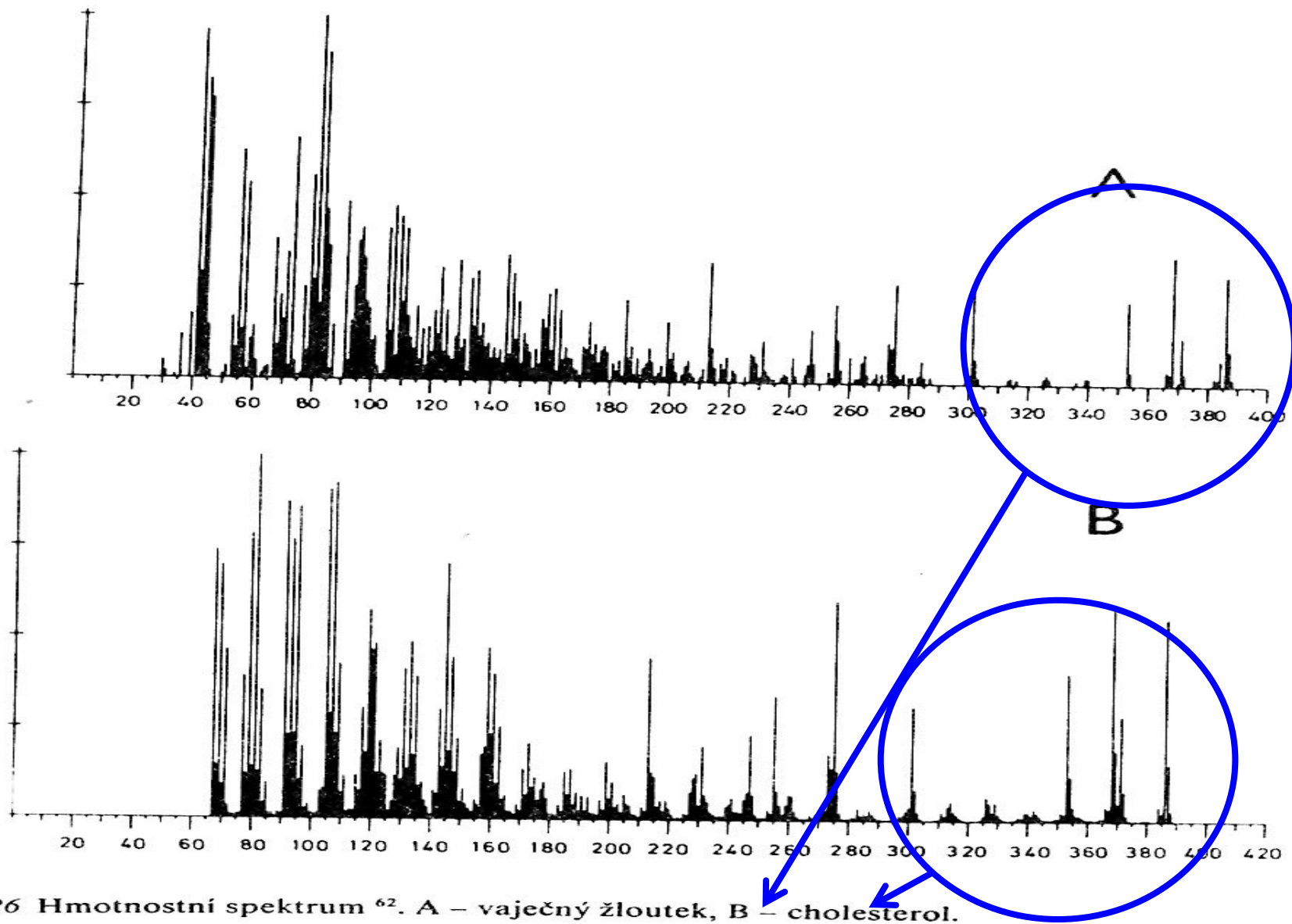
24 Plynový chromatogram pryskyřic ³⁵. A – kalafuna, B – pryskyřičné pojivo z oltáře Santo Stefano v Benátkách, C – pryskyřičné pojivo mozaiky ze 4. st. n.l., D – dehet z dřevěného uhlí, E – kalafuna zahřívána 15 minut na 300–350 °C, F – pryskyřičné pojivo z válečné lodi ze 3. st. př.n.l. 1 – neoabietát, 2 – abietát, 3 – dehydroabietát, 4 – palustrát/isopimarát, 5 – pimarát.

GC poživ po pyrolýze při 600 °C



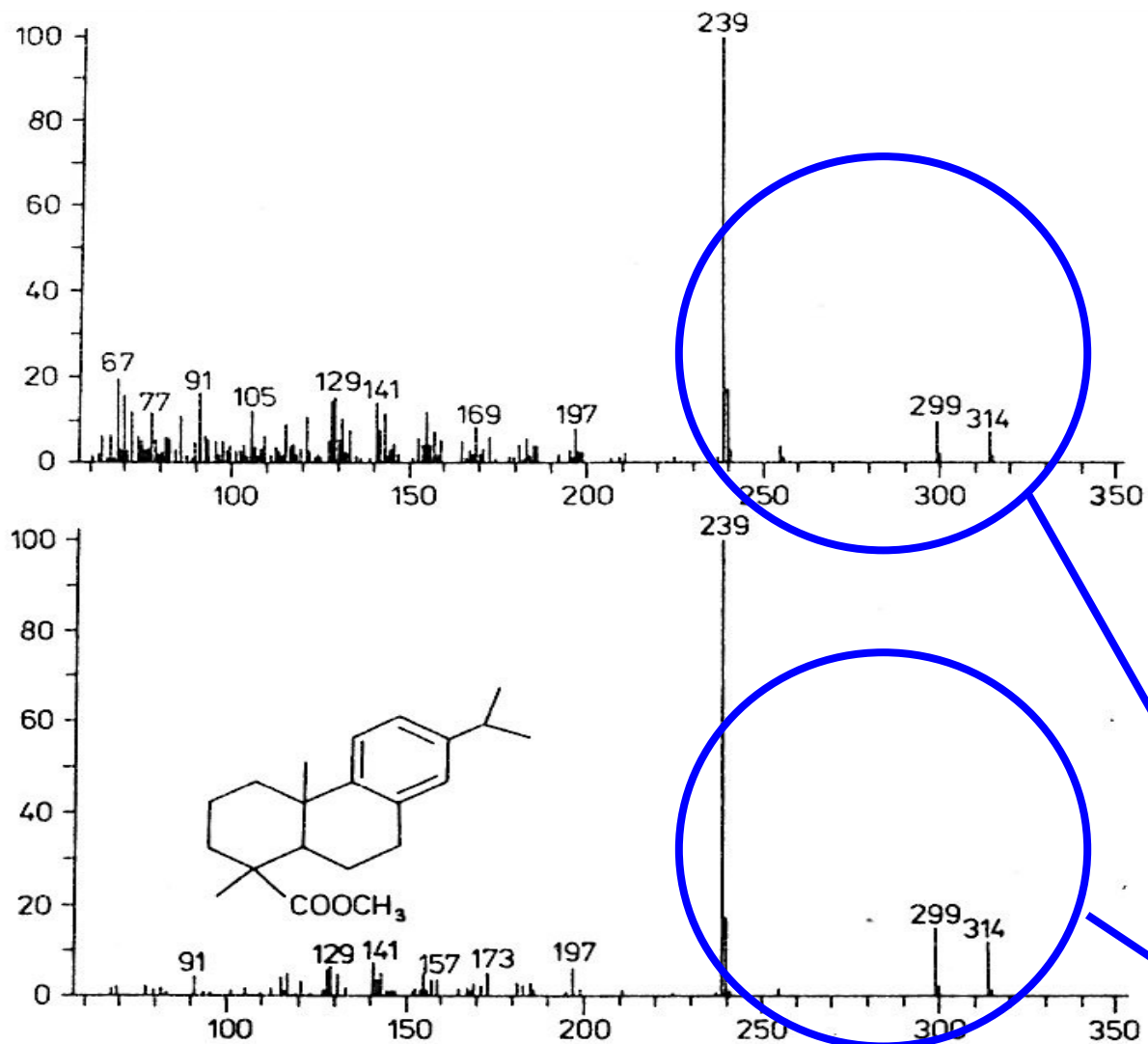
Obr. 25 Pyrogramy poživ ⁶¹. A – lněný olej, B – vaječný bílek, C – želatina, D – mastix, E – dama-ra.

GC & hmotová spektroskopie 1



Obr. 26 Hmotnostní spektrum ⁶². A – vaječný žloutek, B – cholesterol.

GC & hmotová spektroskopie 2

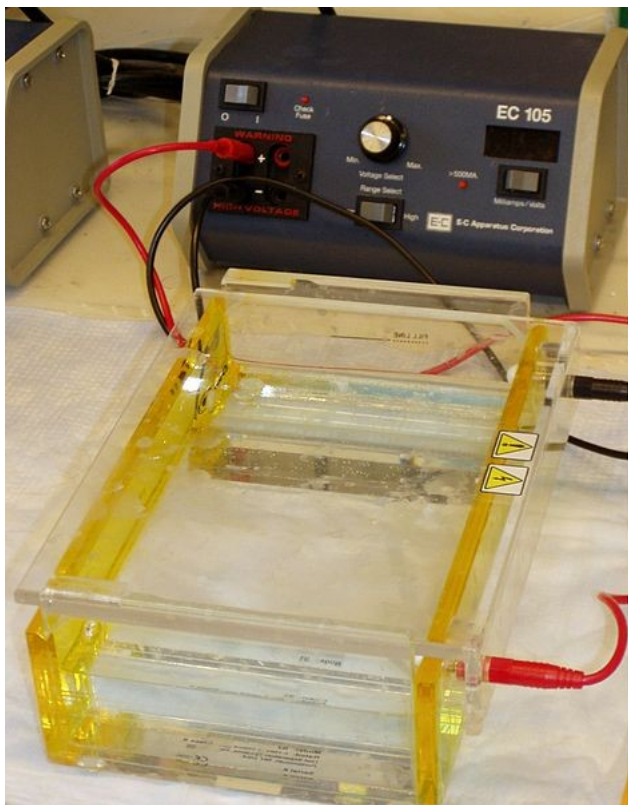


Obr. 27 Hmotnostní spektrum ⁶³. A – část spektra pojiva z obrazu P. Veronese (1570), B – methyl-ester kyseliny dehydroabietové.

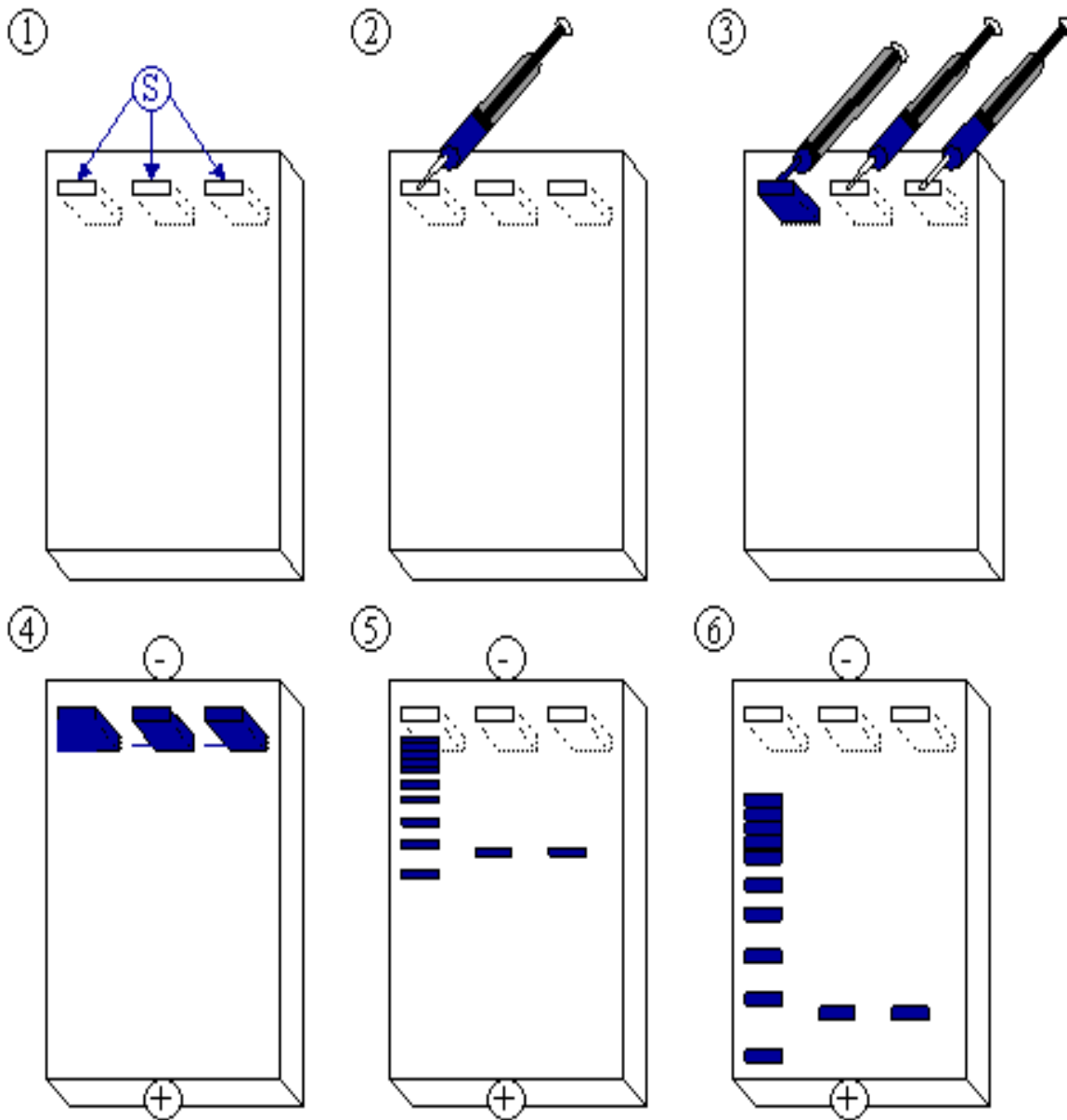
Elektroforéza

- **Elektroforéza** je soubor separačních metod, které využívají k dělení látek jejich odlišnou pohyblivost ve stejnosměrném elektrickém poli. Na principu rozdílných elektroforetických mobilit se při ní dělí nabitě molekuly (ionty).
- V roce 1892 bylo publikováno, že anorganické částice v koloidním roztoku pod vlivem elektrického pole nenáhodně putují. Nedlouho poté byl tento jev popsán i u proteinů ve vodných roztocích.
- V roce 1948 byl Nobelovou cenou oceněn švédský chemik Arne Tiselius, který ve 30. letech minulého století postavil aparaturu separující proteiny krevního séra na základě jejich elektroforetických mobilit.

- **Kapilární gelová elektroforéza** (též **CGE** z angl. *Capillary Gel Electrophoresis*) je druh elektroforézy, při níž se látky rozdělují na základě pohyblivosti v gelu. V kapiláře se nachází gel, jenž maximalizuje difference mezi elektroforetickými rychlostmi velkých iontů různých tvarů, které různě úspěšně migrují póry gelu. Gel zabraňuje vzniku elektroosmotického toku, a proto jen jeden druh kladných či záporných iontů putuje směrem k detektoru.
- Pohyblivost v gelu závisí na náboji separované molekuly a její molekulové hmotnosti, intenzitě elektrického pole a samozřejmě typu a porozitě gelu (k nejběžnějším gelům patří **polyakrylamidový** a agarosový **gel**).
- Na rozdíl od **CZE** při **CGE** může být separován a detekován během jednoho experimentu pouze jeden typ iontů. Kapilární gelová elektroforéza se využívá zejména pro velké ionty, jakými jsou sacharidy, peptidy, bílkoviny, sestřihy DNA a RNA.
- Existují i varianty této metody (elektroforéza v polyakrylamidovém gelu v přítomnosti dodecylsíranu sodného, angl. sodium-dodecyl-sulphate-polyacrylamide-gel-electrophoresis, SDS-PAGE), kde se molekuly bílkovin dělí téměř výhradně podle své molekulové hmotnosti.
- Gelová elektroforéza je v současnosti nejrozšířenější elektroforetickou metodou.



Elektroforéza



FTIR spektroskopie

- **Výhody:**

- Dostí univerzální technika (pevné látky, kapaliny, plyny, roztoky, KBr technika, vícenásobný odraz, ...)
- Malé množství vzorku
- Možnost spojení s mikroskopií
-

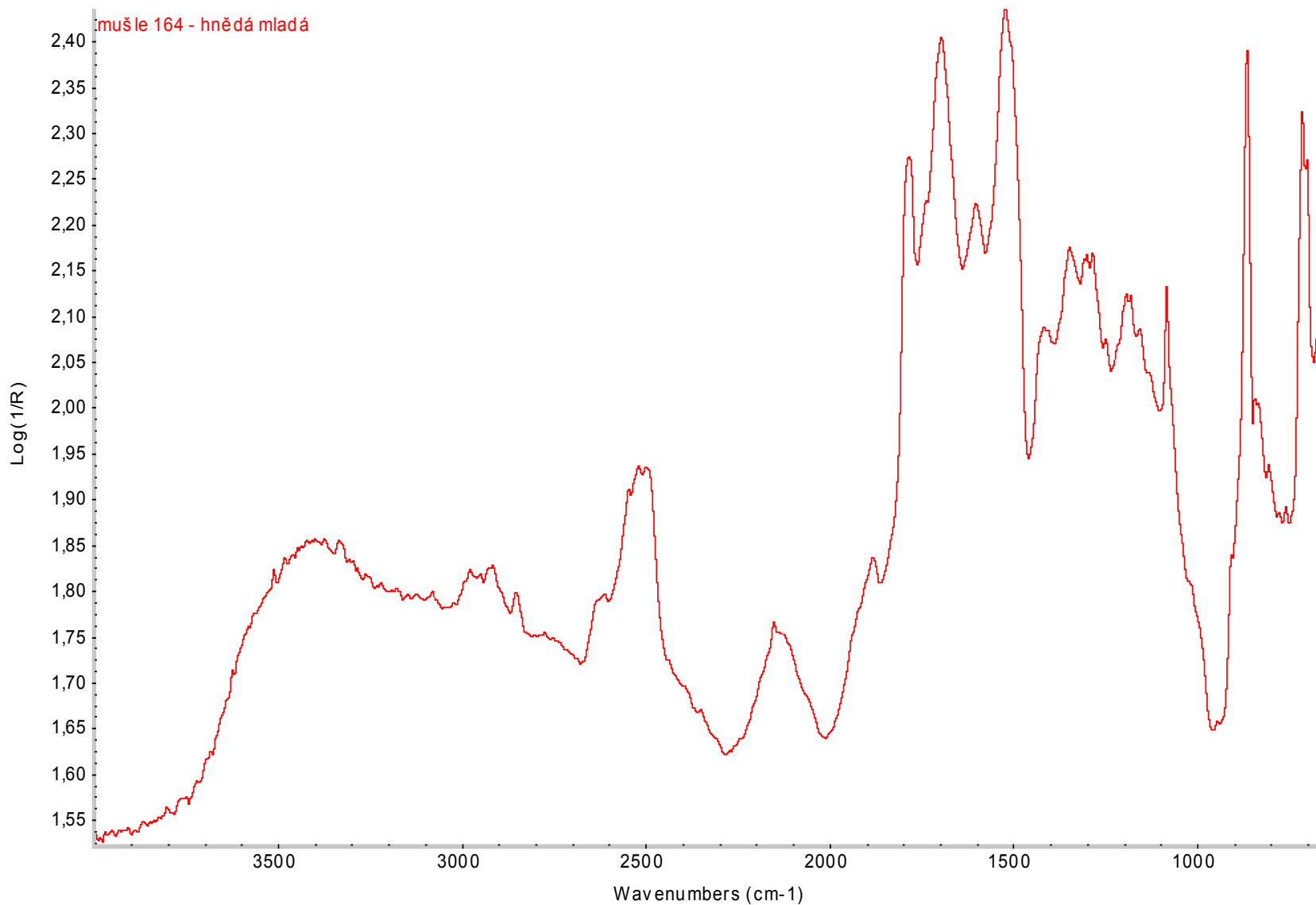
- **Nevýhody:**

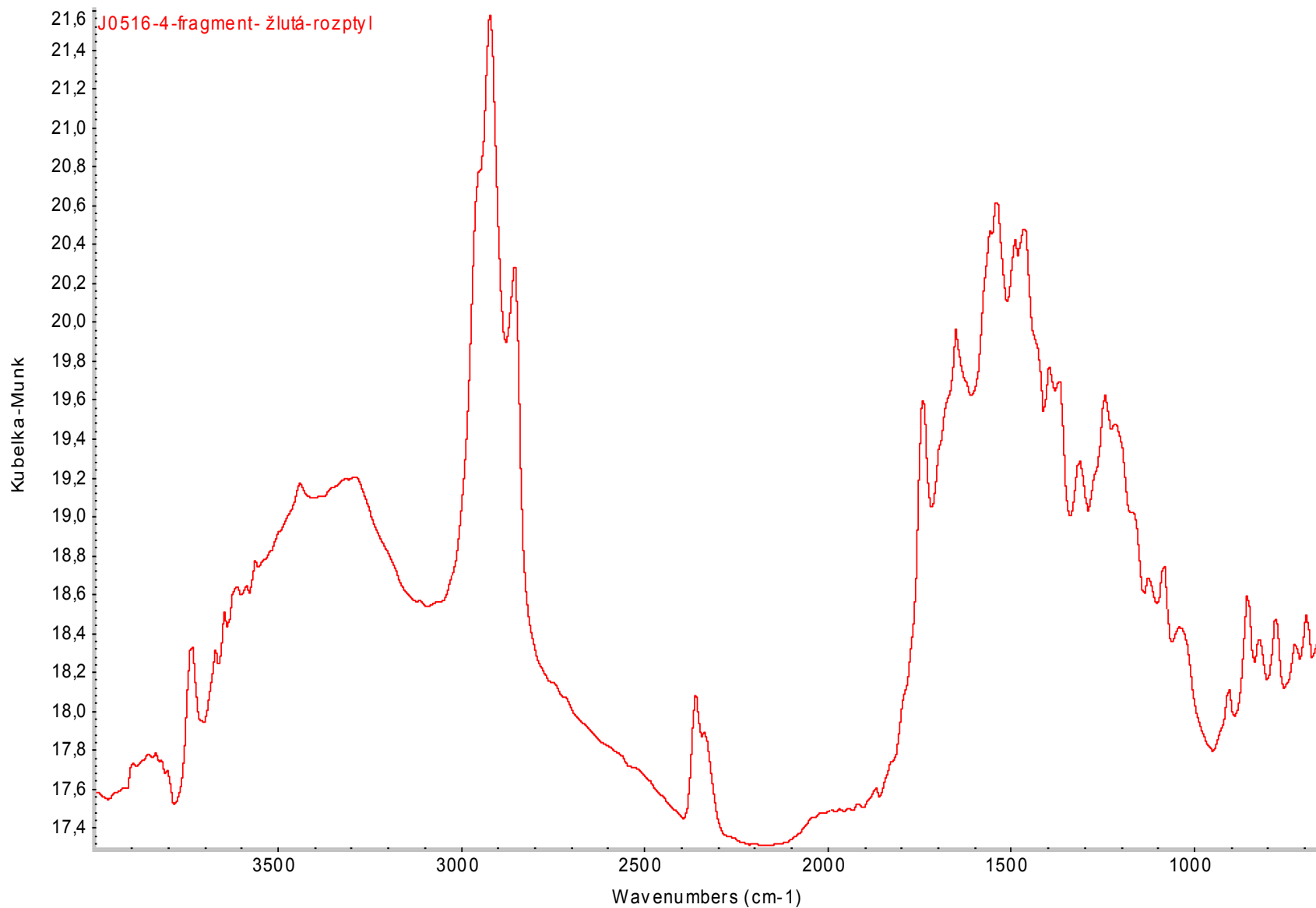
- Instrumentálně i vzdělanostně náročné
- Spektrum závisí i na technice měření
-

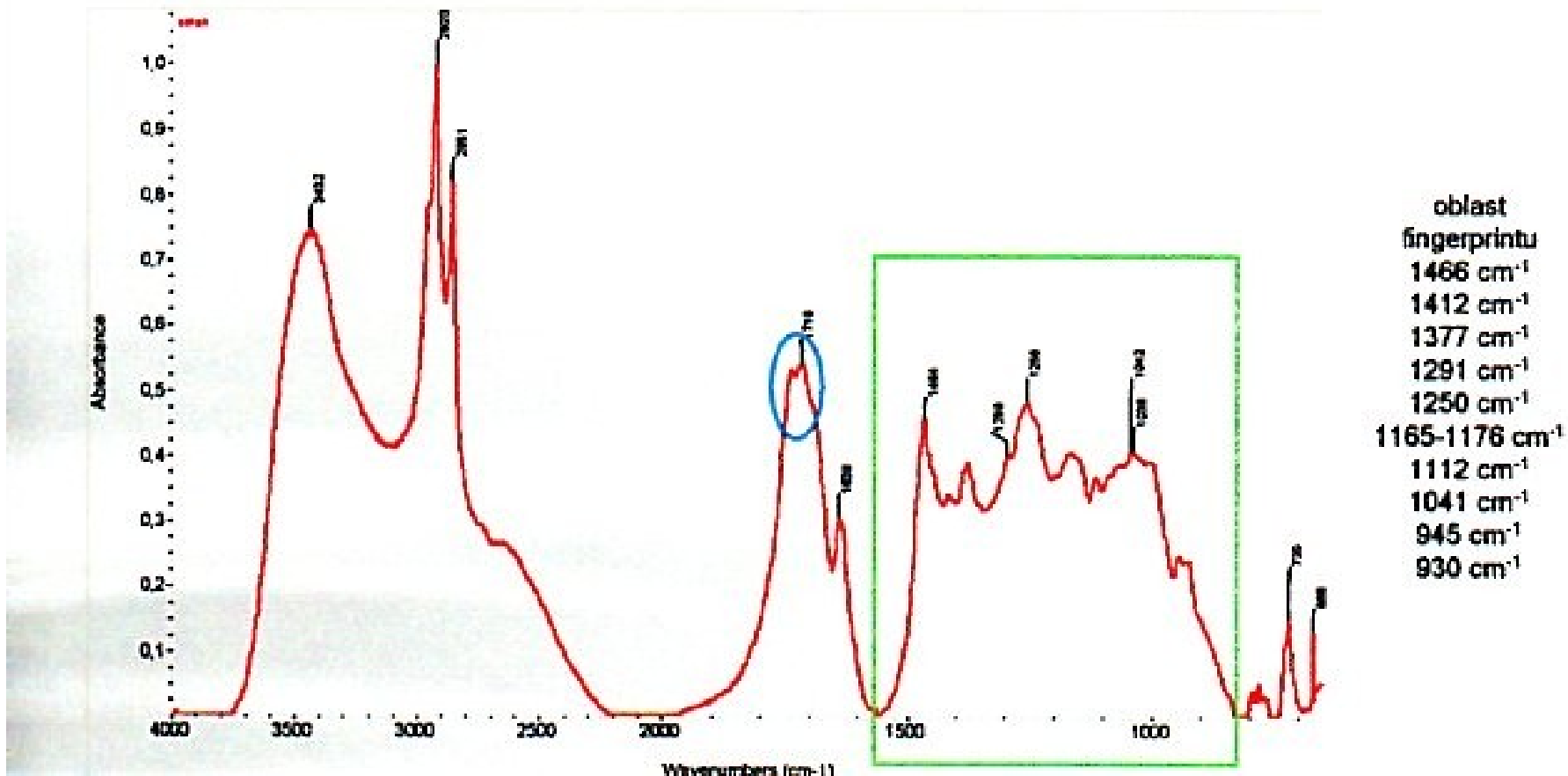
FTIR spektroskopie – spojení s mikroskopem



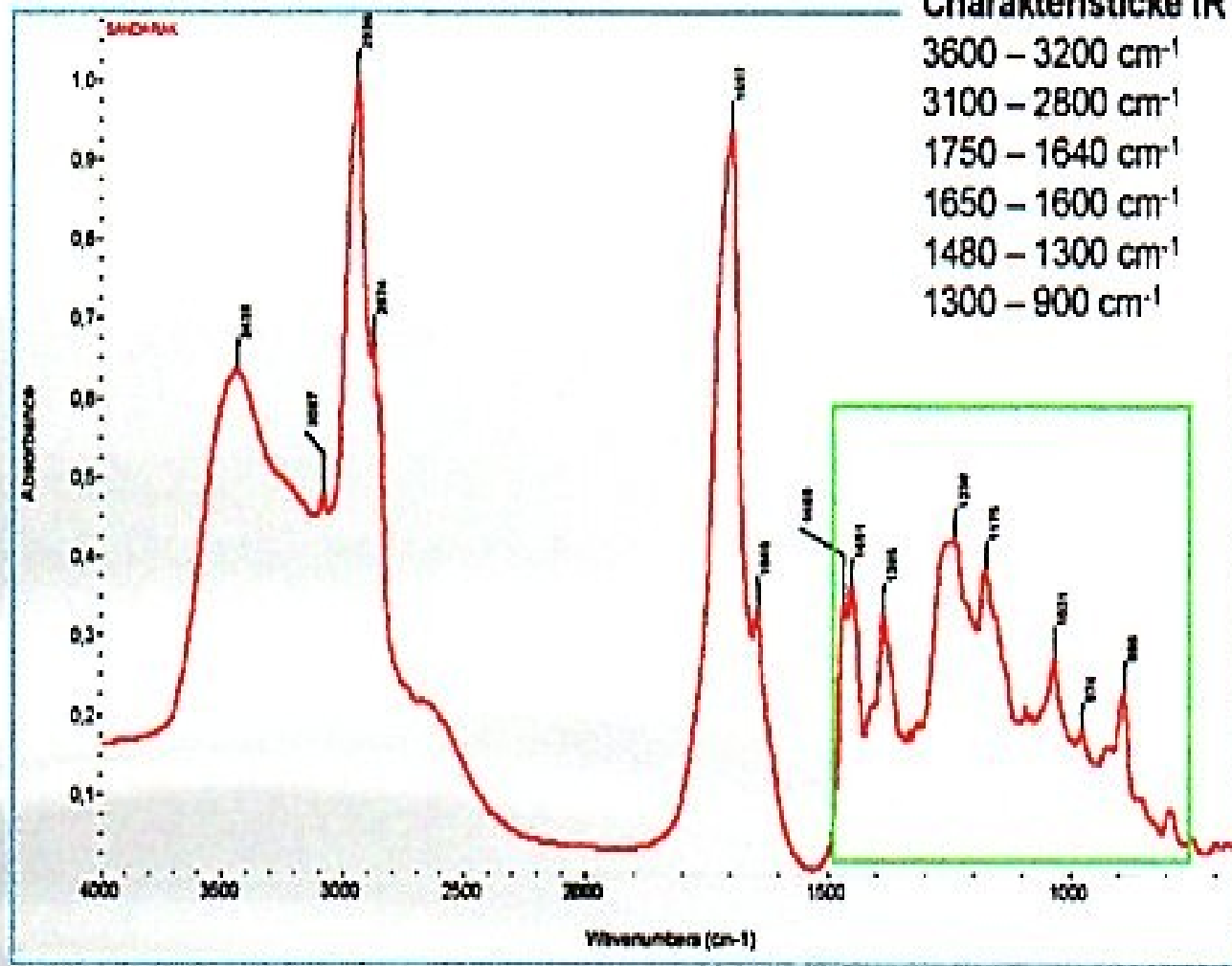
IDENTIFIKACE PŘÍRODNÍCH
LÁTEK 2021







FTIR spektrum šelaku



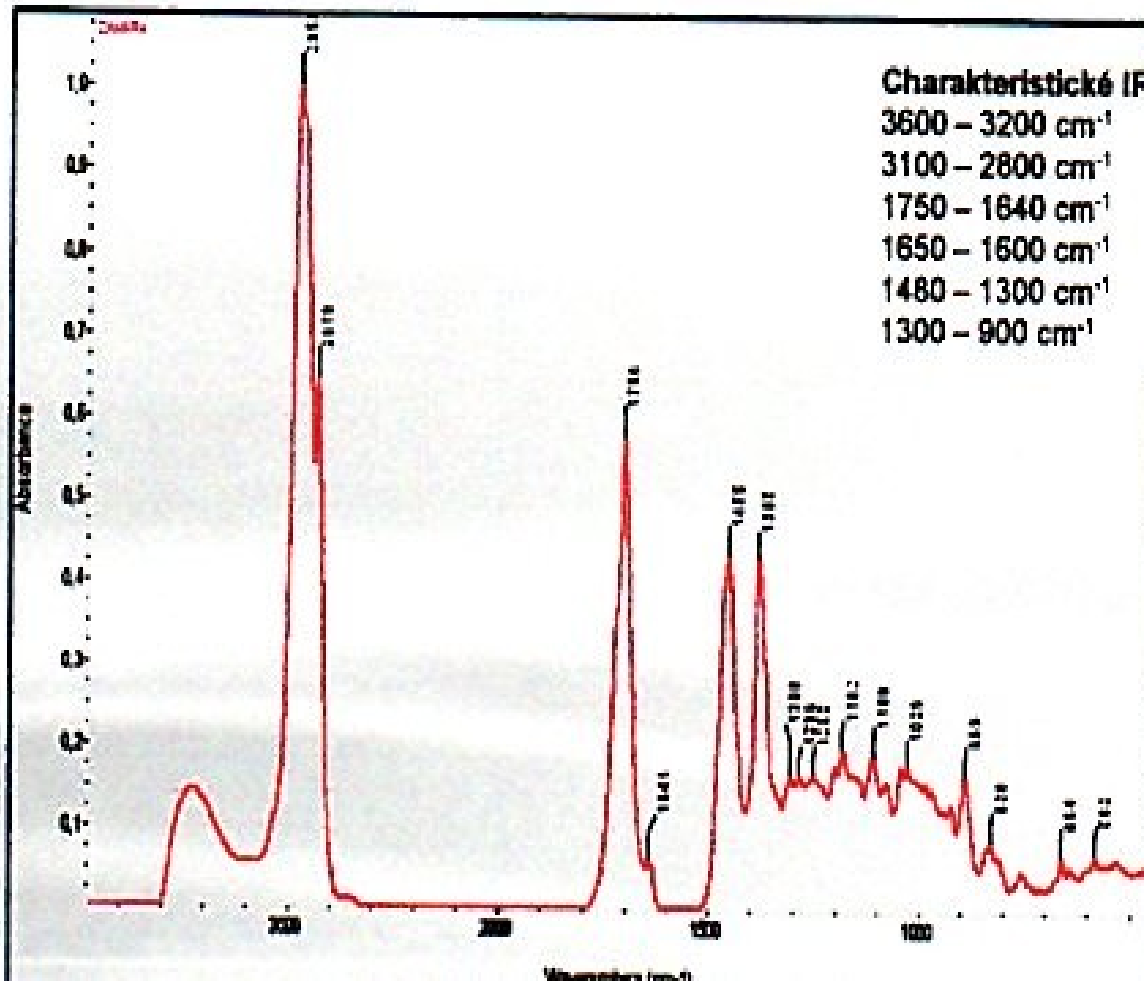
Charakteristické IR absorpční pásy

- 3600 – 3200 cm⁻¹ O-H valenční vibrace
- 3100 – 2800 cm⁻¹ C-H valenční vibrace
- 1750 – 1640 cm⁻¹ C=O valenční vibrace
- 1650 – 1600 cm⁻¹ C-C valenční vibrace
- 1480 – 1300 cm⁻¹ C-H deformační vibrace
- 1300 – 900 cm⁻¹ C-O valenční vibrace

oblast fingerprintu

- 1466 cm⁻¹
- 1449 cm⁻¹
- 1329 cm⁻¹
- 1315 cm⁻¹
- 1259-1263 cm⁻¹
- 1497 cm⁻¹
- 1236 cm⁻¹
- 1213 cm⁻¹
- 972 cm⁻¹
- 909 cm⁻¹
- 856 cm⁻¹
- 823 cm⁻¹
- 789-792 cm⁻¹

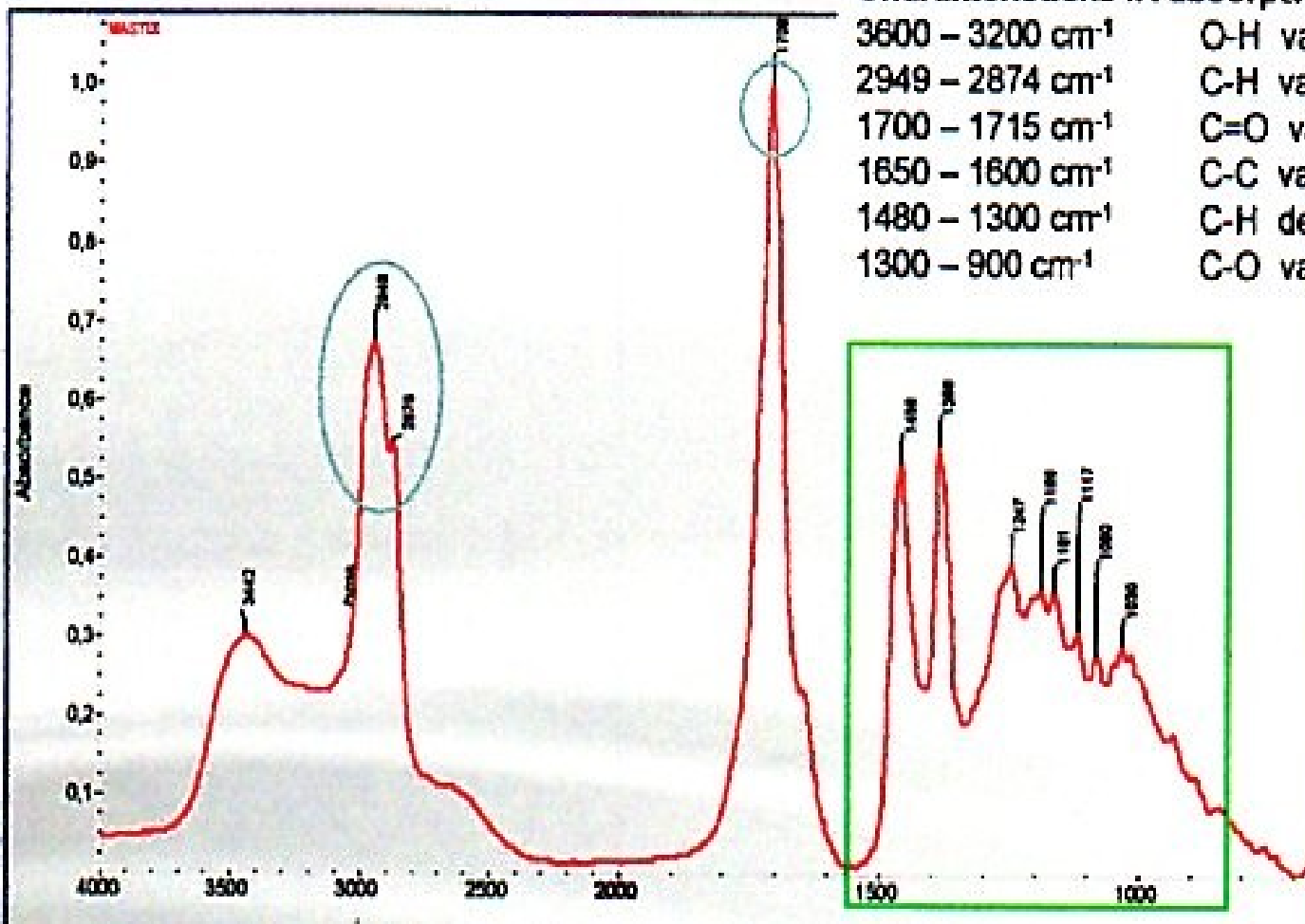
FTIR spektrum sandaraku



FTIR spektrum damary

Charakteristické IR absorpční pásy (GCI)

3600 – 3200 cm^{-1}	O-H valenční vibrace
2949 – 2874 cm^{-1}	C-H valenční vibrace
1700 – 1715 cm^{-1}	C=O valenční vibrace
1650 – 1600 cm^{-1}	C-C valenční vibrace
1480 – 1300 cm^{-1}	C-H deformační vibrace
1300 – 900 cm^{-1}	C-O valenční vibrace



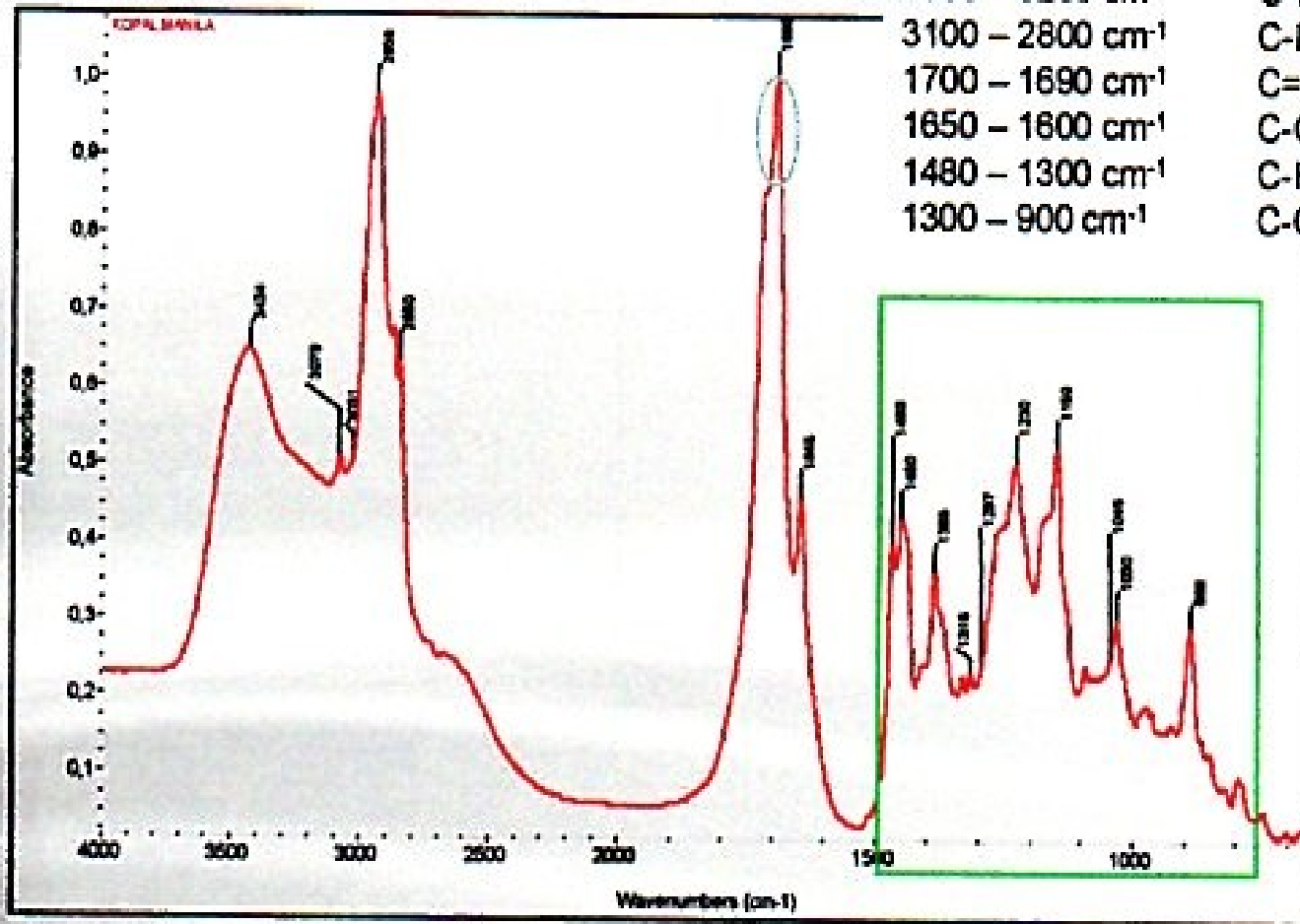
oblast fingerprintu

- 1458-1450 cm^{-1}
- 1245 cm^{-1}
- 1181 cm^{-1}
- 1115 cm^{-1}
- 1046 cm^{-1}
- 1008 cm^{-1}
- 837 cm^{-1}

FTIR spektrum mastixu

Charakteristické IR absorpční pásy

3600 – 3200 cm^{-1}	O-H valenční vibrace
3100 – 2800 cm^{-1}	C-H valenční vibrace
1700 – 1690 cm^{-1}	C=O valenční vibrace
1650 – 1600 cm^{-1}	C-C valenční vibrace
1480 – 1300 cm^{-1}	C-H deformační vibrace
1300 – 900 cm^{-1}	C-O valenční vibrace



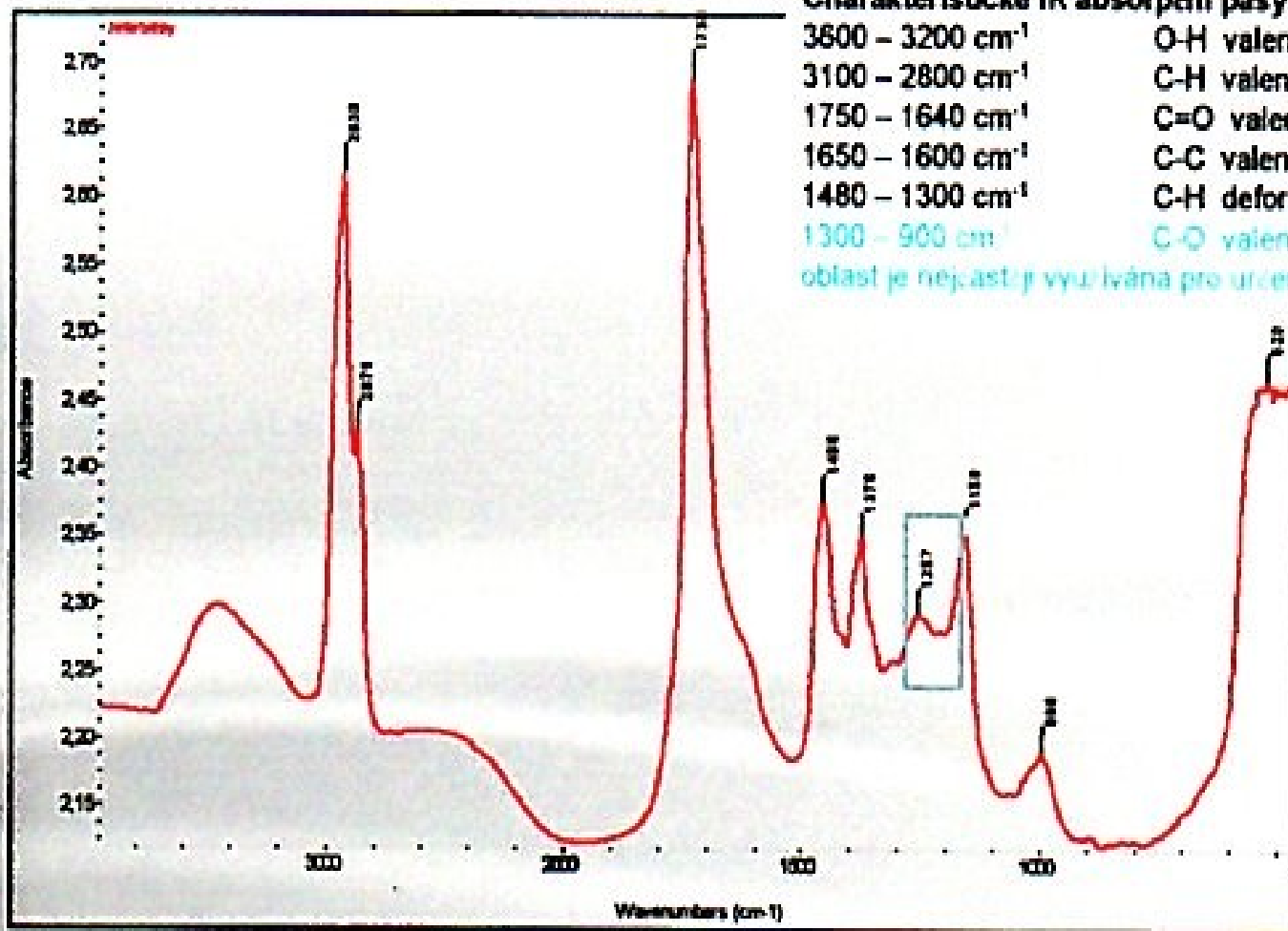
oblast fingerprintu

- 1466 cm^{-1}
- 1449 cm^{-1}
- 1329 cm^{-1}
- 1315 cm^{-1}
- 1259-1263 cm^{-1}
- 1228 cm^{-1}
- 1149 cm^{-1}
- 889 cm^{-1}
- 850 cm^{-1}
- 795 cm^{-1}

FTIR spektrum kopálu

Charakteristické IR absorpční pásy

- 3500 – 3200 cm^{-1} O-H valenční vibrace
- 3100 – 2800 cm^{-1} C-H valenční vibrace
- 1750 – 1640 cm^{-1} C=O valenční vibrace
- 1650 – 1600 cm^{-1} C-C valenční vibrace
- 1480 – 1300 cm^{-1} C-H deformační vibrace
- 1300 – 900 cm^{-1} C-O valenční vibrace, tato spektrální oblast je nejčastěji využívána pro určení místa původu jantaru



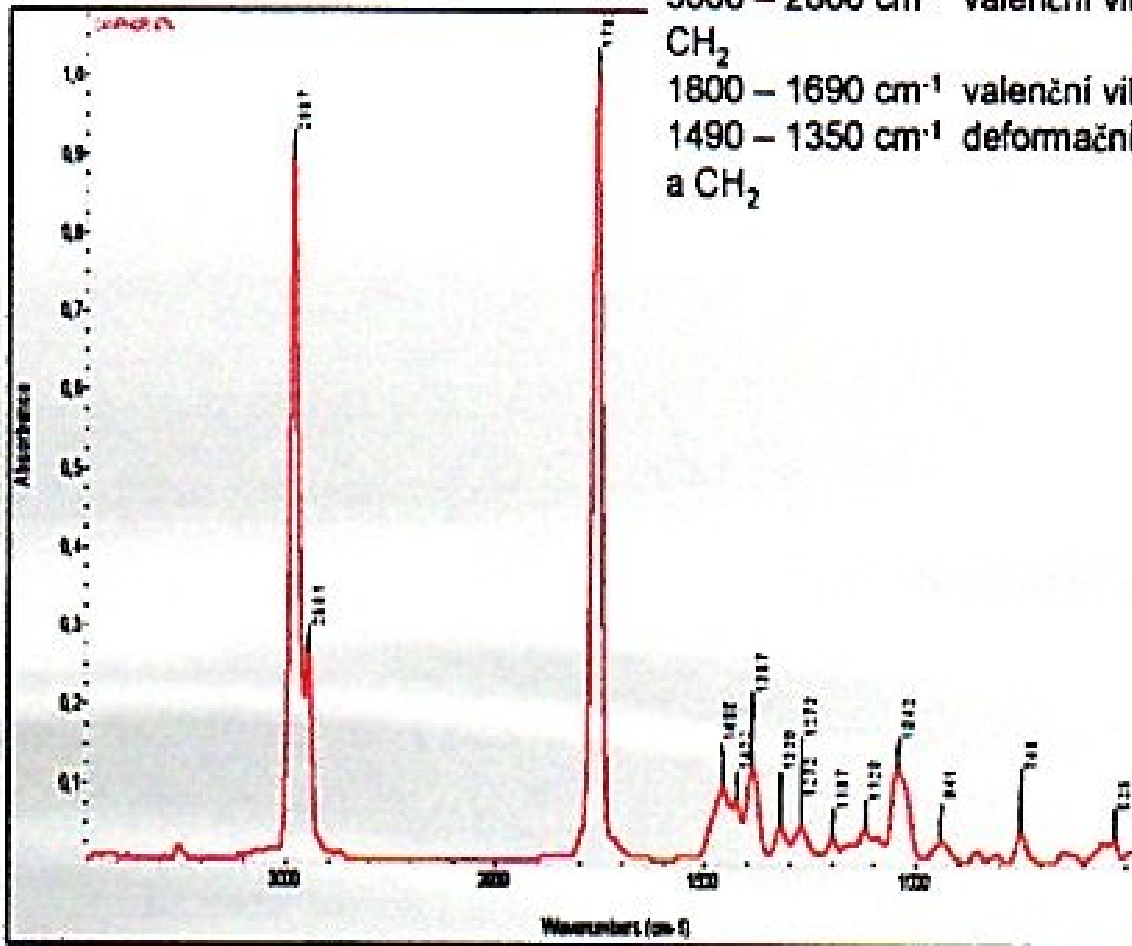
FTIR spektrum jantaru (oblast Baltu)

Charakteristické IČ absorpční pásy

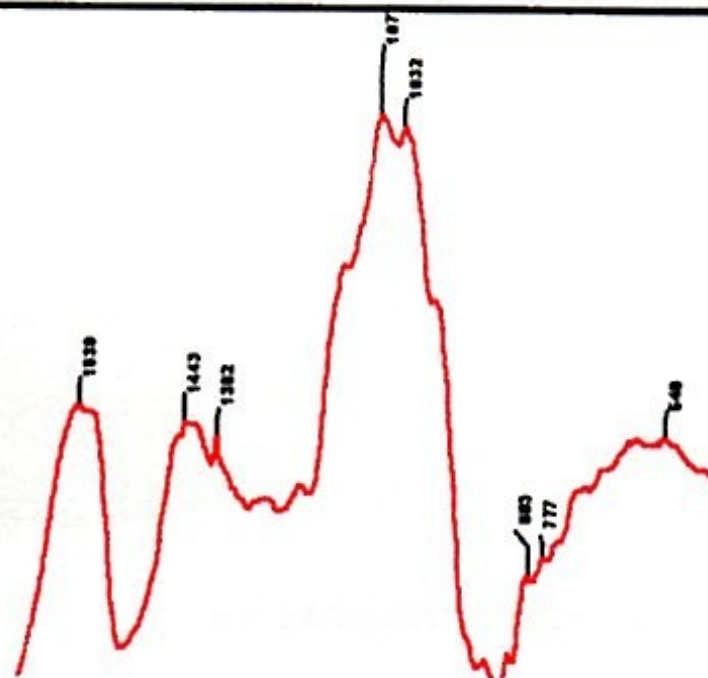
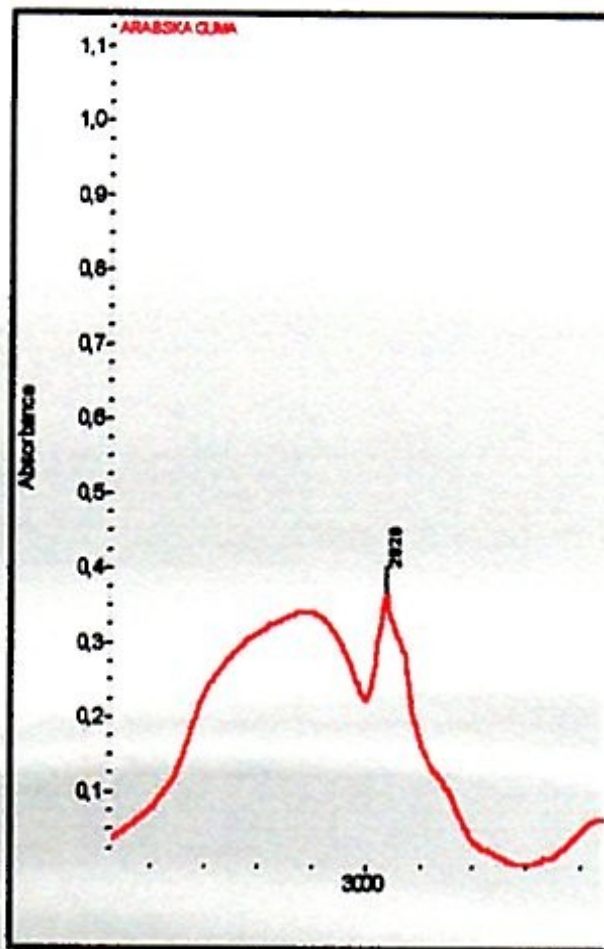
3000 – 2800 cm^{-1} valenční vibrace CH ve skupinách CH_3 , CH_2

1800 – 1690 cm^{-1} valenční vibrace C=O ketonu

1490 – 1350 cm^{-1} deformační vibrace CH ve skupinách CH_3 a CH_2



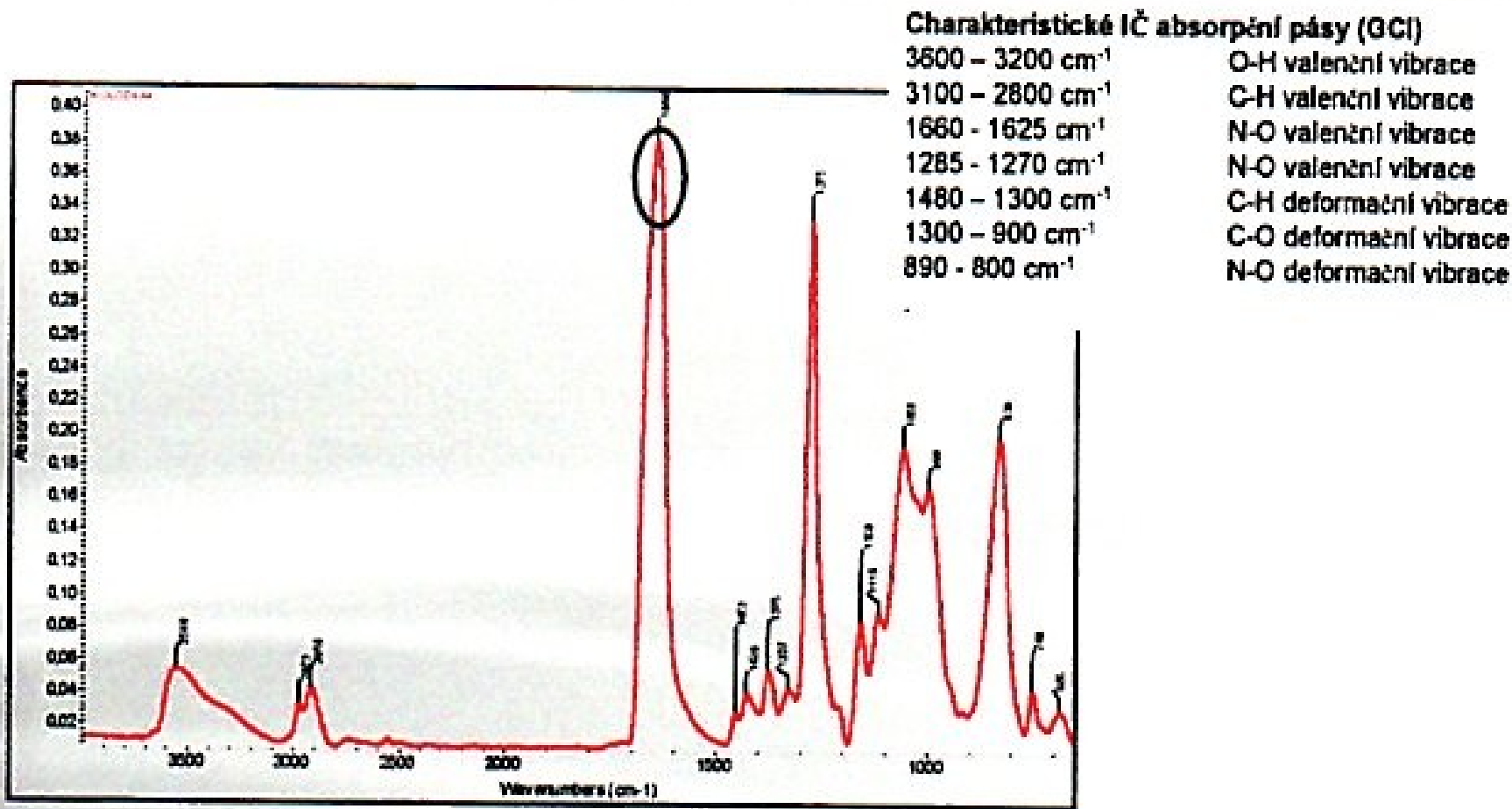
FTIR spektrum kávy



Charakteristické IČ absorpční pásy

3600-3200 cm ⁻¹	O-H valenční vibrace
3000-2800 cm ⁻¹	C-H valenční vibrace
1650 - 1630 cm ⁻¹	O-H deformační vibrace
1480-1300 cm ⁻¹	C-H deformační vibrace
1300-900 cm ⁻¹	C-O valenční vibrace (C-OH + C-O-C)

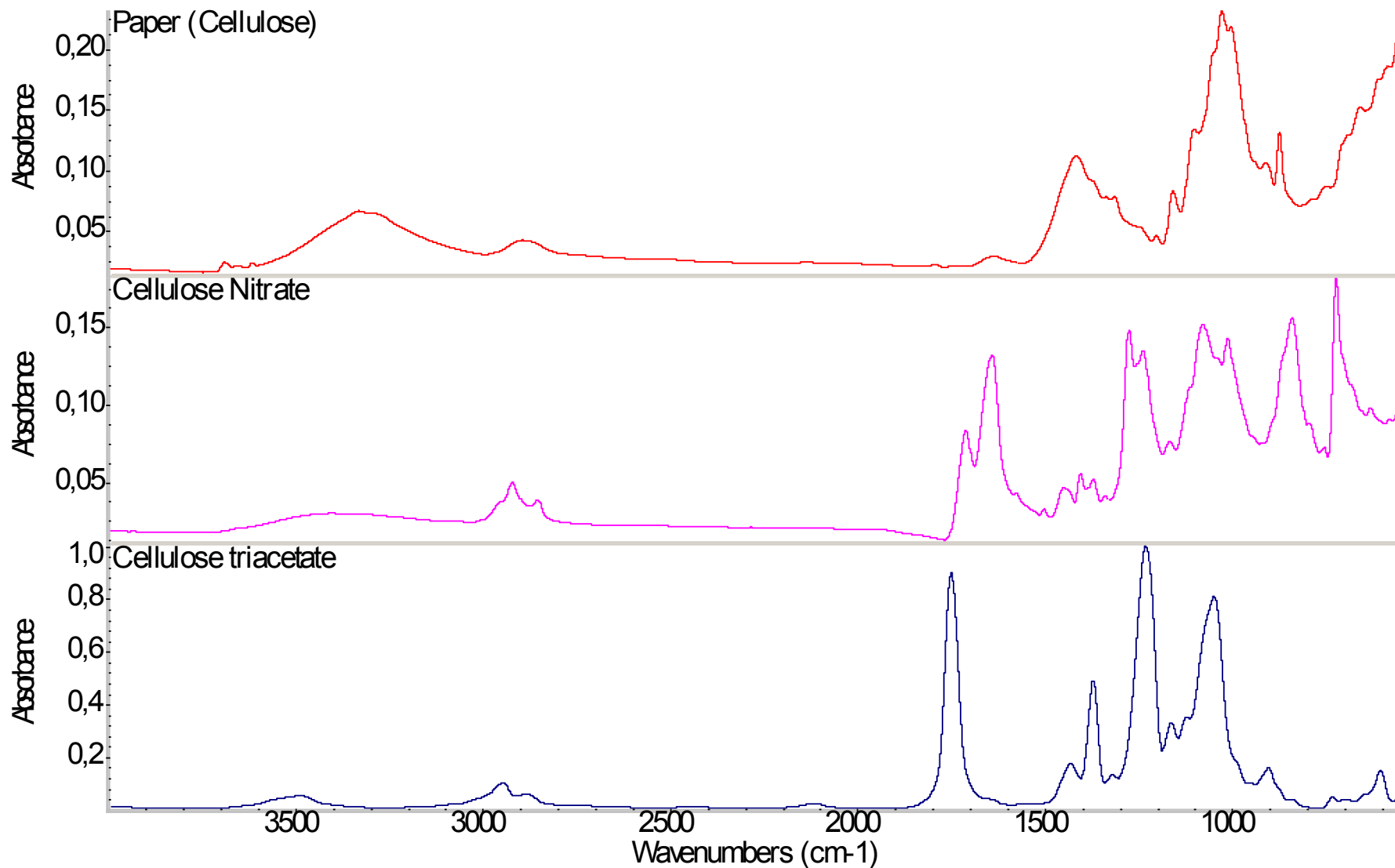
FTIR spektrum arabské gummy



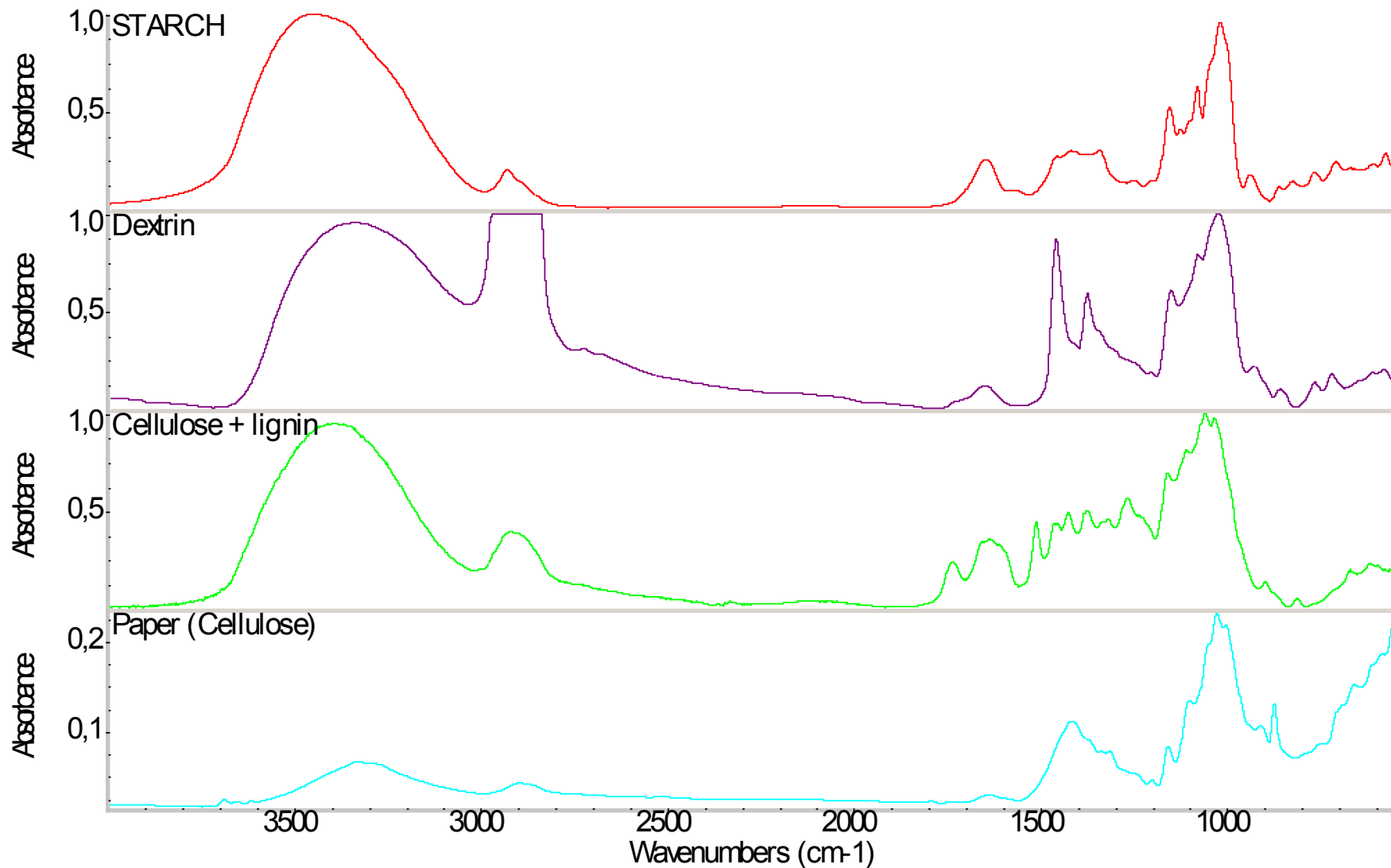
Nejsilnější pás, který je charakteristický pro nitrocelulózu je kolem 1656 cm^{-1} , další pásy se obvykle vyskytují při 1281, 1060 a 846 cm^{-1}



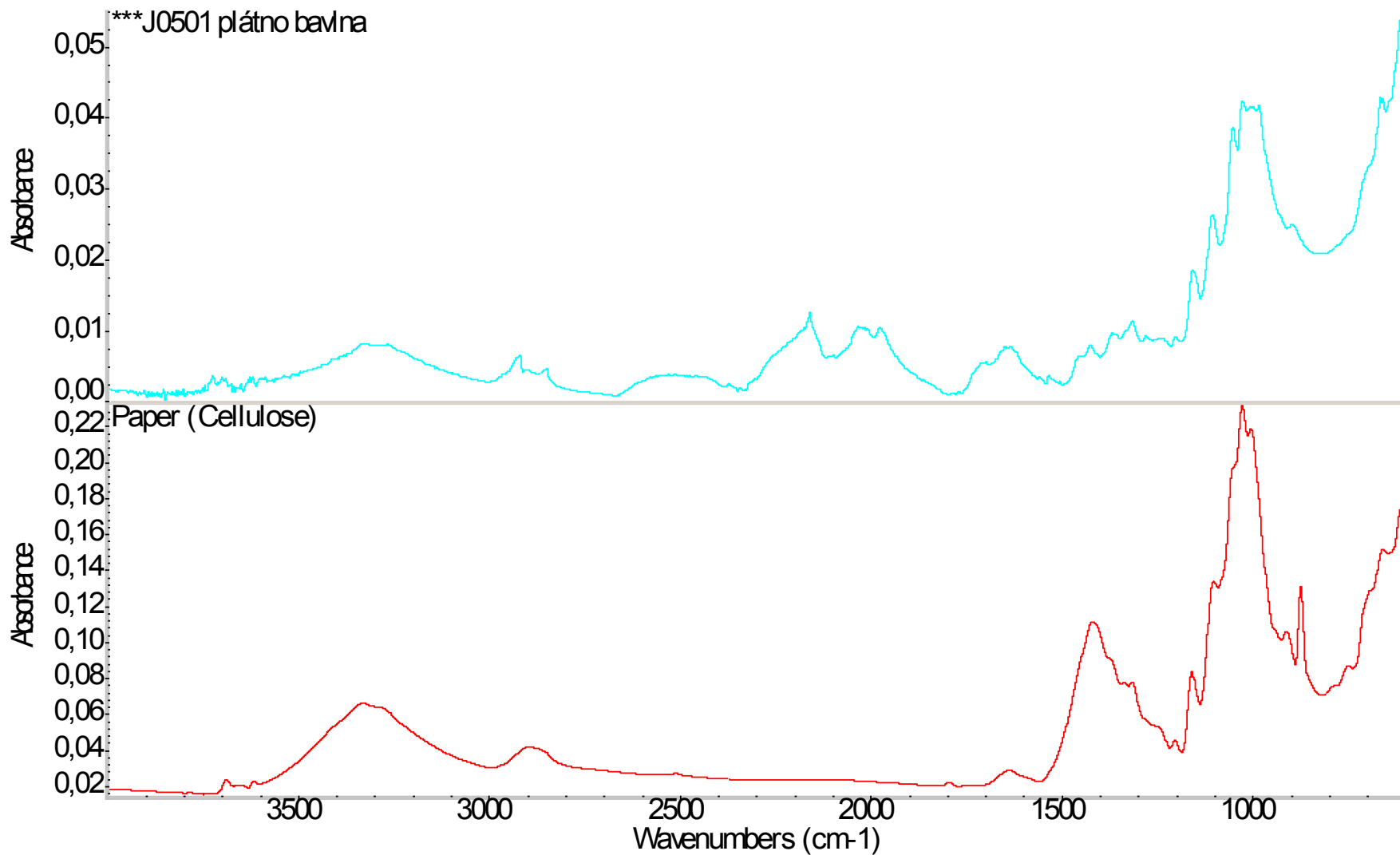
FTIR spektrum NITROCELULÓZY



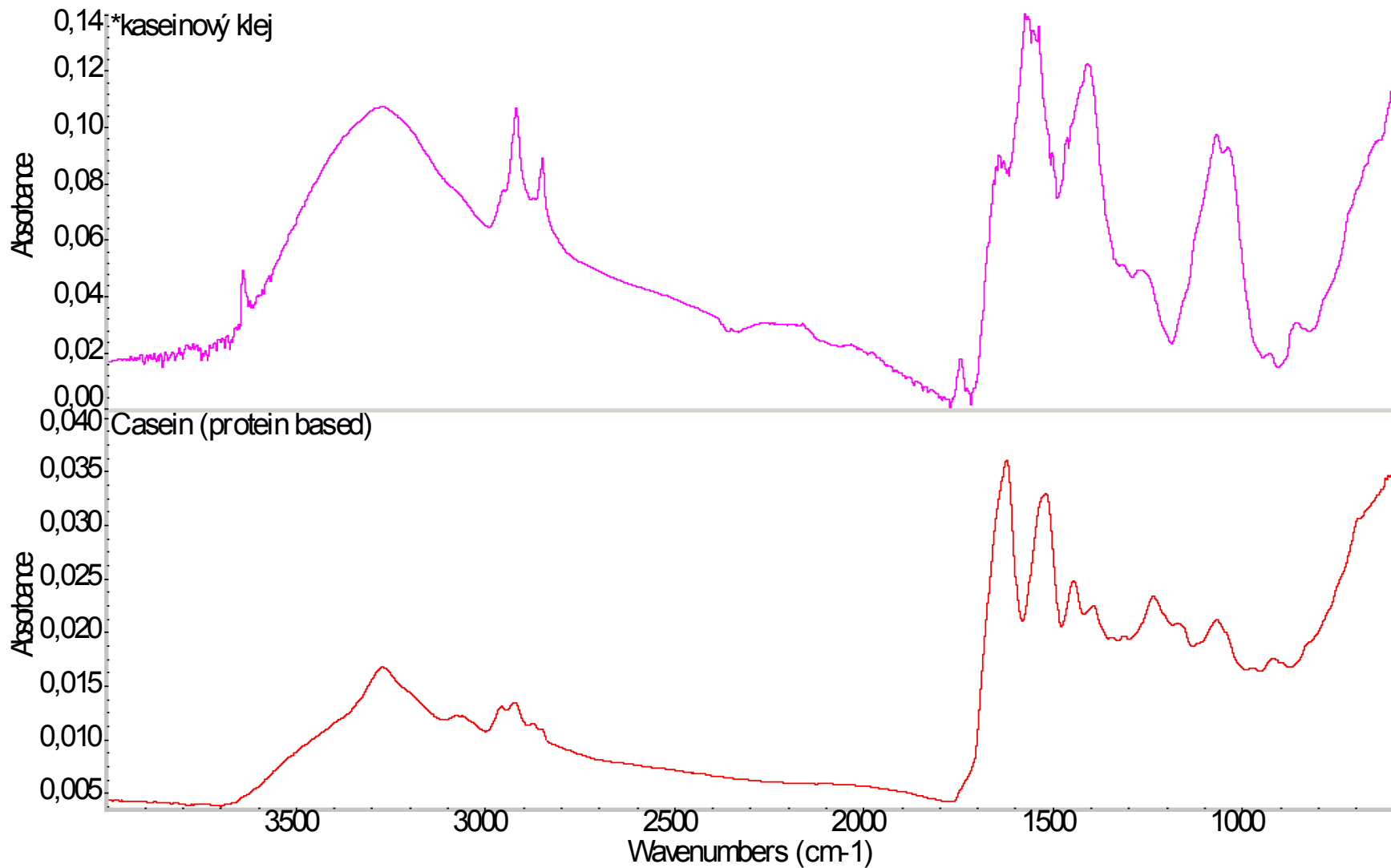
FTIR spektrum celulózy, NITROCELULÓZY a triacetátu celulózy



FTIR spektrum celulózy, škrobu, dextrinu, celulózy s ligninem



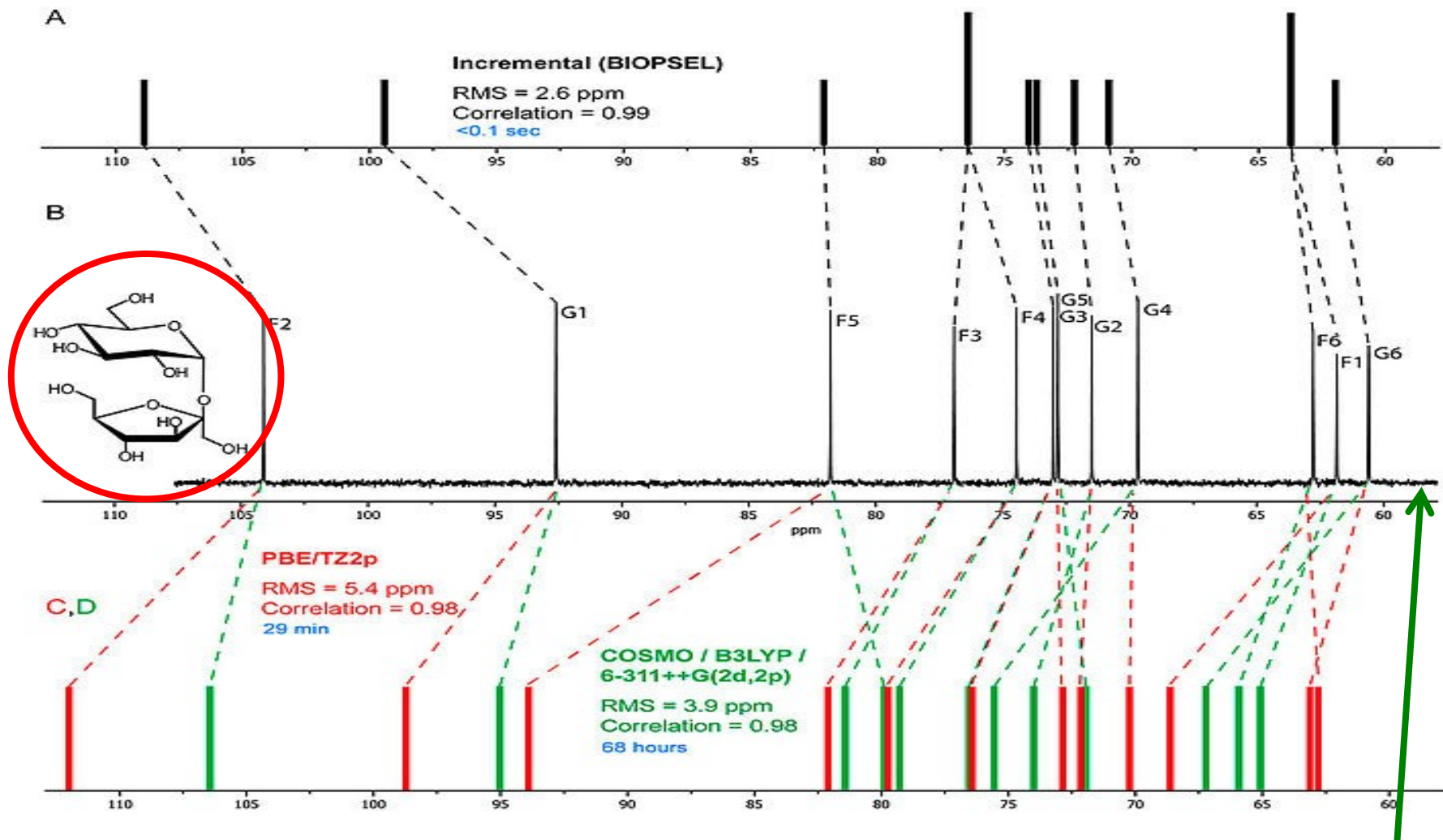
FTIR spektrum celulózy (papír) a celulózy (jutové plátno)



FTIR spektrum kaseinu a kaseinového klišu (Ca sůl)

NMR spektroskopie

- **Výhody:**
 - **Může být vodíkové i uhlíkové a případně i jiné spektrum**
 - **Detailní informace o struktuře molekuly**
 - **Jsou k dispozici simulační metody**
 -
- **Nevýhody:**
 - **Instrumentálně i vzdělanostně náročné**
 - **Většinou nutno pracovat v roztoku nebo s kapalinou**
 -



Comparative prediction of the ^{13}C NMR spectrum of **sucrose** using various methods. **Experimental spectrum is in the middle.** Upper spectrum (black) was obtained by empirical routine. Lower spectra (red and green) were obtained by quantum-chemical calculations in PRIODA and GAUSSIAN respectively. Included information: used theory level/basis set/solvent model, accuracy of prediction (linear correlation factor and root mean square deviation), calculation time on personal computer (blue)