



C3807 Cvičení z chemie přírodních polymerů

Návody k laboratorním úlohám

Radka Bačovská, Světlana Filípková, Pavla Hanáčková, Ladislav Pospíšil

Návody k úlohám Cvičení z chemie přírodních polymerů, C3807, vznikly díky finanční podpoře v rámci projektu FRMU 2017. Všechny úlohy byly odzkoušeny v laboratořích Přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity. Cvičení je také doplněno o exkurzi na CEITEC VUT. Studenti se ve cvičení seznámí s běžnými i moderními trendy v oblasti přírodních polymerů. Cvičení souvisí s předmětem C3804 Přírodní polymery. Úlohy vychází jak z převzatých úloh z UTB, UP, UK, tak naprosto nových. Teoretické úvody představují základní představení obecné skupiny polymerních látek. Při provádění úloh je třeba dbát zvýšené opatrnosti a striktně dodržovat uvedená bezpečnostní pravidla. Ve cvičeních se bude pracovat s nebezpečnými a dráždivými látkami. Před zahájením samotného chemického procesu musí být aparatura zkontrolována vyučujícím. Studenti jsou povinni seznámit se s bezpečnostními pravidly pro nakládání s chemikáliemi (např. bezpečnostní listy na stránkách Sigma Aldrich, Acros Organics apod.).

Obsah

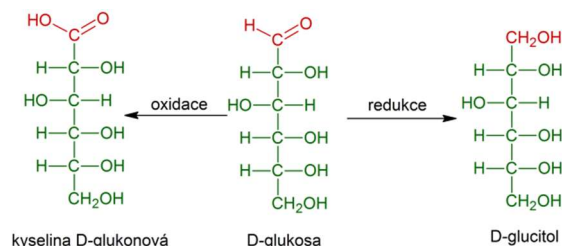
Návody k laboratorním úlohám.....	1
SACHARIDY.....	5
Úloha č. 1: MONO-, OLIGO- A POLYSACHARIDY	12
A. KVALITATIVNÍ REAKCE SACHARIDŮ	12
a. Thymolová reakce – důkaz sacharidů I.....	13
b. Molischova reakce – důkaz sacharidů II.	13
c. Nitrochromová reakce – důkaz mono- a oligosacharidů.....	13
d. Jodový test – důkaz polysacharidů (rozlišení škrobu a celulózy)	14
e. Fehlingova reakce – rozlišení redukujících a neredukujících sacharidů I.....	14
f. Tollensova zkouška – rozlišení redukujících a neredukujících sacharidů II.....	15
g. Selivanova reakce – rozlišení aldóz a ketóz I.....	16
h. Reakce s močovinou – odlišení aldóz a ketóz II.	16
i. Barfoedova reakce – důkaz monosacharidů	17
j. Bialova reakce – důkaz pentóz a hexóz	17
Úloha č. 2: POLYSACHARIDY – ŠKROB.....	19
A. STANOVENÍ ŠKROBU GRAVIMETRICKY.....	19
B. DĚLENÍ ŠKROBU NA AMYLOSU A AMYLOPEKTIN	21
C. DŮKAZ PŘÍTOMNOSTI ŠKROBU A SOLANINU V HLÍZÁCH BRAMBOR	22
D. ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA ŠKROBU.....	23
Úloha č. 3: DŘEVO A POLYSACHARID CELULOSA.....	24
A. STANOVENÍ ROZPUSTNOSTI CELULOS V HYDROXIDU SODNÉM.....	24
B. STANOVENÍ VLHKOSTI DŘEVA	25
C. PŘÍPRAVA NITRÁTU CELULOSY	26
D. SIMULACE VÝROBY PERGAMENOVÉHO PAPÍRU	27
E. STANOVENÍ VLHKOSTI CELULOSY	28
F. STANOVENÍ LIGNINU VE DŘEVĚ (metoda podle Komarova).....	29
G. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Klauđitze).....	30
H. STANOVENÍ PODÍLU HOLOCELULOSY VE DŘEVĚ (metoda podle Wise)	31
I. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Tappiho)	32
TUKY, OLEJE, VOSKY.....	33
Úloha č. 4: TUKOVÉ CHARAKTERISTIKY	34
A. PEROXIDOVÉ ČÍSLO.....	34
B. JODOVÉ ČÍSLO – Hanušova metoda	36
C. ČÍSLO KYSELOSTI	38

D. ČÍSLO ZMÝDELNĚNÍ	40
E. ČÍSLO ESTEROVÉ	41
BÍLKOVINY A AMINOKYSELINY	42
Úloha č. 5: DŮKAZ BÍLKOVIN A AMINOKYSELIN	43
A. BIURETOVÁ REAKCE – důkaz bílkovin.....	43
B. XANTOPROTEINOVÁ REAKCE	44
Úloha č. 6: KYSELÁ HYDROLÝZA BÍLKOVIN (denaturace kolagenu na klíh).....	50
Úloha č. 7: VÝROBA GALALITU Z KASEINU.....	51
Úloha č. 8: STANOVENÍ AMINOKYSELIN / BÍLKOVIN	52
A. STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	52
B. TITRAČNÍ STANOVENÍ KYSELOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ (Soxhlet-Henkelova metoda	52
C. STANOVENÍ BÍLKOVIN V MLÉČE (Pyneho metoda).....	54
D. STANOVENÍ BÍLKOVIN V MLÉČE (metoda dle Schulze).....	55
E. STANOVENÍ POPELA V KASEINU	56
F. STANOVENÍ OBSAHU TUKU V KASEINU.....	57
G. ORIENTAČNÍ STANOVENÍ VISKOSITY KASEINU	58
Úloha č. 9: MĚĎNATÉ HEDVÁBÍ	59
MODERNÍ TRENDY V POLYMERNÍ CHEMII.....	61
Úloha č. 10: ELEKTROSTATICKÉ NANOZVLÁKŇOVÁNÍ PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ	61
Úloha č. 11: 3D TISK PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ	63

SACHARIDY

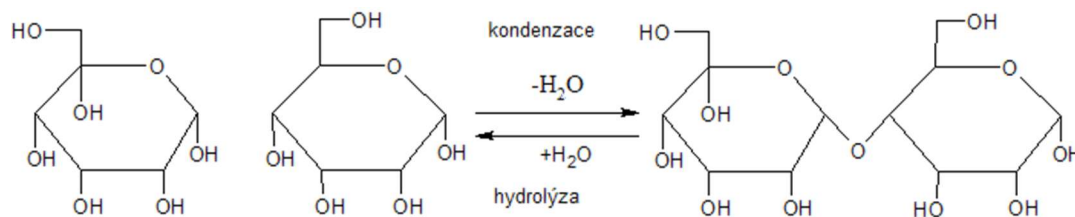
SACHARIDY (glycidy) jsou rozsáhlou a velmi pestrou skupinou přírodních látek patřících do skupiny polyhydroxyderivátů karbonylových sloučenin s minimálně třemi atomy uhlíku. Sacharidy jsou z chemického hlediska hydroxyaldehydy (**aldózy**), které mají navázaný jeden řetězec a jeden atom H, nebo hydroxyketony (**ketózy**), které mají navázané dva různé řetězce. Společný sumární vzorek všech sacharidů je $(\text{CH}_2\text{O})_n$, kde $n \geq 3$.

Aldosy se díky přítomnosti aldehydicke skupiny mohou oxidovat nebo redukovat (Obr. 1).



Obr. 1: Oxidace a redukce aldosy

Primárně vznikají fotosyntézou. Monosacharidické jednotky se mohou spojovat do vyšších útvarů přes tzv. glykosidovou vazbu. Ke spojení do vícecyklických sacharidů dochází **kondenzací** (Obr. 2), tedy odštěpením vody. Naopak rozklad těchto sloučenin probíhá opačným procesem, tedy **hydrolyzou** (Obr. 2).



Obr. 2: Vznik a rozklad polysacharidů

Podle počtu sacharidových jednotek rozdělujeme monosacharidy, oligosacharidy (2-10 molekul) a polysacharidy.

Sacharidy lze rozdělit na redukující a neredukující sacharidy. **Redukující** sacharidy obsahují volnou aldehydovou nebo ketonovou funkční skupinu a mohou fungovat jako redukční činidla. Ketózy se nejprve musí tautomerizovat na aldózy a až pak mají redukční účinky. Redukující jsou všechny monosacharidy a patří tak mezi aldózy. Některé di- (laktóza, maltóza), oligo- i polysacharidy (mají-li poloacetátový hydroxyl). **Neredukující** sacharidy (sacharóza) nemají poloacetal a zůstávají tak v cyklické formě

Nízkomolekulární sacharidy (mono- a oligo-) jsou rozpustné ve vodě a mají více či méně sladkou chuť a lze je označit jako cukry (na potravinách označovány kategorií „z toho cukry“). Makromolekulární polysacharidy jsou většinou bez chuti a jsou ve vodě jen omezeně rozpustné (škrob, agar), nebo zcela nerozpustné (celulóza a jiné neškrobové polysacharidy z vlákniny).

Rostliny jsou schopny je vyrábět fotosyntézou z vody, CO₂ a sluneční energie. Ostatní organismy jsou závislé na jejich příjmu.

Sacharidy mají několik funkcí:

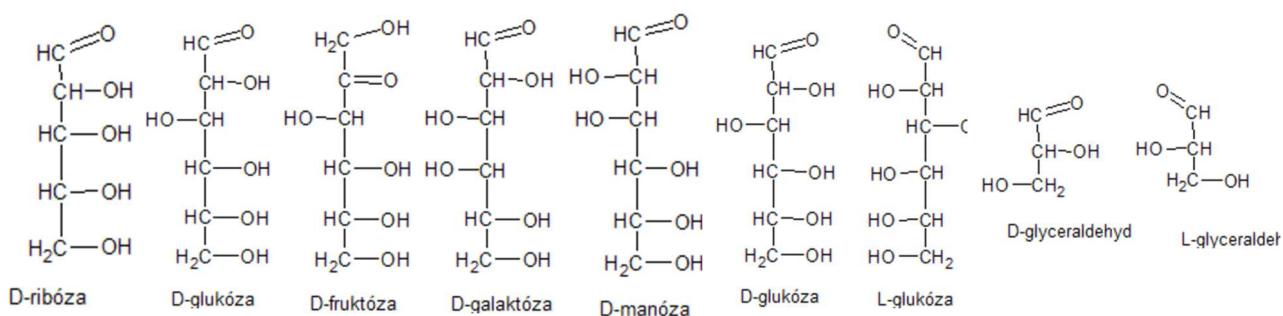
- **zdroje energie** (glukóza, fruktóza) – díky jednoduché struktuře jsou nejrychlejším zdrojem energie, na rozdíl od lipidů a proteinů).
- **zásobní látky** (inulin, škrob)
- **stavební funkce** – řetězením do dlouhých řetězců (polysacharidy) vzniká např. celulóza, která tvoří buněčnou stěnu většiny rostlin.
- **složky složitějších látek** (nukleové kyseliny, hormony, koenzymy)

MONOSACHARIDY (z řečtiny *monos*: jednoduchý, *sacchar*: cukr) jsou základní stavební jednotky všech sacharidů. Jsou charakteristické tím, že se nedají štěpit na sacharidy jednodušší. Monosacharidy jsou typicky krystalické látky dobře rozpustné ve vodě a v polárních rozpouštědlech. Monosacharidy jsou chirální sloučeniny, to znamená, že jsou opticky aktivní a stáčí rovinu polarizovaného světla.

Podle počtu uhlíků se dělí na triosy, tetrosy, pentosy a hexosy.

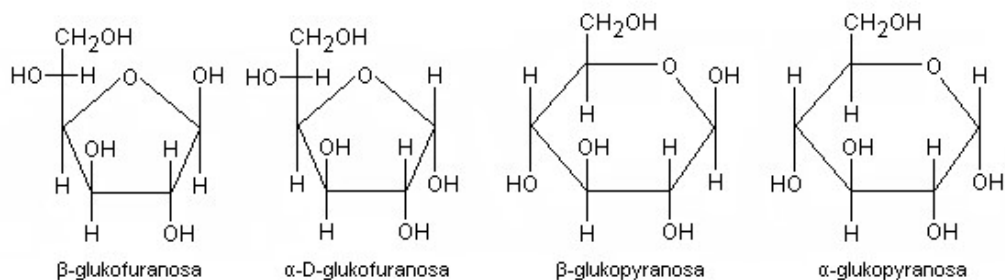
Monosacharidy lze zapsat ve formě lineární (vyjádřené Fisherovým vzorcem, viz Obr. 3) a cyklické (vyjádřené Haworthovým vzorcem, viz Obr. 4).

Fisherův vzorec je vhodný, chceme-li vidět orientaci jednotlivých funkčních skupin (Obr. 3).



Obr. 3: Přehled základních lineárních monosacharidů – Fisherův vzorec

Haworthův vzorec znázorňuje skutečnou, cyklickou strukturu sacharidů¹ (Obr. 4).



Obr. 4: Cyklické monosacharidy – Haworthův vzorec

U obou forem představují jednotlivé uhlíky asymetrická centra způsobující optickou aktivitu – jedná se o tzv. chirální centra. Díky nim existuje velké množství stereoisomerů

¹ Orientace hydroxylových skupin a atomů uhlíku v Haworthově vzorci se určuje tak, že je-li daná částice zapsaná ve Fischerově vzorci vpravo, nachází se v Haworthově dole. Pokud je částice ve Fischerově vzorci zapsána vlevo, píše se v Haworthově nahoru.

(prostorových izomerů) se stejným sumárním vzorcem. Jejich maximální počet je 2^n (n = počet chirálních center). Dvojice stereoizomerů, které jsou vzájemně právě zrcadlovými obrazy, nazýváme enantiomery a označujeme je stejným názvem doplněným symbolem L- (levotočivý) nebo D- (pravotočivý).

Podle orientace -OH skupiny na posledním stereogenním uhlíku ve Fischerově projekci tedy rozlišujeme **L-cukry** (orientované doleva) a **D-cukry** (orientované doprava).

V roztoku existují převážně v cyklických formách, přičemž formy s pětičlenným kruhem označujeme jako **furanosy** (konformačně flexibilnější, preferují obálkové konformace). Šestičlenné kruhy nazýváme **pyranosy** (nejčastěji v židličkových konformacích). Při uzavření cyklické formy dochází k vzniku dvou anomerů, které rozlišujeme za pomoci anomerních konfiguračních symbolů α a β .

Nejdůležitějšími monosacharidy (Obr. 3) jsou:

- **D-glukóza** (hroznový cukr) – obsažena ve sladkých plodech, medu, hroznech; primární produkt fotosyntézy, základní sacharid, průmyslově se vyrábí ze škrobu
- **D-fruktóza** (ovocný cukr) – nejsladší, obsažena v medu, získává se z polysacharidu inulinu
- **D-ribóza** – složka kyseliny ribonukleové

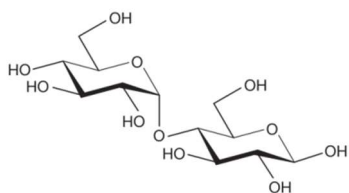
OLIGOSACHARIDY vznikají kondenzací 2–10 monosacharidových jednotek, konkrétně glykosidovou vazbou za odštěpení vody.

Disacharidy se dělí dle typu glykosidové vazby na redukující a neredukující. **Redukující** disacharidy (laktózy, maltóza) jsou spojeny na 1,4 a 1,6 koncích. **Neredukující** sacharidy (sacharóza) jsou spojeny vazbami na 1,1 a 1,2 koncích.

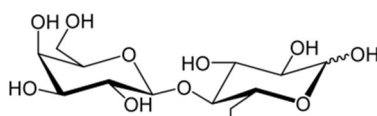
Podle počtu monosacharidových jednotek vázaných v jejich molekulách rozlišujeme disacharidy, trisacharidy, tetrasacharidy atd. Hydrolýzou se z nich opět uvolňují monosacharidy. Nejdůležitějšími z disacharidů jsou:

- **maltóza** (sladový cukr) (Obr. 5) – vzniká dehydratací 2 glukózových jednotek glykosidovou vazbou α C1→C4 (je tedy redukující); získává se enzymatickou hydrolýzou škrobu
- **laktóza** (mléčný cukr) (Obr. 6) – vzniká spojením glukózy a galaktózy vazbou β C1→C4 (redukující); je obsažen v mléce savců (4–7 %)
- **sacharóza**² (řepný, třtinový cukr) (Obr. 7) – vzniká glykosidovou vazbou mezi glukózou a fruktózou, vazba α, β C1_{gluk}→C2_{fruk} (neredukující); nejrozšířenější disacharid obsažený ve všech rostlinách; hydrolýzou vzniká D-glukóza a L-fruktóza = invertní cukr; v rostlinách se mění na škrob, případně se ukládá jako zásobní látka; získává se z cukrové řepy a třtiny

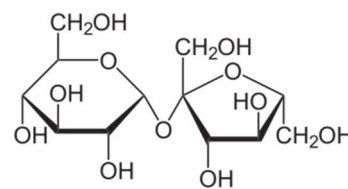
² Anglicky je sacharóza **SUCROSE**! Někdy se mylně uvádějí jako neredukující cukry sukróza a sacharóza. To je pustý omyl, kdy si autoři nepřeložili do češtiny název **SUCROSE**.



Obr. 5: Maltóza



Obr. 6: Laktóza



Obr. 7: Sacharóza

Produkty jejich hydrolýzy obsahují více redukujících sacharidů, zastoupení redukujících sacharidů v těchto produktech se nazývá dextrózový ekvivalent (DE).

POLYSACHARIDY jsou nejrozšířenějšími přírodními polymery. Jsou složeny z mnoha monosacharidových jednotek (řádově 10–100 000) s vysokou Mr. Vznikají spojením monosacharidových jednotek vždy přes poloacetalový hydroxyl (nemají redukční účinek). Hydrolýzou dochází ke štěpení na monosacharidy, které opět mají redukční schopnost.

Mají obecný sumární vzorec $C_n(H_2O)_{n-1}$.

Molekula sacharidu složená pouze z jednoho druhu monosacharidu se označuje jako **homopolysacharid**. Pokud obsahuje různé monosacharidy označuje se jako **heteropolysacharid**.

Nemají sladkou chuť a nenazývají se proto cukry, ve vodě jsou jen těžko rozpustné nebo častěji nerozpustné. Mají funkci především stavební (celulóza) a zásobní (škrob).

Nejvýznamnější polysacharidy jsou:

- škrob – viz níže
- celulóza – viz níže
- glykogen (živočišný škrob) – složený z α -D-glukopyranózových jednotek, struktura je podobná amylopektinu ale větvenější; zásobní polysacharid živočichů (uložen především v játrech a svalch) a hub; rozpustný ve vodě
- chitin
- inulin
- heparin, aj.

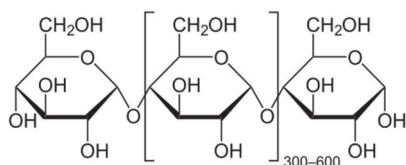
Škrob je nejdůležitější produkt metabolismu rostlin a zásobní polysacharid rostlin. V našem zeměpisném pásmu je spojován hlavně s bramborami, ale celosvětově je nejdůležitější plodinou pro výrobu škrobu kukuřice.

V rostlinách se vyskytuje jako heterogenní částice, nikoli jako rozpuštěná látka. Podle druhu plodiny má různý tvar a velikost (Obr. 8). Některé plodiny (např. pšenice) mají zrna dvou různých velikostí.

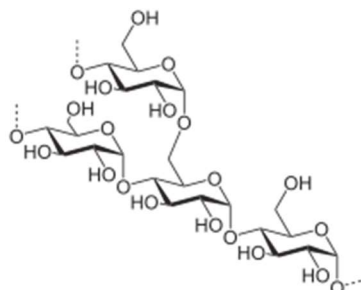


Obr. 8: Zrna různých škrobů

Chemicky je škrob poly (1,4) α -D-glukopyranosa s obecným sumárním vzorcem (C₆H₁₀O₅)_n. Je směsí makromolekul amylozy (10–20 %) a amylopektinu (80–90 %) jejichž vzájemný poměr se liší dle druhu rostliny. **Amylóza** (Obr. 9) má lineární nebo šroubovicovité uspořádání, obsahuje několik set glukózových jednotek, je rozpustná a s jódem se barví modře³. **Amylopektin** (Obr. 10) tvoří rozvětvené molekuly obsahující několik tisíc glukózových jednotek, nerozpustný sacharid obsahující další glykosidovou vazbu (1,6) α .



Obr. 9: Amylóza

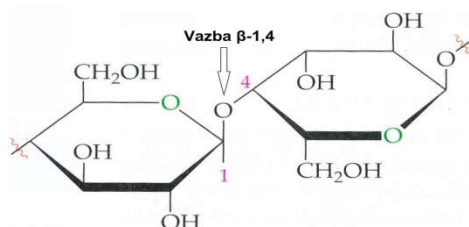


Obr. 10: Amylopektin

Škrob lze chemicky (kyselá hydrolýza) i enzymaticky (amyláza) štěpit v hlavním řetězci na oligosacharidy (např. maltóza) až monosacharidy. Štěpení chemické je obvykle kyselé katalyzované běžnými anorganickými kyselinami (HCl, H₂SO₄).

Využívá se k výrobě obalového papíru, lepenky, lepidel, sádkartonových desek, škrobení prádla. V současnosti se začíná využívat jako „bioplast“ a začínají se z něj vyrábět např. kompostovatelné obaly (sáčky, tašky)

Celulóza je nejrozšířenějším BIOPOLYMEREM na zemském povrchu. Tvoří základní stavební složku rostlin. Celulóza je tvořena molekulami β -D-glukopyranózy spojenými pomocí β -1,4 glykosidové vazby (Obr. 11) do lineární struktury s množstvím vodíkových můstků.



Obr. 11: β -D-Glukóza, β -1,4 glykosidová vazba

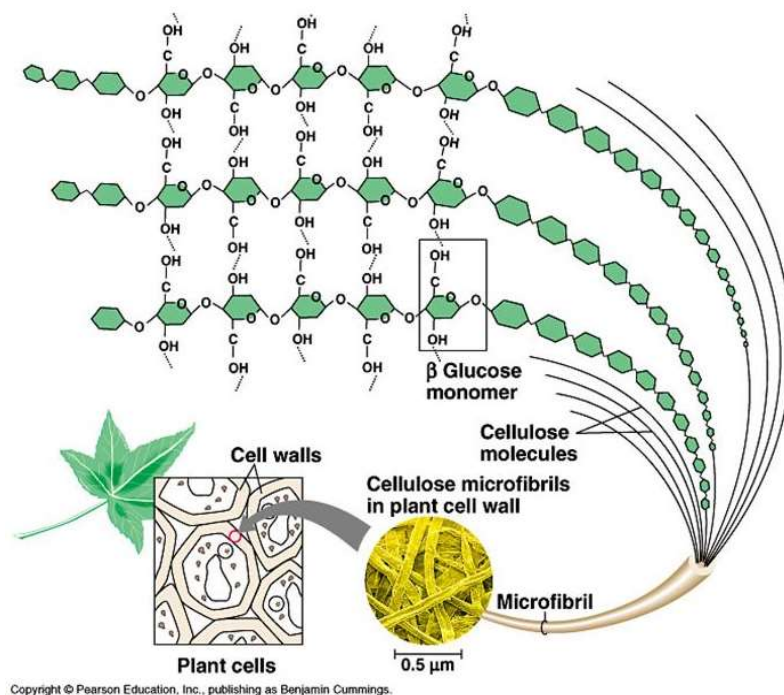
Podílí se na buněčné stavbě stěn mikroorganismů (Obr. 12). Pro živočichy je nestravitelná, ale v potravě má význam ve formě vlákniny.

Díky vláknité nadmolekulární struktuře má celulóza velkou pevnost. Celulóza je hygroskopická. Její rozpustnost je velmi omezená a často při ní dochází ke štěpení hlavního řetězce. Hlavní řetězec celulózy lze štěpit chemicky (kyselá katalýza) i enzymaticky (enzym celulóza). Rozpustnost závisí na molekulové hmotnosti celulózy.

Kratší molekuly celulózy, často substituované a větvené, se nazývají hemicelulózy. Hemicelulóza tvoří rovné, lineární řetězce obsahující pentózy i hexózy. Doprovází celulózu

³ K tomuto jevu dochází, protože velikost dutiny šroubovice amylozy odpovídá velikosti molekuly jódu I₂ se kterou tvoří barevný komplex

v jednotlivých vrstvách buněčné stěny rostlin. Tvoří tmelící vrstvu mezi celulózními řetězcovými makromolekulami, váže se na ni lignin. Ze dřeva je lze extrahovat pomocí zředěných bází a snadno hydrolyzovat zředěnými kyselinami za tepla.



Obr. 12: Stavba dřeva

Lignin je vysokomolekulární polyfenolická amorfní látka. Základní stavební jednotkou jsou deriváty fenylypropanu, které jsou vázány do trojrozměrných struktur etherovými vazbami nebo vazbami mezi dvěma uhlíky. Je kovalentně vázán na polysacharidy. Lignin zabezpečuje dřevnatění buněčných stěn. Při využití dřeva jako paliva množství ligninu určuje jeho výhřevnost.

Chemickou stavbu dřeva tvoří ze 40–50 % celulóza, 20–30 % hemicelulóza, 20–30 % lignin, 1–15 % dalších organických látek (terpeny, tuky, vosky, třísloviny, pektiny, steroly, pryskyřice), 0,1–0,5 % anorganických látek a voda. Obsah jednotlivých látek se liší v závislosti na druhu suroviny, viz Tab. 1. Celulóza a hemicelulóza patří mezi polysacharidy a bývají souhrnně označovány jako *holocelulóza*. Lignin je vysokomolekulární látka.

Tab. 1: Složení bavlny, listnatého a jehličnanového dřeva

Komponenta	Bavlna [%]	Jehličnaté dřevo [%]	Listnaté dřevo [%]
Celulosa	90-94	50-58	52-54
Pentosa	1,5-2,0	11,0	25,0
Lignin	2,0-3,0	26,0-28,0	17,0
Pektinové látky	2,0	1,0	1,5-2,0
Bílkoviny	1,5-2,0	0,5-0,8	0,5-0,8
Tuky a vosky	0,5-1,0	1,0-2,0	1,0-2,0
Popel	1,0	0,25-0,5	0,25

Celulóza se pro komerční účely izoluje ze dřeva odstraněním ostatních složek (ligninu, hemicelulózy, olejů). Celulózová vlákna se používá v papírenském a textilním průmyslu. Celulóza je hlavní složkou buničiny, z níž se vyrábí papír, a rostlinných vláken z bavlny, lnu a konopí.

Jejími deriváty jsou:

- acetáty celulózy – acetylací na C6 vzniká acetátové hedvábí; reakcí s NaOH a CS₂ vzniká xantoghenát používaný k výrobě celofánu a viskózového hedvábí
- dinitrát celulózy (koloidová vlna) – smísením nitroglycerinem vzniká třaskavá želatina, reakcí s kafrem vzniká celuloid
- trinitrát celulózy (střelná bavlna) – nitrovaná celulóza je výbušná a vysoce hořlavá, používá se k výrobě granátů, min, bezdýmých střelných prachů

Úloha č. 1: MONO-, OLIGO- A POLYSACHARIDY

A. KVALITATIVNÍ REAKCE SACHARIDŮ

Cílem kvalitativních reakcí je rozdělení sacharidů dle jejich chemického složení.

Jednotlivé reakce provádějte v návaznosti dle Schéma 1: Postup kvalitativních reakcí sacharidů

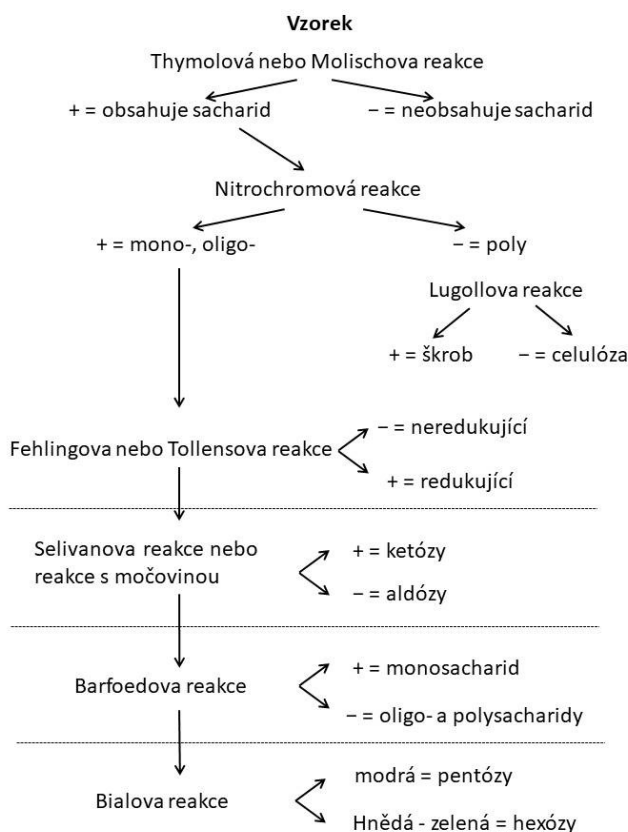


Schéma 1: Postup kvalitativních reakcí sacharidů

Pomůcky:

Zkumavky, lžičky, špachtle, pipetky, kádinky, stojan, žíhací kruh, síťka, vodní lázeň (vaříč a kádinka).

Vzorky:

Vzorky sacharidů – glukóza, fruktóza, sacharóza, laktóza, ribóza, dextrin, škrob, aj.

Závěr:

Do tabulky (Tab. 2: Tabulka výsledků kvalitativních zkoušek jednotlivých vzorků) uveďte reakci každého vzorku. Vyplněnou tabulku uveďte to protokolu s popisem vlastních pozorování.

a. Thymolová reakce – důkaz sacharidů I.

Princip:

Účinkem koncentrované HCl na monosacharidy dochází k dehydrataci a vzniku furfuralu či jeho derivátů. Furfural i jeho deriváty podléhají kondenzaci s fenoly (thymol) za vzniku barevného produktu. Sacharidy poskytují reakci s roztokem thymolu v přítomnosti HCl tmavočervené až purpurové sloučeniny

Chemikálie:

Koncentrovaná HCl, 5% (w/v) ethanolový roztok thymolu, NaCl

Pracovní postup:

1. Do několika zkumavek nasypete na špičku špachtle různých druhů pevných sacharidů a rozpustíte v destilované vodě. V případě kapalného sacharidu nalijte vzorek do zkumavky.
2. Do zkumavek se vzorky přidejte asi 5 kapek roztoku thymolu, 10 cm³ konc. HCl a několik krystalků NaCl.
3. Zkumavku umístěte do vodní lázně a mírně zahřívejte, dokud nedojde ke změně barvy.
4. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
5. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–3. určete zda vzorek obsahuje sacharid.

b. Molischova reakce – důkaz sacharidů II.

Princip:

Účinkem koncentrované HCl na monosacharidy dochází k dehydrataci a vzniku furfuralu či jeho derivátů. Furfural i jeho deriváty podléhají kondenzaci s fenoly (1-naftol) za vzniku barevného produktu. Sacharidy poskytují reakci s Molischovým činidlem fialový prstenec na rozhraní koncentrované H₂SO₄ a roztoku sacharidu.

Chemikálie:

Molischovo činidlo – 3% ethanolický roztok 1-naftolu; koncentrovaná H₂SO₄

Pracovní postup:

1. Ke 2 ml roztoku vzorku ve zkumavce přidejte 5 kapek Molischova činidla a protřepejte.
2. Podvrstvěte 2 ml konc. H₂SO₄ (kyselinu nechte opatrně stékat po stěně zkumavky)
3. Na rozhraní kyseliny a sacharidu vznikne intenzivně zbarvený (červený, červenofialový, fialový, modrý až hnědý) prstenec.
4. Zamícháním se kapalina zbarví tmavě fialově; zředěním vodou se vyloučí modrofialová sraženina rozpustná v etheru za vzniku žlutého roztoku.
5. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
6. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–4. určete zda vzorek obsahuje sacharid.

Pozn.: reakce není specifická jen pro sacharidy a ovlivňují ji např. nečistoty v 1-naftolu (zelené zbarvení) nebo přítomnost bílkovin ve vzorku (bílý pruh).

c. Nitrochromová reakce – důkaz mono- a oligosacharidů

Princip:

Reakcí koncentrované kyseliny dusičné a chromanu draselného se sacharidem dochází k oxidaci mono- a oligosacharidů. Chroman (Cr⁺⁶) se redukuje na modře zbarvené kationty

chromnaté (Cr^{+2}). Sekundární alkoholická skupina sacharidu reaguje s chromanem v kyselém prostředí za vzniku modrého zbarvení. Polysacharidy nereagují.

Chemikálie:

Konc. HNO_3 , 5% (w/v) roztok K_2CrO_4

Pracovní postup:

1. Ke 2 ml vzorku sacharidu přidejte asi 3 ml konc. HNO_3 a 5 kapek roztoku K_2CrO_4 .
2. Po chvíli (cca 2 min) pozorujte vznik modrého zbarvení
3. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
4. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–2. určete, zda neznámý vzorek obsahuje polysacharid.

Pozn.: z polysacharidů reaguje inulin a škroby, kdy po delší době dochází k hydrolýze. Hydrolýzou vzniklé mono- a oligosacharidy pak poskytují pozitivní reakci

d. Jodový test – důkaz polysacharidů (rozlišení škrobu a celulózy)

Princip:

Škrob i celulóza jsou polysacharidy složené tisíce jednotek molekuly glukózy. Škrob se skládá ze dvou různých polysacharidů (amylóza a amylopektin). Škrob reaguje s Lugolovým roztokem za vzniku modrého zbarvení, které zahřátím mizí.

Chemikálie:

Lugolův roztok – 5 g I_2 a 10 g KI v 85 ml destilované vody

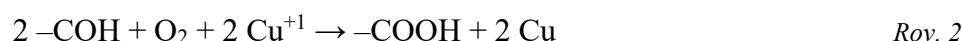
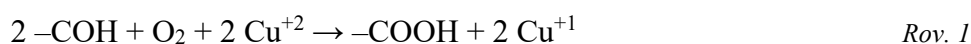
Pracovní postup:

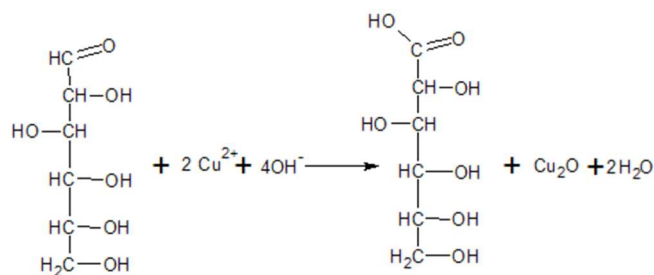
1. Ke 1 ml roztoku sacharidu přidejte asi 1 kapku Lugolova roztoku.
2. Po chvíli pozorujte vznik modrofialového až modročerného zbarvení.
3. Zkumavku zahřejte k varu dokud se směs neodbarví.
4. Po ochlazení se opět objeví modré zbarvení
5. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
6. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–2. určete, zda neznámý vzorek obsahuje škrob.

e. Fehlingova reakce – rozlišení redukujících a neredukujících sacharidů I

Princip:

Oxidačně – redukční reakce probíhá pouze u skupiny tzv. redukujících cukrů. To jsou takové cukry, které mohou mít v otevřené formě volnou, oxidace schopnou, karbonylovou skupinu. Může jít jak o monosacharidy, tak disacharidy, trisacharidy či vyšší mery sacharidů. Má-li dojít k viditelné reakci (změna barvy sloučeniny mědi z modré na žlutočervenou), musí být v roztoku dostatečná koncentrace koncových merů, které mohou mít v otevřené formě volnou, oxidace schopnou, karbonylovou skupinu. Pokud tomu tak není, jedná se o tzv. cukr neredukující. Oxidačně – redukční reakce obvykle probíhá pouze do stupně redukce Cu^{+2} (Rov. 1) na Cu^{+1} . V případě vyšší koncentrace redukujícího sacharidu může dojít k redukci až na Cu (Rov. 2).





Obr. 13: Princip Fehlingovy reakce

Chemikálie:

Fehlingovo činidlo I: 4 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ rozpustíte v destilované vodě a doplňte na 100 ml.

Fehlingovo činidlo II - 20 g $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ a 15 g NaOH rozpustíte v destilované vodě a doplňte na 100 ml.

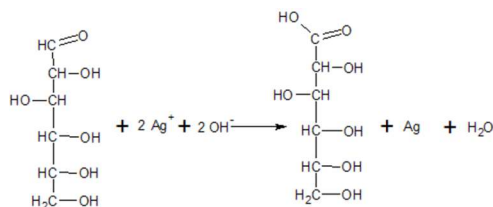
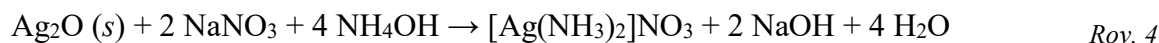
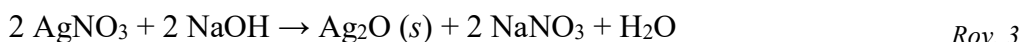
Pracovní postup:

1. Do několika zkumavek nasypete na špičku špachtle různých druhů pevných sacharidů a rozpustíte v destilované vodě. V případě kapalného sacharidu nalijte vzorek do zkumavky.
2. Do zkumavek se vzorky přidejte 1 ml roztoku Fehling I a 1 ml roztoku Fehling II.
3. Zkumavku umístěte do vodní lázně a zahřívejte, dokud nedojde ke změně barvy.
4. **Připravte slepý vzorek** – místo sacharidu nalijte pouze destilovanou vodu.
5. **Určete neznámý vzorek** – podle bodu 1.–3. určete neznámý vzorek (redukující x neredukující)

f. Tollensova zkouška – rozlišení redukujících a neredukujících sacharidů II

Princip:

Tollensovo činidlo (dusičnan diamminstříbrný $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{NO}_3$) vzniká reakcí dusičnanu stříbrného a koncentrovaného roztoku hydroxidu amonného za vzniku amonného komplexu (Rov. 3 a Rov. 4). Reakcí Tollensova činidla s aldehydickou skupinou sacharidů vzniká amonná sůl karboxylové kyseliny a redukované stříbro (Rov. 5). Pozitivní reakce činidla s redukujícím cukrem se projeví vznikem tzv. stříbrného zrcátka na stěnách zkumavky.



Obr. 14: Princip Tollensovy reakce

Chemikálie:

5% roztok AgNO_3 v H_2O , 10% NaOH v H_2O , koncentrovaný NH_4OH , H_2O

Pracovní postup:

1. Tollensovo činidlo připravte smísením stejného objemu roztoku AgNO_3 a NaOH (Rov. 3). Následně do zkumavky přidejte koncentrovaný NH_4OH , přičemž se hnědá sraženina Ag_2O

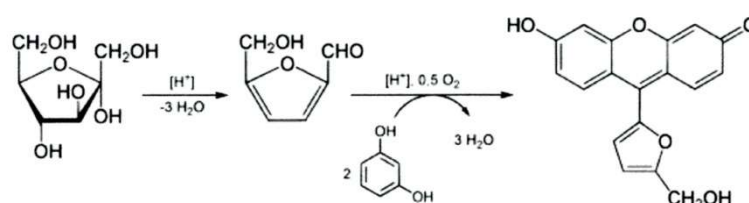
rozpustí (Rov. 4). **Delším stáním ve směsi může vznikat velmi výbušné Bertholetovo třaskavé stříbro Ag_3N !**

2. Do několika zkumavek připravte vzorky sacharidů ve formě vodného roztoku.
3. Ke vzorkům sacharidů ve zkumavkách přikápněte Tollensovo činidlo.
4. Za přítomnosti redukujícího cukru dojde dle Rov. 5 ke vzniku stříbrného zrcátka.
5. **Porovnejte se slepým vzorkem.** Místo vzorku sacharidů nadávkujte pouze vodu.
6. **Určete neznámý vzorek**

g. Selivanova reakce – roližení aldóz a ketóz I.

Princip:

Podstatou reakce je dehydratace sacharidů koncentrovanými kyselinami na 5-(hydroxymethyl)fural, který následně reaguje s resorcinolem za vývoje třešňově červeného produktu (Obr. 5).



Obrázek 1: Princip Selivanovy reakce

Cílem reakce je rozlišení ketos (např. fruktóza) a aldós (např. glukosa). Ketosy reagují rychleji než aldósy. Aldósy poskytují pouze slabě růžové zbarvení kvůli pomalejší dehydrataci, kdy nejprve dochází k izomerizaci aldósy na ketosy. Reakce aldós je asi 20× pomalejší.

Pozitivní výsledek poskytuje fruktóza a sacharóza zatímco glukóza nereaguje.

Chemikálie:

Selivanovo činidlo: 0,05 g resorcinolu se rozpustí ve směsi 50 cm³ HCl a 50 cm³ H₂O

Pracovní postup:

1. Ke vzorkům sacharidů ve formě roztoku (cca 1 cm³) přidejte cca 2 cm³ Selivanova činidla.
2. Sledujte změnu zbarvení
3. **Porovnejte se slepým vzorkem**
4. **Určete neznámý vzorek**

h. Reakce s močovinou – odlišení aldóz a ketóz II.

Chemikálie:

Močovina, konc. HCl

Pracovní postup:

1. Do zkumavky odvažte asi 0,5 g močoviny a přidejte 6 kapek HCl.
2. Ke směsi přidejte 3 kapky roztoku sacharidu.
3. Reakční směs promíchejte, aby se močovina rozpustila
4. Zkumavku zahřívejte 15 min na vodní lázni.

5. Sledujte změnu zbarvení – aldózy reagují vývojem zelenomodrého zbarvení, ketózy se barví červeně.
6. **Porovnejte se slepým vzorkem**
7. **Určete neznámý vzorek**

i. Barfoedova reakce – důkaz monosacharidů

Princip:

Roztoky sacharidů reagují s barefoedovým činidlem červenohnědou sraženinu

Octan měďnatý se v kyselém prostředí redukuje na oxid měďný (červená sraženina) a zároveň dochází k oxidaci monosacharidů na příslušné aldonové kyseliny (např.: glukosa – k. glukonová). Aldehydová skupina se oxiduje na karboxylovou skupinu, zatímco skupina $-\text{CH}_2\text{OH}$ zůstává zachována. Přednostně se redukují monosacharidy. Všechny monosacharidy mají redukční účinky, protože mají volnou aldehydovou skupinu (aldosy), nebo je možná izomerizace ketoskupiny na aldoskupinu (ketosy)), až po delší době reagují redukující disacharidy.

Reakce sacharidů s Barfoedovým činidlem je podobně jako reakce sacharidů s Fehlingovým činidlem založena na redukci Cu^{2+} na Cu_2O (oranžová či červená sraženina). Redukce Cu^{2+} v Barfoedově testu probíhá v kyselém prostředí (kyselina octová), na rozdíl nebo Fehlingova testu, kdy Cu^{2+} se redukuje v zásaditém prostředí hydroxidu sodného

Chemikálie:

Barfoedovo činidlo: 7 g octanu měďnatého $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ a 0,9 ml konc. Kyseliny octové CH_3COOH se doplní po 100 ml destilovanou vodou.

Pracovní postup:

1. Ke 2 ml roztoku sacharidu přidejte 2 ml Barfoedova činidla.
2. Zkumavku ponořte do vodní lázně.
3. Sledujte změnu zbarvení – monosacharidy reagují vznikem červené sraženiny, ostatní roztoky jsou modré.
4. **Porovnejte se slepým vzorkem**
5. **Určete neznámý vzorek**

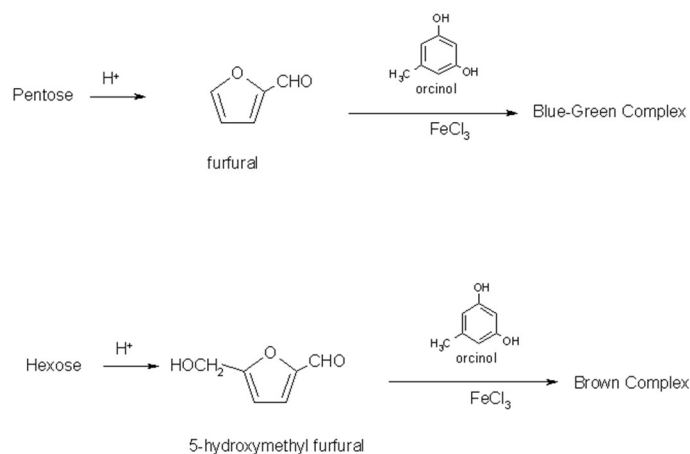
Pozn.: reakce je specifická na důkaz redukujících monosacharidů, redukující disacharidy vzhledem k slabě kyselé povaze Barfoedova činidla pozitivní reakci neposkytují vůbec nebo až po delší době.

j. Bialova reakce – důkaz pentóz a hexóz

Princip:

Bialova reakce odlišuje pentózy a hexózy. Dehydratací **pentózy** (5-uhlíkový sacharid) vzniká furfural, který reaguje s Bialovým činidlem za vzniku modrého kondenzačního produktu.

Dehydratací **hexózy** (6-uhlíkový sacharid) vzniká 5-hydroxymethylfurfural reaguje s Bialovým činidlem za vzniku hnědého, červenohnědého nebo zeleného kondenzačního produktu.



Obr. 15: Princip Bialovy reakce

Chemikálie:

Bialovo činidlo: 6,25 mg FeCl_3 + 0,75 g orcinol (5-methylbenzen-1,3-diol $\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_3(\text{OH})_2$ + 250 ml konc. HCl

Pracovní postup:

1. K 1 ml Bialova činidla přidejte 5–6 kapek roztoku sacharidu.
2. Zkumavku zahřejte k varu.
3. Sledujte změnu zbarvení (2–3 min) **Porovnejte se slepým vzorkem**
4. **Určete neznámý vzorek**

Pozn.: reakce je specifická na důkaz redukujících monosacharidů, redukující disacharidy vzhledem k slabě kyselé povaze Barfoedova činidla pozitivní reakci neposkytují vůbec nebo až po delší době.

Tab. 2: Tabulka výsledků kvalitativních zkoušek jednotlivých vzorků

Vzorek/ Činidlo	Dextrin	Fruktóza	Glukóza	Laktóza	Ribóza	Sacharóza	Škrob	Slepý vz.	Neznámý vz.
Rozpustnost									
Thymol									
Molisch									
Nitrochrom									
Lugol									
Fehling									
Tollens									
Selivan									
Urea									
Bafoed									
Bial									

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 „Sriptyzky“, 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 zváženým 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 (přepočítejte 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.

Vzorek	Navážka vzorku m_0 v g	Obsah škrobu ve vzorku m_1 v g	Celkový obsah škrobu v g	Celkový obsah škrobu v %

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/amyulózy/amylopektinu ve vzorku:

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

Vypočet obsahu amyulózy a amylopektinu:

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

Závěr:

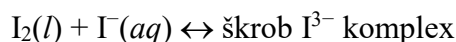
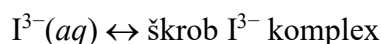
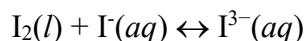
Jako výsledek uveďte procentuální výtěžek získaného škrobu z 200g bramborových hlíz, uveďte procentuální obsah amyulózy a amylopektinu ve vzorku a jejich vzájemné zastoupení.

	škrob	amylóza	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 sklíčko, 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 sklíčko.
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 α -amylózy, která vytváří šroubovici na kterou se váže Lugolův roztok (modrofialové zbarvení). V případě, že k roztoku škrobu přidáme sliny, které obsahují α -amylasy, dojde ke štěpení α -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 probíhajícím štěpení svědčí změna barvy produktu poskytovaného škrobems 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 cm³ 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 orazňového 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

Úloha č. 3: DŘEVO A POLYSACHARID CELULOSA

A. STANOVENÍ ROZPUSTNOSTI CELULOS V HYDROXIDU SODNÉM

Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml (2x), Petriho miska (2x), odměrný válec 100 ml, nálevka (3x), vaříč, teploměr s rozsahem do 100°C, pH papírky,

Zkušební vzorek:

celulosa (bavlněný plášť, sisalový, jutový či konopný provaz, papírovina...)

Chemikálie:

1% vodný roztok NaOH, 10% vodný roztok CH₃COOH,

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách navažte 2,0 g celulosy a přendejte do Erlenmayerovy baňky.
2. Do baňky přidejte 100 ml 1% NaOH zahřátého na 60 °C a promíchejte.
3. Na baňku nasadíte nálevku a zahřívejte na vroucí vodní lázni v digestoři cca 1 h. Pravidelně obsah baňky v desetiminutových intervalech promíchejte.
4. Obsah baňky zfiltrujte na Büchnerově nálevce přes předem zvážený filtrační papír.
5. Baňku promyjte 60 ml horké vody a vylijte na filtr.
6. Filtrační koláč promyjte 50 ml 10% CH₃COOH a následně horkou vodou až do neutrální reakce filtrátu. Pomocí pH papírku ověřte pH filtrátu.
7. Filtrační koláč vyjměte z Büchnerovy nálevky, vložte do předem zvážené Petriho misky s víčkem a sušte nejméně 90 min do konstantní hmotnosti v sušárně vyhráté na 103 °C ± 2 °C.

Vyhodnocení a závěr:

1. Vypočítejte obsah (v %) nerozpustné celulózy ve vzorku dle vzorce:

$$w_{cel} = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100$$

kde w = obsah celulosy v %; m_0 = hmotnost celulosy v g; m_1 = hmotnost rozpuštěné celulosy v g.

2. Vypočítejte obsah nerozpustné celulózy přepočtený na absolutně suchou celulózu ze vzorce:

obsah suché nerozpustné celulosy = obsah nerozpustné celulosy · f

$$f = \frac{100}{100 - \text{vlhkost celulosy} (\%)}$$

Obsah rozpustné celulózy vtažený na absolutně suchou celulózu lze pak stanovit přepočtem:

$$C_{rozp} (s) = 100 - C_{nerozp} (s)$$

Jako výsledek uveďte obsah rozpustné a nerozpustné celulózy. Vzájemně porovnejte několik vzorků (filtrační papír, vatu, tampóny, patronu, plášť apod.)

B. STANOVENÍ VLHKOSTI DŘEVA

Pomůcky:

sušárna, analytické váhy, exsikátor, kádinky, Petriho misky (2x), lžička

Zkušební vzorek:

dřevěné piliny

Postup práce:

1. Na analytických vahách zvažte suchou kádinku. Navažte do ní cca 1 g pilin.
2. Kádinku přikryjte Petriho miskou a dejte vysušit do sušárny při 105 °C po dobu 2h.
3. Kádinku i s víčkem nechte v exsikátoru vychladnout a kádinku s obsahem zvažte (na analytických vahách).
4. Tento postup dále opakujte v intervalu po 1h, dokud se nebude hmotnost vzorku pohybovat v rozmezí 0,2 mg.

Vyhodnocení a závěr:

Vlhkost ve vzorku dřeva vypočítejte ze vzorce:

$$v = \frac{B - C}{B - A} \cdot 100$$

kde v = vlhkost dřeva v %, A = hmotnost prázdné kádinky v g, B = hmotnost kádinky se vzorkem před vysušením v g, C = hmotnost kádinky se vzorkem po vysušení v g

Obsah vlhkosti dřeva vyjádřete aritmetickým průměrem ze dvou souběžných stanovení.

C. PŘÍPRAVA NITRÁTU CELULOSY

Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml,

Zkušební vzorky:

Vata, celuloza

Chemikálie:

HNO₃, H₂SO₄, ethanol, kafr, aceton

Pracovní postup:

1. V Erlenmayerově baňce v digestoři opatrně připravte nitrační směs smícháním 12 ml HNO₃ s 20 ml H₂SO₄.
2. Nitrační směs ochlaďte v ledové vodní lázni na teplotu 20 °C.
3. Asi 1 g vaty (celulózy) vhod'te do nitrační směsi, baňku uzavřete plastovou zátkou a asi 5 minut promíchejte.
4. Vatu opatrně vyjměte z nitrační směsi do kádinky s vodou, kde ji pořádně properte (vodu alespoň 2x vyměňte).
5. Vypranou nitrovanou vatu vysušte mezi filtračními papíry a dosušte v mírně zapnuté sušárně (případně ponechte vyschnout do dalšího cvičení).
6. Nitrovanou celulózu rozdělte na 4 části.
7. Porovnejte rozpustnost nitrocelulózy a celulózy v acetonu.
8. Porovnejte rozpustnost nitrocelulózy a celulózy v ethanolu.
9. Odeberte 0,5 g nitrocelulózy. Ve zkumavce rozpust'te 0,1 g kafru v 8 ml acetonu. Do připraveného roztoku vhod'te 0,5 g nitrocelulózy ovlhčeného ethanolu. Zkumavku uzavřete a důkladně promíchejte.
10. Viskózní roztok nalijte na Petriho misku, uložte do digestoře a nechte do dalšího cvičení vyschnout. Na Petriho misce vznikne průsvitný film z celuloidu.
11. Čtvrtý (zbylý) kousek vaty jen opatrně položte na žíhací síťku (odvážní na rozevřenou dlaň) a zapalte.

Závěr:

Porovnejte rozpustnost celulózy a nitrocelulózy, zapište proces nitrace celulózy chemickou rovnicí (včetně přípravy nitrační směsi).

D. SIMULACE VÝROBY PERGAMENOVÉHO PAPÍRU

Pomůcky:

kádinky 600 ml (2x), pinzeta, filtrační papír

Chemikálie:

96% H₂SO₄, NH₃

Pracovní postup:

1. Ve skleněné vaně (velké kádince) opatrně smíchejte 30 ml 96% H₂SO₄ s 15 ml ledové destilované vody. Roztok chlaďte v ledové lázni na cca 5 °C.
2. Z filtračního papíru vystříhnete několik stejně velkých dílů.
3. První díl papíru ponořte pomocí pinzety do chladného roztoku H₂SO₄ a ihned po vyjmutí jej vložte do kádinky s destilovanou vodou s 10 kapkami NH₃.
4. Papír nechte alespoň 5 min propírat a poté nechte usušit na hladkém povrchu.
5. Postup 3. a 4. opakujte – vzorek papíru nechte v kyselině různě dlouho

Závěr:

Srovnajte vlastnosti papíru ponořeného a neponořeného do H₂SO₄ (mechanickou pevnost, pružnost, smáčivost).

E. STANOVENÍ VLHKOSTI CELULOSY

Pomůcky:

sušárna, analytické váhy, exsikátor, váženka (2x), lžička

Zkušební vzorek:

celulóza (bavlna sepraná, sisalový, jutový či konopný provaz ...)

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách zvažte prázdnou váženku a váženku s asi 1 g celulózy.
2. Váženku s celulózou vložte do vyšší kádinky a kádinku umístěte do sušárny vyhřáté na teplotu 103 °C po dobu nejméně 2 hodin.
3. Váženku vyjměte ze sušárny a vložte do exsikátoru, kde ji ponechte vychladnout na laboratorní teplotu.
4. Váženku se vzorkem zvažte na analytických vahách a opět umístěte do kádinky v sušárně.
5. Celý postup od bodu 2 opakujte do doby, než bude mít vysušený vzorek konstantní hmotnost v rozmezí 0,2 mg.

Vyhodnocení a závěr:

Vlhkost celulózy se vypočte podle vzorce:

$$v = \frac{B - C}{B - A} \cdot 100$$

kde v = vlhkost celulózy v %

A = hmotnost prázdné váženky v g,

B = hmotnost váženky se vzorkem celulózy před vysušením v g

C = hmotnost váženky se vzorkem celulózy po vysušení v g

Obsah vlhkosti celulózy vyjádřete aritmetickým průměrem ze dvou souběžných stanovení.

F. STANOVENÍ LIGNINU VE DŘEVĚ (metoda podle Komarova)

Pomůcky:

váženka, odměrný válec 25 ml a 250 ml, frity (2x), varná baňka 500 ml (2x), topné hnízdo 500 (2x), zpětný chladič (2x), vaříč, hodinové sklo

Zkušební vzorek:

dřevěné piliny vysušené při 105 °C (z předešlé úlohy)

Chemikálie:

72% vodný roztok H₂SO₄,

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách navažte 1 g suchých dřevěných pilin a kvantitativně převedte do kádinky
2. Přidejte 15 ml 72% H₂SO₄, přikryjte hodinovým sklem a na 2 hodiny umístěte na vodní lázeň vytemperovanou na 25 °C.
3. Vzorek pravidelně promíchejte tyčinkou
4. Poté směs opatrně přelijte do 500 ml varné baňky se 150 ml vody a vařte pod zpětným chladičem 1 hodinu.
5. Lignin ve formě tmavohnědého prášku nechte usadit na dně baňky a filtrujte přes předem zváženou fritu. Filtrační koláč promyjte 50 ml horké vody.
6. Fritu s izolovaným ligninem sušte v sušárně při teplotě 105 °C do konstantní hmotnosti

Výpočet:

Obsah ligninu ve dřevě lze stanovit dle vzorce:

$$L = \frac{m_L}{m} \cdot 100$$

kde L = obsah ligninu ve dřevě v %,

m_L = hmotnost ligninu na filtračním kelímku v g,

m = navážka vzorku dřevěných pilin v g.

Závěr:

Uveďte vypočtený obsah ligninu ve vzorku. Na základě tabulky v teoretické části odhadněte, zda piliny pocházely z listnatého či jehličnatého stromu.

G. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Klaudivy)

Princip:



Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 100 ml (4x), odměrný válec 5 ml, 10 ml (2x), 50 ml, 100 ml, lžička, odměrná baňka 100 ml (4x), pipeta 5 ml, 20 ml, fritka S1 (2x), vaříč, nálevka střední (2x).

Chemikálie:

96% H_2SO_4 p.a., 17,5% vodný roztok NaOH, 0,2 M vodný roztok $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 5% vodný roztok KI, 1 M vodný roztok $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ – **pozor toxická látka!!**

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách navažte 3,0 g celulosy.
2. Celulosu přeneste do 75 ml Erlenmayerovy baňky
3. Přidejte 40 ml 17,5% NaOH o teplotě $20 \pm 0,2$ °C
4. Intenzivně třepajte v ruce až se obsah baňky rozvlákne a zhomogenizuje (cca 10 minut).
5. Nechte stát 15 minut při teplotě 20 °C, poté řádně ručně protřepete (cca 1 minutu) a nechte stát dalších 15 minut při teplotě 20 °C. Důkladně promíchejte lžičkou (1 minutu) a filtrujeme přes filtrační kelímek za odsávání.
6. Filtrační koláč promyjte 50 ml vody o teplotě 20 °C.
7. Filtrační roztok s promývací vodou nalijte do odměrné baňky (100 ml) a doplňte destilovanou vodou.
8. Odpipetujte 1 ml filtrátu do 50 ml Erlenmayerovy baňky, přidejte 2 ml 1 M $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ a 2 ml H_2SO_4 .
9. Povařte 1 minutu (varný kamínek!).
10. Erlenmayerovu baňku ochlaďte pod tekoucí vodou.
11. Obsah baňky přelijte do 25 ml odměrné baňky, doplňte destilovanou vodou po rysku, promíchejte.
12. Do titrační baňky napipetujte 25 ml roztoku, přidejte 100 ml vody a 10 ml 5% KI. Ve tmě nechte stát 5 min.
13. Titrujte 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ do žlutého zbarvení roztoku, poté přidejte 5 ml škrobového mazu a dotitrujte do modrého (až černého) zbarvení.

Vyhodnocení:

Obsah α -celulosy ($\alpha C_{\text{Klaudivy}}$) v % se vypočte ze vztahu:

$$\alpha C_{\text{Klaudivy}} = 100 - RS$$

RS je zjištěné procento rozpuštěné celulózy.

$$RS = \frac{V_1 \cdot 0,000675 \cdot N}{n_2} \cdot z \cdot 100$$

kde je V_1 = spotřeba 0,1 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ při titraci v ml, n_2 = navážka celulózy na stanovení v g, z = zředění (100), M = molarita roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,000675... přepočítávací faktor na celulózu

Závěr:

Obsah α -celulosy vyjádřete jako aritmetický průměr ze tří titrací.

H. STANOVENÍ PODÍLU HOLOCELULOSY VE DŘEVĚ (metoda podle Wise)

Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml (2x), nálevka, vodní lázeň, magnetická míchačka (2x), váženka (2x), vodní lázeň, odměrný válec 25, 50, 250 ml, vařič, Petriho miska (2x),

Zkušební materiál:

Dřevěné piliny

Chemikálie:

ledová CH_3COOH , NaClO_4

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách navažte 1,5 g dřevěných pilin a kvantitativně přeneste do Erlenmayerovy baňky
2. K pilinám přidejte magnetické míchadlo, 160 ml vroucí vody, 2,5 ml ledové kyseliny octové a 2,5 g NaClO_4
3. Baňku vložte do vroucí vodní lázně (kotlík) a za stálého míchání zahřívejte 40 minut.
4. Po 40 min znovu přidejte 2,5 ml ledové CH_3COOH a 2,5 g NaClO_4 a zahřívejte dalších 40 min
5. Po dalších 40 min. ještě jednou přidejte 2,5 ml ledové kyseliny octové a 2,5 g NaClO_4 a zahřívejte dalších 40 min
6. Po ukončení delignifikace baňku ochlaďte proudem tekoucí studené vody
7. Směs filtrujte přes předem zvážený filtrační papír (analytické váhy) na Büchnerově nálevce.
8. Filtrační koláč promyjte 2x 50 ml studené vody a pak 20 ml acetonu
9. Filtrační koláč izolované holocelulózy sušte na Petriho misce v sušárně vyhřáté na 105 °C do konstantní hmotnosti.

Vyhodnocení a závěr:

Stanovte obsah holocelulózy ve dřevě dle vztahu:

$$H = \frac{V}{n} \cdot 100$$

$$H_s = H \cdot f (\%)$$

$$f = \frac{100}{100 - v}$$

kde je H = obsah holocelulózy ve dřevě v %

H_s = obsah holocelulózy ve dřevě v % přepočtený na sušinu dřeva

V = hmotnost vláknitého materiálu (holocelulózy) na filtračním kelímku v g

n = navážka vzorku dřeva v g

f = přepočítávací faktor na sušinu

v = vlhkost dřeva v %

Jako výsledek uveďte obsah holocelulózy ve dřevě a v sušině dřeva.

I. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Tappiho)

Pomůcky:

kádinka 250 ml (2x), odměrný válec 10 ml, 50 ml (2x), hodinové sklíčko, filtrační kelímek S1 (2x), kádinka 400 ml, nálevka střední (2x),

Zkušební vzorek:

Celulosa čistá, filtrační papír

Chemikálie:

10% vodný roztok CH_3COOH , 17,5% vodný roztok NaOH ,

Pracovní postup:

1. Do 250 ml kádinky navažte na analytických vahách cca 3 g celulózy.
2. K celulóze přilijte 35 ml 17,5% NaOH o teplotě $20 \pm 0,2$ °C a nechte 3 minuty stát
3. Poté za pomoci skleněné tyčinky 3 minuty míchejte a rozvláknějte.
4. Po 3 minutách přilijte dalších 10 ml 17,5% NaOH a rozvláknějte 2,5 minuty.
5. Opět přidejte 10 ml 17,5% NaOH a rozvláknějte 3 minuty.
6. Dále přilijte 10 ml 17,5 % NaOH a rozvláknějeme již jen 1 minutu.
7. Kádinku přikryjte hodinovým sklíčkem a nechte stát 25 minut.
8. Přidejte 25 ml vody o teplotě 20 °C a dobře promíchejte lžičkou (cca 1 minutu)
9. Rozvlákněnou celulózu filtrujte přes předem zváženou a vysušenou fritu.
10. Filtrační zbytek promyjte 300 ml vody o teplotě $20 \pm 0,2$ °C za stálého odsávání.
11. Odsávání přerušte a na filtrační zbytek nalijte 40 ml 10% CH_3COOH o teplotě $20 \pm 0,2$ °C a nechte 5 minut reagovat.
12. Kyselinu odsajte a zbytek na fritě opět promyjte 300 ml vody o teplotě 20 °C.
13. Kelímek se zbytkem sušte v sušárně při teplotě 103 ± 2 °C do konstantní hmotnosti.
14. Po vychladnutí v exsikátoru zvažte.

Vyhodnocení a závěr:

Stanovte obsah α -celulózy (αC_{TAPPI}) v [%] dle vzorce:

$$\alpha C_{TAPPI} = \frac{m_1}{n_1} \cdot 100$$

kde je m_1 = hmotnost α celulózy po vysušení v g, n_1 = navážka celulózy na stanovení v g.

Závěr:

Obsah α -celulosy vyjádřete jako aritmetický průměr ze tří měření.

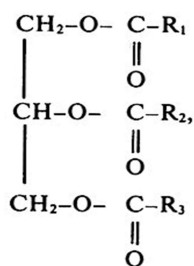
TUKY, OLEJE, VOSKY

Kapitola „Tuky, oleje a vosky“ je do cvičení zařazena proto, že tyto materiály hrají významnou úlohu v oblasti chemie restaurování a konzervování, podléhají vlivu kyslíku, teploty a UV záření, což katalyzuje polymerační proces, tzv. vysychání.

Tuky (lipidy) jsou estery vyšších mastných karboxylových kyselin a trojsytného alkoholu (glycerolu). Nejčastějšími mastnými kyselinami v molekule tuku jsou kyselina olejová, linolová, palmitová, stearová a myristová. Podle skupenství rozlišujeme pevné **tuky**, u nichž převažují zejména nasycené mastné kyseliny, a **oleje**, jejichž skupenství je kapalné a které obsahují větší množství nenasyčených mastných kyselin. Dalším základním dělením je dělení na tuky rostlinné a tuky živočišné. Vlivem vlhkosti a katalytické reakce (enzym lipáza) dochází k zmýdelňování tuků. Oxidací vícenásobně nenasyčených mastných kyselin a jejich následnou polymerací dochází ke vzniku tvrdého filmu, tzv. vysychání olejů. Dvojně vazby nenasyčených mastných kyselin mohou podléhat hydrogenační reakci, tzv. ztužování.

Jako **oleje** bývají označovány kapalné tuky. Oleje se nerozpouštějí ve vodě a mají menší hustotu než voda. Potravinářské, jedlé oleje jsou rostlinné kapalné triacylglyceroly. Mohou mít jednu nebo více nenasyčených vazeb. Čím více je v řetězci násobných vazeb, tím je olej tekutější. Technické oleje jsou nejčastěji založeny na použití minerálních olejů, tedy směsí uhlovodíků z ropy či silikonových olejů.

Vosky jsou estery vyšších mastných kyselin, nejčastěji kyseliny palmitová, stearová, laurová a myristová, a vyšších jednosytných alkoholů. Přirozeně se vyskytují v přírodě jak u rostlin, tak u živočichů. Vosky jsou odolné vůči hydrolýze a nepodléhají enzymatickému rozkladu. Vosky přírodního původu kromě výše zmíněných látek obsahují spoustu příměsí dalších látek (volné karboxylové kyseliny, alkoholy, steroly atd.). Vosky jsou tuhé, ve vodě nerozpustné látky odolné vůči oxidaci a hydrolýze. Mezi nejznámější vosky patří včelí vosk, lanolín, vorvaňovina, karnaubský vosk atd.



Obrázek 2: Obecný vzorec olejů a tuků

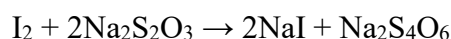
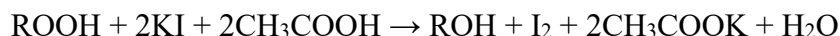
Úloha č. 4: TUKOVÉ CHARAKTERISTIKY

A. PEROXIDOVÉ ČÍSLO

Vlivem oxidace (žluknutí) dochází ke vzniku hydroperoxidů. Peroxidové číslo je ukazatelem obsahu primárních produktů oxidace tuků. Slouží k posouzení stupně žluknutí tuků, které je způsobeno autooxidací tuků vzdušným O₂. Hodnota poskytuje informaci o počáteční fázi žluknutí ještě před sensorickými změnami způsobenými sekundárními produkty.

Princip:

Principem je titrační stanovení I₂, vyloučeného při oxidaci I⁻ přítomnými peroxidy odměrným roztokem thiosíranu sodného.



Vyjadřuje se v µg aktivního kyslíku na 1 g tuku.

Přístroje a pomůcky:

250 ml Erlenmayerova baňka (4×),

Chemikálie a roztoky:

Chloroform, CH₃COOH, čerstvě připravený 10% vodný roztok KI, indikátor škrobový maz, 0,01 mol·l⁻¹ Na₂S₂O₃

Použitý vzorek:

máslo, margarín, pokrmový tuk, sádlo, olej...

Pracovní postup:

Stanovení se provede 3 × u stejného vzorku.

1. Příprava organického rozpouštědla – do uzavíratelné baňky připravte 100 ml směsi chloroform:CH₃COOH v poměru 2:3
2. Do Erlenmayerovy baňky navažte 2 g vzorku s přesností 0,01 g.
3. Přilejte 25 ml směsi chloroform – CH₃COOH.
4. Kapalné vzorky pouze promíchejte, pevné vzorky mírně zahřívejte na vařiči, až dojde k rozpuštění vzorku.
5. Přidejte 5 ml roztoku KI, baňku zazátkujte, mírně promíchejte a uložte na tmavé místo na 20 minut.
6. Přidejte 50 ml destilované vody a promíchejte.
7. Přidejte 5 ml škrobového mazu a promíchejte.
8. Obsah baňky titrujte odměrným roztokem 0,01 mol·l⁻¹ Na₂S₂O₃ do odbarvení vrchní (vodné) vrstvy (čirá). Spodní vrstva by měla být pouze nažloutlá.
9. Pokud je spodní vrstva fialová, baňka se uzavře a v tukové vrstvě přítomný jód se protřepáním uvolní do vodné vrstvy. Tato vrstva se poté ještě podle potřeby titruje do trvalého odbarvení.
10. **Slepý pokus:** Proveďte stejným způsobem jako stanovení vzorku s tím, že se vynechá zkušební vzorek. Směs se nezahřívá, po přidání KI se pouze uloží do tmy. Titrujte do úplného odbarvení

Vyhodnocení:

Peroxidové číslo (Č_P) vyjádřené v µg kyslíku na 1 g tuku se vypočte podle vztahu:

$$\check{C}_P = 1000 \cdot \frac{c_{Na_2S_2O_3} \cdot (V_{Na_2S_2O_3} - V_0)}{m_v} \left[\mu g \left(\frac{1}{2} ROOH \right) \right]$$

kde je $c_{Na_2S_2O_3}$ = koncentrace odměrného roztoku $Na_2S_2O_3$ v $mol.l^{-1}$ s

$V_{Na_2S_2O_3}$ = spotřeba odměrného roztoku $Na_2S_2O_3$ na vlastní stanovení v ml,

V_0 = spotřeba odm. roztoku $Na_2S_2O_3$ na slepý pokus v ml,

m_v = navážka zkušební vzorku v g.

Závěr:

Peroxidové číslo se vyjádří aritmetickým průměrem ze tří souběžných stanovení.

Do protokolu uveďte také popis použitého vzorku na stanovení.

Poznámka:

Maximální přípustná hodnota \check{C}_P tuku je $10 \mu mol (1/2 ROOH)/g$; tuk vysoké jakosti < 2 ; zcela čerstvý tuk $< 0,5$.

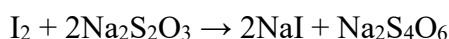
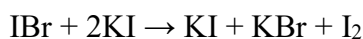
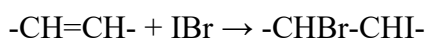
B. JODOVÉ ČÍSLO – Hanušova metoda

Jodové číslo je měřítkem nenasyčenosti tuku (oleje), tedy obsahu dvojných vazeb. Určuje procentuální zastoupení nenasyčených mastných kyselin. Je definováno jako množství halogenu přepočítaného na jod, které se váže na vzorek. Slouží k posouzení čistoty tuku, k identifikaci známých tuků a k posouzení použitelnosti tuku pro různé účely. Metoda je vhodná ke stanovení nenasyčených běžných tuků. Není vhodná ke stanovení nenasyčenosti oxidovaných a polymerovaných tuků. Tuky s vyšší hodnotou jodového čísla jsou tekutější. Jodové číslo je také ukazatelem žluknutí. Čím je nižší hodnota \check{C}_J , tím je tuk čerstvější.

<i>Tuk</i>	\check{C}_J %	<i>Tuk</i>	\check{C}_J %
Máslo	26–40	Slunečnicový olej	127–136
Lůj	40–48	Lněný olej	170–204
Sádlo	53–77	Olivový olej	75–94
Ricinový olej	81–90	Kokosový olej	6,3–10,6
Podzemnicový olej	84–100	Olejová kys.	89,9
Řepkový olej	94–106	Linolová kys.	181,0
Sójový olej	114–138	Linolenová kys.	273,5

Princip:

Halogeny se adují na dvojně vazby nenasyčených mastných kyselin. Reakce probíhá v chloroformu, který působí jako tukové rozpouštědlo, a v CH_3COOH , která dodává prostředí nezbytnou polaritu. Po reakci halogenů s tukem, se přidáním KI nezreagovaný BrI převede na I_2 . Nespotřebované množství halogenidu se stanovuje titrací $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ za použití škrobového mazu.



Udává se jako množství halogenu vyjádřeného jako hmotnost I_2 v g, které se může adovat na 100 g tuku

Přístroje a pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml se zátkou (4×)

Chemikálie a roztoky:

Chloroform, zásobní roztoky: $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ jódmonobromidu IBr (Hanušovo činidlo), 10 % roztok KI, indikátor škrobový maz, $0,1 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Vzorek:

máslo, margarín, pokrmový tuk, sádlo, olej,...

Pracovní postup:

Stanovení proved'te 3 × u stejného vzorku.

1. Do Erlenmayerovy baňky navažte g 1 g zkušební vzorku s přesností na 0,01.
2. Přidejte 10–15 ml chloroformu a nechte rozpustit. Rozpouštění pevného vzorku lze urychlit mírným zahřátím.
3. Přidejte 25 ml Hanušova činidla (IBr), baňku uzavřete, obsahem promíchejte a baňku uložte do tmy na 30–60 minut.
4. Opláchněte zátku do baňky.

5. Přidejte 20 ml 10% KI a 100 ml destilované vody.
6. Obsah baňky titrujte za stálého míchání 0,1 mol·l⁻¹ odměrným roztokem Na₂S₂O₃ do oranžového (oranžovo-žlutého) zbarvení.
7. Přidáme 3 ml škrobového mazu a titrujte až do odbarvení vodné fáze.
8. Je-li spodní chloroformová fáze fialová, protřepte a dotitrujte. Spodní vrstva má být nažloutle až hnědě zbarvena rozpuštěným tukem

Slepý pokus: Proveďte stejným způsobem jako u vzorku s tím, že se vynechá zkušební vzorek.

Vyhodnocení:

Jodové číslo (\check{C}_J) je dáno vztahem:

$$\check{C}_J = \frac{(V_0 - V_{Na_2S_2O_3}) \cdot c_{Na_2S_2O_3} \cdot M}{m_v \cdot 10} \left[\frac{g}{100g} \right]$$

Kde: $c_{Na_2S_2O_3}$ = koncentrace odměrného roztoku Na₂S₂O₃ v mol.l⁻¹s

$V_{Na_2S_2O_3}$ = spotřeba odměrného roztoku Na₂S₂O₃ na vlastní stanovení v ml,

V_0 = spotřeba odm. roztoku Na₂S₂O₃ na slepý pokus v ml,

M = molární hmotnost jódu

m_v = navážka zkušební vzorku v g.

Závěr:

Jodové číslo se vyjádří aritmetickým průměrem ze 3 souběžných stanovení.

Do protokolu se také uvede popis použitého vzorku na stanovení.

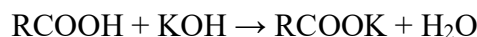
C. ČÍSLO KYSELOSTI

Číslo kyselosti \check{C}_K udává obsah volných mastných kyselin v tuku. Uvolněné mastné kyseliny se hromadí a zvyšují tak \check{C}_K . Kvalita tuků a olejů s rostoucí hodnotou čísla kyselosti klesá. Poskytuje tedy informaci o množství volných kyselin ve vzorku, které mohou mimo jiné vznikat při skladování jako produkt hydrolýzy tuků v důsledku lipolytické aktivity. Hodnoty čísla kyselosti nebývají vysoké.

<i>Tuk</i>	<i>Č_K mg/g</i>
Sádlo	1,3
Olivový olej papenský	6,6
Rostlinné oleje raf.	0,6
Rostlinné oleje panenské	4,0
Margarín	2,0

Princip:

Metoda je založena na principu neutralizace volných karboxylových skupin mastných kyselin hydroxidem.



Pomůcky:

vaříč, Erlenmayerova baňka (2x),

Chemikálie:

96% ethanol, 1% ethanolický roztok fenolftaleinu, 0,01 mol·l⁻¹ roztok KOH v 96% EtOH,

Vzorek:

sádlo, rostlinný olej, máslo, ...

Pracovní postup:

Stanovení proved'te 3x u stejného vzorku.

1. Na analytických vahách odvažte 2 g vzorku s přesností 0,01 g a kvantitativně převed'te do 250 ml Erlenmayerovy baňky.
2. Ke vzorku přidejte 50 ml ethanolu a 5 kapek 1% fenolftaleinu.
3. Obsah baňky zahřívajte k varu (varný kamínek!!) a ihned titrujte 0,01 mol·l⁻¹ KOH do stálého slabě růžového zbarvení

Slepý pokus: Proved'te stejným způsobem jako u vzorku s tím, že se vynechá zkušební vzorek

Vyhodnocení a závěr:

Číslo kyselosti (\check{C}_K) lze stanovit jako hmotnost KOH (v mg) potřebného k neutralizaci 1 g vzorku.

$$\check{C}_K = M \frac{(V_{KOH} - V_0) \cdot c_{KOH}}{m_v} [mg \cdot g^{-1}]$$

Kde: c_{KOH} = koncentrace odměrného roztoku KOH v mol.l⁻¹s

V_{KOH} = spotřeba odměrného roztoku KOH na vlastní stanovení v ml,

V_0 = spotřeba odm. roztoku KOH na slepý pokus v ml,

M = molární hmotnost KOH

m_v = navážka zkušební vzorku v g.

Kyselost tuku lze vyjádřit stupněm kyselosti (SK), který udává spotřebu roztoku KOH v ml k neutralizaci volných kyselin ve 100 g tuku. Mezi SK a \check{C}_K platí tento vztah:

$$SK = \frac{100 \check{C}_K}{56,11} = 1,7825 \check{C}_K$$

Jako výsledek uveďte číslo kyselosti a stupeň kyselosti jako aritmetický průměr jednotlivých stanovení.

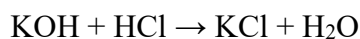
D. ČÍSLO ZMÝDELNĚNÍ

Číslo zmydelnění vyjadřuje množství všech mastných kyselin ve vzorku (esterově vázaných i volných). Velikost ČZ roste se stoupajícím množstvím volných i vázaných mastných kyselin. Zmýdelnění (saponifikace) je proces kdy dochází k rozkladu esterů tuků na příslušný alkohol a volné mastné kyseliny v alkalickém prostředí.

<i>Tuk</i>	<i>Č</i>	<i>Tuk</i>	<i>Č</i>
Sádlo	192–203	Slunečnicový olej	188–194
Palmový olej	190–209	Lněný olej	189
Podzemnicový olej	187–196	Olivový olej	184–196
Řepkový olej	168–193	Kokosový olej	248–265
Sójový olej	189–195		

Princip:

Stanovení se provádí zpětnou acidimetrickou titrací. Vzorek se nejdříve zmydelní varem s nadbytkem alkoholického roztoku KOH. Nezreagovaný KOH je stanoven titrací HCl na indikátor fenolftalein



Přístroje a pomůcky:

Topné hnízdo, kulatá baňka (3x), zpětný chladič (2x), pipeta 25 ml,

Chemikálie a roztoky:

0,5 mol·l⁻¹ ethanolický roztok KOH, 0,5 mol·l⁻¹ HCl, 1 % roztok fenolftaleinu

Vzorek:

sádlo, olej, pokrmový tuk,...

Pracovní postup:

Stanovení se provede 3x u stejného vzorku.

1. Do kulaté baňky navažte 3 g zkušební vzorku s přesností na 0,01 g.
2. Pipetou přidejte 25,0 ml roztoku KOH a několik varných kamínků.
3. Na baňku připojte zpětný chladič a zmýdelňujte (vařte) 30 min.
4. Po zmýdelnění musí být obsah baňky čirý.
5. K horkému roztoku přidejte cca 5 kapek indikátoru fenolftalein a ihned titrujte 0,5 mol·l⁻¹ HCl do vymizení růžového (červeného) zbarvení.

Slepý pokus: Proved'te stejným způsobem jako u vzorku s tím, že se vynechá zkušební vzorek. Směs se nevaří, pouze zahřeje k varu a následně titruje.

Vyhodnocení:

Číslo zmýdelnění (\check{C}_Z) v mg KOH na 1 g vzorku se vypočte podle vztahu:

$$\check{C}_Z = \frac{(V_0 - V_1) c f 56,1}{m}$$

Kde: V_0 = spotřeba odměrného roztoku HCl ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) na slepý pokus v ml,

V_1 = spotřeba odměrného roztoku HCl ($c = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$) na vlastní stanovení v ml,

c = koncentrace odměrného roztoku HCl v mol.l^{-1} ,

f = faktor odměrného roztoku HCl,

m hmotnost zkušební vzorku v g.

Vyjadřuje se jako množství KOH v mg, potřebné k neutralizaci volných mastných kyselin a k hydrolýze (zmýdelnění) esterů obsažených v 1 g látky.

Závěr:

Číslo zmýdelnění se vyjádří aritmetickým průměrem ze dvou stanovení.

Do protokolu se také uvede popis použitého vzorku na stanovení.

E. ČÍSLO ESTEROVÉ

Esterové číslo \check{C}_E je hmotnost KOH v mg potřebná k neutralizaci esterově vázaných kyselin v 1 g tuku. Vyjadřuje obsah esterově vázaných kyselin

Vyhodnocení:

\check{C}_E se vypočte z rozdílu čísla zmýdelnění a čísla kyselosti:

$$\check{C}_E = \check{C}_Z - \check{C}_K$$

Vynásobením \check{C}_E faktorem 0,547 se vypočte obsah volného glycerolu v tuku (mg/g).

Závěr:

Do protokolu uveďte výpočet obsah esterově vázaných kyselin a obsah volného glycerolu ve vybraném vzorku.

BÍLKOVINY A AMINOKYSELINY

Bílkoviny, odborně **proteiny**, jsou základem všech známých organismů, kde plní funkce stavební (kolagen, keratin, elastin), transportní (hemoglobin), katalytické (enzymy, hormony), ochranné a obranné (imunoglobulin, fibrin, fibrinogen), pohybové (aktin, myosin). Základní stavební částicí bílkovin jsou aminokyseliny. Některé aminokyseliny je schopné tělo vyrábět samo, jiné musí přijímat v potravě (tzv. esenciální aminokyseliny). V bílkovinách jsou aminokyseliny vzájemně vázány aminoskupinami $-NH_2$ a karboxylovými skupinami $-COOH$ amidovou vazbou $-NH-CO-$, která se nazývá peptidová vazba.

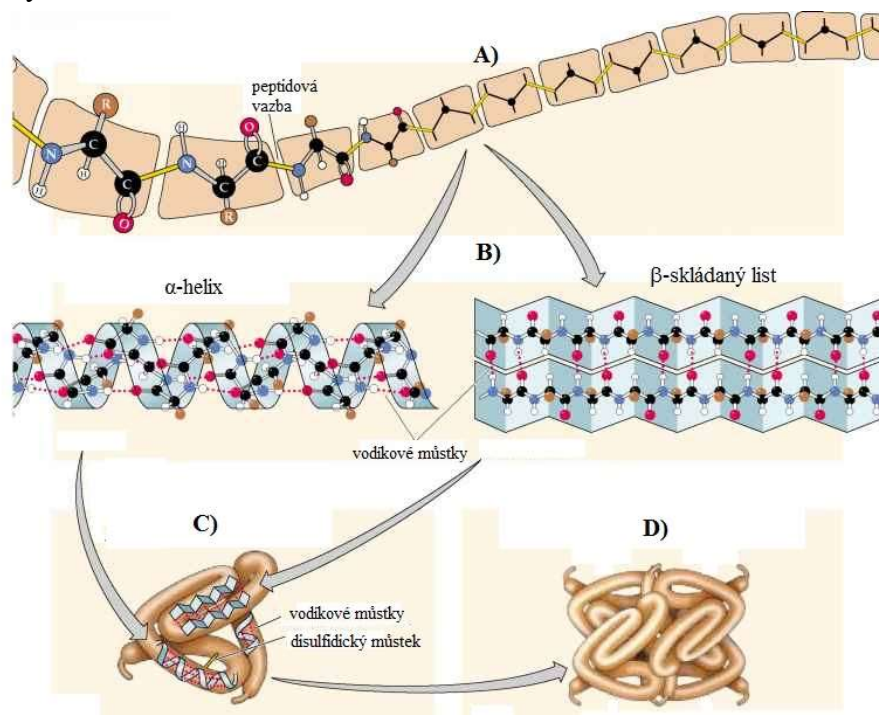
Rozlišujeme primární, sekundární, terciární a u některých složitějších proteinů ještě kvartérní strukturu bílkovinových řetězců.

Primární struktura – pořadí aminokyselin v řetězci proteinu označujeme jako primární strukturu. Primární struktura udává chemické vlastnosti bílkoviny.

Sekundární struktura – je geometrické uspořádání polypeptidového řetězce mezi několika po sobě jdoucími aminokyselinami. Primární struktury jsou uspořádány do tzv. alfa šroubovice (α -helix), skládaného listu (β -sheet), neuspořádaných struktura (random coil).

Terciární struktura – pojmem se označuje trojrozměrné uspořádání celého peptidového řetězce. Je tvořena střídáním sekundárních struktur. Podle tvaru a vlastností rozlišujeme strukturu ve vodě rozpustnou globulární s tvarem klubka a fibrilární (myosin) vláknitou ve vodě nerozpustnou. Celá struktura je stabilizována kovalentními vazbami.

Kvartérní struktura – řeší prostorové uspořádání bílkovin. Takovému uspořádání vykazují jen složitější komplexy bílkovin.



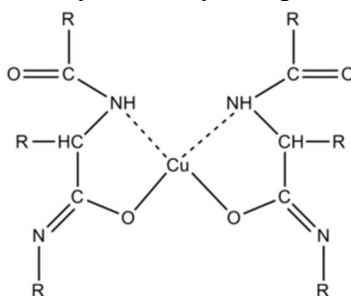
Obrázek 3: struktura bílkovin – A) primární; B) sekundární; C) terciární; D) kvartérní

Úloha č. 5: DŮKAZ BÍLKOVIN A AMINOKYSELIN

A. BIURETOVÁ REAKCE – důkaz bílkovin

Princip

Biuretová reakce je reakce, při níž se dokazuje bílkovina pomocí směsi roztoků hydroxidu sodného NaOH a síranu měďnatého CuSO₄. Bílkovina se při důkazu zbarví modrofialově. Biuretovou reakcí dokazujeme peptidové –NH–CO– vazby, kterými se aminokyseliny vzájemně vážou. V alkalickém prostředí dochází k reakci mezi Cu²⁺ a peptidovou vazbou za vzniku komplexu Cu²⁺ a bílkoviny. Vzniká charakteristický barevný – fialový komplex – biuret H₂N–CO–NH–CO–NH₂.



Vzorek

Vaječný bílek, mléko, jogurt,...

Pomůcky

Zkumavky, stojan na zkumavky

Chemikálie

0,05 mol·l⁻¹ CuSO₄ · 5H₂O (Fehlingovo činidlo I),

Postup

1. Vaječný bílek zřed'te vodou v poměru 1 : 2 (bílek : voda) a důkladně promíchejte. Hrudky můžete odstranit přefiltrováním přes smotek vaty v nálevce. Na Petriho misku nebo do zkumavky dejte další druhy vzorků.
2. K 1 ml bílkového filtrátu či jiného vzorku ve zkumavce nebo Petriho misce přidejte 1 ml CuSO₄ · 5H₂O a 1 ml
3. Pozorujte vznik modrofialové zbarvení – biuretovou reakci.

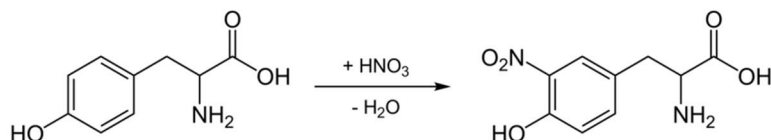
Závěr:

4. Do protokolu uveďte pozorování.

B. XANTOPROTEINOVÁ REAKCE

Princip

Principem xantoproteinové reakce je nitrace aromatických částí aminokyselin, např. tyrosin, tryptofan. K nitraci postačuje např. HNO_3 . Pozitivní reakce se projeví vznikem žlutého zbarvení, které je způsobeno vznikajícími nitrosloučeninami



Pozitivní reakci poskytuje i kolagen, ačkoli nemá aromatické aminokyseliny.

Pomůcky:

Zkumavky, držák na zkumavky, kahan

Chemikálie:

HNO_3 koncentrovaná, 20% NaOH nebo kuličky NaOH

Vzorek:

vaječný bílek, mléko, jogurt,...

Pracovní postup:

1. Vaječný bílek zřed'te vodou v poměru 1 : 2 (bílek : voda), důkladně promíchejte a filtrujte přes smotek vaty v nálevce. Na Petriho misku nebo do zkumavky dejte další druhy vzorků.
2. Pracujte v digestoři.
3. Ke 2 ml bílkového filtrátu či jiného vzorku přidejte 1 ml HNO_3 . Vzniká žlutá sraženina.
4. Ke sraženině opatrně přidejte několik zrněk NaOH, kdy nejprve dochází k neutralizační reakci mezi HNO_3 a NaOH. Opatrně protřepete, může dojít k bouřlivé reakci.
5. Při nadbytku NaOH pozorujte vznik oranžového xantoproteinu.

Závěr:

Do protokolu uveďte pozorování.

C. NINHIDRINOVÁ REAKCE

Princip:

E. DŮKAZ TRYPTOFANU

Princip

Tryptofan reaguje s kyselinou glyoxylovou (indolové jádro s oxoskupinou aldehydové části) v silně kyselém prostředí koncentrované H_2SO_4 . Na rozhraní vzniká fialový prstenec.

Pomůcky:

Zkumavky, stojan na zkumavky,

Chemikálie:

Koncentrovaná (nebo ledová) CH_3COOH , koncentrovaná H_2SO_4

Vzorek:

Vaječný bílek

Pracovní postup:

1. Roztok bílku – bílek smíchejte s 0,5% NaCl v poměru 1:1 nebo vodou ve stejném poměru
2. Do zkumavky nalijte 2 ml roztoku vaječného bílku
3. Přidejte 2 ml konc. CH_3COOH a promíchejte
4. Směs opatrně podvrstvěte 2 ml konc. H_2SO_4 .
5. Po několika minutách (až 15) se objeví fialový prstenec

Závěr:

Do protokolu uveďte pozorování.

F. DŮKAZ KASEINU A LAKTOSY V MLÉCE

Princip

Mléko obsahuje 5 % laktosy (mléčný cukr), 4 % bílkovin, 5 % tuku a 88 % vody. Z bílkovin má největší zastoupení (80 %) kasein, který patří mezi fosfoproteiny. Kasein je termostabilní – zvýšením teploty se nesráží. Dále jsou z bílkovin v mléce obsaženy syrovátkové bílkoviny (laktalbumin, laktoglobulin, sérový albumin). Syrovátkové proteiny se nachází v mléčném séru po vysrážení kaseinu. Tyto syrovátkové proteiny podléhají denaturaci nad 60 °C. Při zahřívání mléka k varu dochází k denaturaci syrovátkových proteinů (tedy laktalbuminu, laktoglobulinu, sérového albuminu) – tuto denaturaci lze pozorovat jako vznik škráloupu na hladině. Přidáním octa nebo zředěné kyseliny chlorovodíkové k vychladlému mléku dochází k vysrážení kaseinu (fosfoprotein). Kasein se v mléce shlukuje do micel, na jejichž povrchu jsou vázány ionty a hydrofilní sérové bílkoviny, které chrání vnitřní hydrofobní obsah. Snižováním pH dochází k porušování povrchových struktur kaseinových micel, tím dochází k uvolnění kaseinu a jeho denaturaci. Takto uvolněný kasein již není rozpustný, a proto tvoří sraženinu. Tento typ srážení je vratný – neutralizací mléka dojde k opětovnému rozpuštění kaseinu. Tohoto kyselého srážení kaseinu se využívá při výrobě jogurtů nebo tvarohů. V potravinářství slouží ke kyselému srážení kaseinu bakterie mléčného kvašení, které produkují kyselinu mléčnou. Filtrací dochází k oddělení vysráženého kaseinu. Ve filtrátu lze následně dokázat přítomnost laktosy – mléčného cukru. Laktosa patří mezi disacharidy a obsahuje galaktosu a glukosu. Systematický název zní β -D-galaktopyranosyl-(1 \rightarrow 4)- β -D-glukopyranosa. Laktosa obsahuje glykosidickou vazbu mezi 1. uhlíkem galaktosy a 4. uhlíkem glukosy. Na glukose je tedy volná hydroxylová skupina na 1. uhlíku – tzv. poloacetalový hydroxyl. Může tedy docházet k oxidaci na tomto uhlíku, a tudíž laktosa patří mezi redukující sacharidy. Laktosa se tedy oxiduje (přesněji 1. uhlík glukosy), Cu^{2+} (obsažené ve Fehlingově činidle) se redukuje na oranžovou sraženinu oxidu měďného. Po přikápnutí Fehlingova činidla ke sraženině kaseinu lze pozorovat tvorbu fialového zbarvení. Dochází k reakci mezi Cu^{2+} a peptidovou vazbou $-\text{CO}-\text{NH}-$ za vzniku komplexu Cu^{2+} a dané bílkoviny. Vzniklý komplex je barevný – fialový. V mléce lze tedy dokázat 3 složky – syrovátkové bílkoviny, které denaturují při teplotě nad 60 °C (škráloup). Dále lze dokázat kasein kyselým srážením (pomocí octa nebo zředěné HCl) a následně pomocí Fehlingova činidla. Provedením Biuretové reakce lze dokázat přítomnost peptidové vazby (fialové zbarvení). Laktosu přítomnou ve filtrátu lze dokázat pomocí Fehlingova činidla – laktosa je redukující disacharid, a proto redukuje Cu^{2+} na oranžovou sraženinu oxidu měďného.

Pomůcky:

Petriho misky, vodní lázeň

Chemikálie:

ocet nebo zř. HCl, Fehlingovo činidlo (Fehlingovo činidlo I – roztok $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; Fehlingovo činidlo II – vinan sodno-draselný (Seignettova sůl), NaOH),

Vzorek:

Mléko

Pracovní postup:

1. Do kádinky nalijte 50 ml mléka a opatrně zahřejte k varu. Obsah kádinky nechte vychladnout.
2. Po vychladnutí odeberte z povrchu škráloup a k převařenému mléku přidejte cca 15 ml octa či 5 ml zředěné kyseliny chlorovodíkové. Vzniká sraženina.

3. Obsah kádinky zamíchejte tyčinkou a zfiltrujte je – přes plátýnko/kapesník jako galalit
4. Přefiltrováním této sraženiny získáváme bezbarvý filtrát, na filtračním papíře se zachytí bílá sraženina.
5. Část sraženiny zachycené na filtračním papíře přeneste na Petriho misku a přikapejte pár kapek Fehlingova činidla I a II. Po nakapání Fehlingova činidla na část sraženiny zachycené na filtru se objeví fialové zbarvení.
6. Odeberte 5 ml filtrátu do zkumavky a přidejte k němu 5 ml Fehlingova činidla I a II.
7. Zkumavku ponořte do vodní lázně nebo ji zahřejte nad kahanem.
8. Při zahřívání zkumavky lze pozorovat vznik oranžové sraženiny.

Závěr:

Do protokolu uveďte pozorování.

spojit rovnou s výrobou galalitu

Úloha č. 6: KYSELÁ HYDROLÝZA BÍLKOVIN (denaturace

kolagenu na klíh)

Kolagen je složitá bílkovina, tvořící cca. 25 – 30 % hmotnosti kostí a cca. 36 % hmotnosti kůží. Kostí a kůže jsou tedy hlavní suroviny pro výrobu klíhů a želatin, což jsou v obou případech denaturovaný kolagen. Želatina má více zachovanou molekulovou hmotnost a vyšší čistotu, kdežto klíh má více odbouranou molekulovou hmotnost (tzn. nižší Mw) a nižší čistotu.

V obou případech je prvním krokem výroby vyluhování mírně denaturovaného kolagenu z kostí či kůží v mírně alkalickém prostředí (pH cca. 10) na tzv. glutinový roztok.

Protože je tento technologický krok časově náročný, vyjdeme z průmyslově vyrobeného kolagenu.

Pomůcky:

varná baňka 250 ml, zpětný chladič, míchadlo, pipeta, odměrný válec 100 ml, olejová lázeň s regulací teploty lázně, Petriho misky, univerzální indikátorový papírek

Vzorky:

průmyslově vyrobený kolagen

Chemikálie:

Koncentrovaná H_2SO_4 , 2 M NaOH, 2 M H_2SO_4

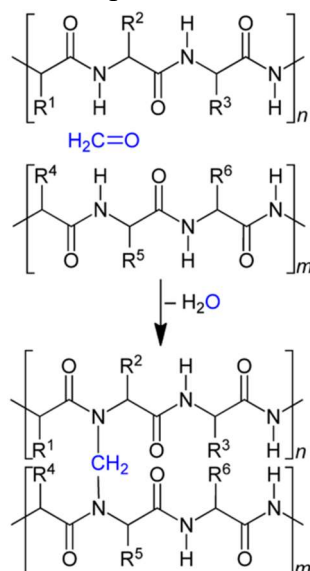
Pracovní postup:

1. Ve varné baňce připravte suspenzi 5 g průmyslového kolagenu ve 150 ml vody.
2. K suspenzi přidejte 5 kapek koncentrované H_2SO_4 .
3. Za stálého míchání zahřívejte 30 min.
4. Obsah v baňce nechte vychladnout na laboratorní teplotu a zneutralizujte 2 M NaOH, kontrolujte indikátorovým pH papírkem.
5. Do Petriho misky odeberte 10 ml vychladlého vzorku.
6. Vznikne tzv. klíhová galerta, podobná rosolu.
7. Pokud rosol nevznikne, vložte roztok do rotační vakuové odparky a zakonzentrujte.
8. Po zmenšení objemu o cca. třetinu zkuste znovu vytvořit tzv. klíhovou galertu.
9. Postup opakujte s tím rozdílem, že místo H_2SO_4 přidejte 10 ml 2 M NaOH a po reakci neutralizujte 2 M H_2SO_4 .

Závěr: Pomocí skleněné tyčinky ověřte viskozitu produktu.

Úloha č. 7: VÝROBA GALALITU Z KASEINU

Galalit vzniká reakcí kaseinu a formaldehydu. Výsledný „plast“ je tvrdý a nelze jej tvarovat. Je nerozpustný ve vodě, biodegradovatelný, relativně nehořlavý. Lze je probarvovat. Napodobovala se jím slonovina, rohovina, želvovina i dřevo. Uplatnil se módním průmyslu (knoflíky), k výrobě šperků, hřebenů rukojetí deštníků, per, kláves pián. Patentován r. 1900.



Pomůcky:

Petriho miska, sítko, plátěný kapesník, rukavice

Chemikálie:

Mléko (trvanlivé plnotučné), ocet, koncentrovaný formaldehyd

Pracovní postup:

1. Odměřte v kádince 150 ml mléka a 100 ml octa, obě kapaliny slijte a důkladně promíchejte, až dojde k důkladnému sražení.
2. Vzniklou sraženinu v rukavicích přefiltrujte přes plátěný kapesník, vytlačte všechnu možnou kapalinu.
3. Hmotu rozdělte na tři díly.
4. Jednu třetinu vláčné hmoty přidejte do formaldehydu a 5 minut povařte. Pomocí rukavic přefiltrujte přes sítko s plátěným kapesníkem. Z hmoty na plátně vytvarujte knoflík a nechte vyschnout do dalšího cvičení.
5. Z druhé a třetí třetiny vytvarujte rovnou knoflík.
6. Druhou třetinu položte do formaldehydu a nechte vytvrzovat v uzavřené Petriho misce do dalšího cvičení.
7. Třetí knoflík nechte vyschnout pouze za laboratorní teploty.

Vyhodnocení a závěr:

Vzájemně porovnejte vzhled a tvrdost materiálů.

Úloha č. 8: STANOVENÍ AMINOKYSELIN / BÍLKOVIN

A. STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Princip:

Aktivní kyselost se stanoví pomocí pH metru a vyjadřuje tak koncentraci vodíkových iontů. Obsah malého množství kyseliny nebo zásady se neprojeví změnou pH což je dáno obsahem bílkovin, fosfátů a citrátů přítomných v mléce. Pro tuto svou tlumivou (pufrující) schopnost není úplně nejlepším měřítkem hodnocení mléka. Nezachytíme totiž první stádium rozkladu laktózy jako změnu pH, i když se již vytvořilo určité množství kyseliny mléčné. U mléka je tak vhodnějším měřítkem kvality, resp. čerstvosti stanovení jeho titrační kyselosti.

Bílkoviny, citráty i fosfáty jsou amfoterní látky -

Pomůcky:

pH-metr s elektrodou

Vzorek:

Mléko, smetana ke šlehání, acidofilní mléko, měkký tvaroh, sýr Lučina aj.

Pracovní postup:

Stanovení provedte 3x.

1. 25 ml kapalného vzorku nalijte do kádinky. Z pevného vzorku odvažte 10 g, přidejte 30 ml destilované vody a zhomogenizujte třepáním.
2. Elektrodu pH-metru ponořte do analyzovaného vzorku.
3. Po ustálení odečtěte hodnotu pH na stupnici přístroje.
4. Hodnoty zprůměrujte a porovnejte s tabulkou

Vyhodnocení a závěr:

Jako výsledek uveďte aritmetický průměr hodnot aktivní kyselosti vzorku. Na základě srovnání změřených hodnot s hodnotami z tabulky určete charakteristiku mléčného výrobku.

Tab. Hodnoty pH vybraných mléčných výrobků.

Hodnota pH	Charakteristika výrobku
6,5 – 6,8	Mléko sladké, čerstvé
6,3 – 6,4	Mléko nakyslé
5,4 – 6,2	Mléko kyselé
6,8 – 7,1	Mléko pravděpodobně ředěné vodou či s přídavkem alkálií, nebo mléko od nemocných dojníc, či mléko staré s proteolytickým rozkladem
4,6	Vysrážení kaseinu z mléka (isoelektrický bod)
5,1	Smetana k výrobě zakysaného másla
6,3	Smetana k výrobě částečně zakysaného másla
5,2	Mezní hodnota při zakysání jogurtů

B. TITRAČNÍ STANOVENÍ KYSELOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ (Soxhlet-Henkelova metoda

Princip:

Kyselost dle Soxhlet-Henkela udává množství odměrného roztoku NaOH ($0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$) v ml potřebné k neutralizaci 100 ml mléka (100 g vzorku) na indikátor fenolftalein. Hodnota se udává ve stupních Soxhlet-Henkela ($^{\circ}\text{SH}$), dle SI by měla být v jednotkách $\text{mmol}\cdot\text{dm}^{-3}$. Celková kyselost čerstvého mléka by dle ČSN 57 0529 měla být v rozmezí 6,2 – 7,8 SH. Kyselost mléka může narůst s časem nad hodnotu nativní kyselosti. Tento jev je způsoben rozkladem laktózy na kyselinu mléčnou činností mikroorganismů.

Pomůcky:

Dělená pipeta 1 ml,

Chemikálie:

Mléko, 1% ethanolický roztok fenolftaleinu, $0,25 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ NaOH

Pracovní postup:

1. Do titrační baňky 250 ml pomocí odměrného válce nalijte 50 ml mléka a přikápněte 2 ml roztoku fenolftaleinu
2. Směs titrujte odměrným roztokem NaOH do slabě růžového zbarvení, které musí vydržet alespoň 30 vteřin
3. Titraci proveďte 3 ×

Vyhodnocení a závěr:

Vypočítejte kyselost mléčného produktu dle

$$\text{SH} = V_{\text{NaOH}} \cdot F$$

SH = kyselost dle Soxhlet-Henkela

V = objem odměrného roztoku NaOH v ml potřebného k neutralizaci

F = přepočítávací faktor pro: mléko a smetana = 2, tvaroh

C. STANOVENÍ BÍLKOVIN V MLÉCE (Pyneho metoda)

Pomůcky:

titrační baňka (3x), dělená pipeta 1 ml, odměrný válec 5, 10 a 50 ml, pH-papírky, filtrační papír, byreta

Chemikálie:

1% ethanolický roztok fenolftaleinu, nasycený roztok $C_2K_2O_4 \cdot H_2O$, 0,143M NaOH, zneutralizovaný formaldehyd, 0,0025% roztok fuchsinu, mléko

Pracovní postup:

4. Do titrační baňky pomocí odměrného válce nalijte 50 ml mléka, přikápněte 0,5 ml roztoku fenolftaleinu a 2 ml $C_2K_2O_4 \cdot H_2O$. Obsah baňky promíchejte a nechte 2 minuty odstát.
5. Roztok v baňce zneutralizujte 0,143M NaOH (kontrolujte pH papírkem) a přidejte 10 ml zneutralizovaného formaldehydu. Obsah baňky promíchejte a nechte opět 2 minuty odstát.
6. Odbarvený roztok titrujte 0,143M NaOH do barvy srovnávacího roztoku.
7. Srovnávací roztok připravte do druhé titrační baňky. K 50 ml mléka přidejte 3 ml roztoku fuchsinu a promíchejte.
8. Stanovení proveďte třikrát.

Vyhodnocení a závěr:

Procentuální obsah bílkovin v mléce lze stanovit přepočítávacím koeficientem (0,348) na základě zjištěné titrační spotřeby NaOH:

$$\% \text{ bílkovin} = (\text{objem } 0,143M \text{ NaOH při neutralizaci v ml}) \cdot 0,348$$

Jako výsledek uveďte procentuální obsah bílkovin ve vzorku vypočítaný jako aritmetický průměr ze tří titrací.

D. STANOVENÍ BÍLKOVIN V MLÉCE (metoda dle Schulze)

Pomůcky:

titrační baňka (3x), dělená pipeta 1 ml, odměrný válec 5, 10 a 50 ml, magnetické míchadlo, pH-papírky, filtrační papír

Chemikálie:

1% ethanolický roztok fenolftaleinu, nasycený roztok $K_2(COO)_2 \cdot H_2O$ (40 g na 100 ml), $0,143 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH, zneutralizovaný formaldehyd, 5% roztok $CoSO_4$, mléko

Pracovní postup:

Srovnávací roztok – ke 25 ml mléka přidejte 1 ml roztoku šřavelanu draselného a 0,5 ml roztoku $CoSO_4$, promíchejte.

Neutralizace formaldehydu – ke 20 ml formaldehydu přidejte 3 kapky fenolftaleinu a neutralizujte $0,143 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH do slabě růžového zbarvení

Vlastní titrace – stanovení proveďte třikrát.

1. Do titrační baňky pomocí odměrného válce nalijte 25 ml mléka, přikápněte 3-5 kapek roztoku fenolftaleinu a 1 ml $K_2(COO)_2 \cdot H_2O$.
2. Obsah baňky promíchejte a nechte 2 minuty odstát. *Nenechávat o moc déle, dělat průběžně*
3. Roztok v baňce zneutralizujte $0,143 \text{ M}$ NaOH do růžového zbarvení. Zznamenejte hodnotu. (*cca 1- 1,5ml*)
4. Ke zneutralizovanému vzorku přidejte 5 ml zneutralizovaného formaldehydu. Obsah baňky promíchejte a nechte opět 2 minuty odstát.
5. Odbarvený roztok titrujte $0,143 \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ NaOH do barvy srovnávacího roztoku.

Vyhodnocení a

Spotřeba NaOH při druhé titraci (po přidání formaldehydu) udává tzv. bílkovinný titr, tedy přímo procentuální zastoupení bílkovin ve vzorku mléka.

Ze zjištěného obsahu bílkovin lze orientačně vypočítat obsah kaseinu ve vzorku:

$$K = B\% \cdot 0,778$$

Závěr:

Jako výsledek uveďte objemová procenta zastoupení bílkovin v mléce. Srovnajte výsledek s výsledkem získaným ze stanovení bílkovin dle Pyneho.

E. STANOVENÍ POPELA V KASEINU

Pomůcky:

muflová pec s nastavitelnou teplotou, analytické váhy, exsikátor, žíhací kelímek (2x), lžička

Chemikálie:

kasein

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách zvažte přežíhaný a vychladlý kelímek.
2. Na analytických vahách navažte přibližně 1,5 g kaseinu.
3. Kelímek se vzorkem opatrně spalte nad plynovým kahanem a poté žíhejte v muflové peci 30 minut při 500 °C.
4. Nechte alespoň 5 min vychladnout na kovové síťce.
5. Kelímek přemístěte do exsikátoru, kde jej ponechejte zchladnout na pokojovou teplotu. Kelímek následně zvažte.
6. Žíhání a vážení opakujte do konstantní hmotnosti popela (rozmezí 0,2 mg).

Vyhodnocení a závěr:

Stanovte obsah popela v kaseinu v hmotnostních % dle vztahu:

$$m_{popel} = \frac{m_1}{m_0} \cdot 100$$

Kde m = navážka vzorku kaseinu v g

m_1 = hmotnost popela v g

m_{tuk} = obsah popela v %

Uveďte obsah popela a srovnajte s hodnotou obsahu popela kaseinu uváděnou v literatuře.

Kvalitní kasein by měl obsahovat 2 % popela

F. STANOVENÍ OBSAHU TUKU V KASEINU

Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 50 ml, dělička 150 ml (2x), varná baňka 250 ml, teploměr s rozsahem do 100 °C, vaříč nebo elektromagnetická míchačka

Chemikálie:

37% HCl, 96% ethanol, petrolether, kasein

Pracovní postup:

1. Do Erlenmayerovy baňky navažte 3 g kaseinu a přidejte 15 ml HCl a přikryjte zátkou.
2. Na vodní lázni směs zahřívejte na 40 °C do rozpuštění kaseinu.
3. Po úplném rozpuštění roztok zchlaďte a přilijte 10 ml horké vody.
4. Přelijte do dělicí baňky.
5. Erlenmayerovu baňku vypláchněte 40 ml ethanolu a obsah přelijte do dělicí baňky a znovu vypláchněte petroletherem (50 ml), který také přilijte do dělicí baňky.
6. Obsah dělicí baňky důkladně protřepejte (pozor na natlakování aparatury). Spodní vrstvu vypusťte do 250 ml kádinky. Horní vrstvu nalijte do předem zvážené 250 ml varné baňky s varnými kamínky.
7. Spodní vrstvu vraťte zpět do dělicí baňky a přilijte 20 ml petroletheru a 10 ml ethanolu. Protřepejte a petroletherovou vrstvu přidejte do varné baňky.
8. Petrolether odpařte na vakuové odparce.
9. Zbytek petroletheru dosušte v sušárně na chemikálie při 80 °C.
10. Po vychladnutí baňky v exsikátoru ji zvažte.

Vyhodnocení a závěr:

Stanovte obsah tuku v kaseinu v hmotnostních % dle vztahu:

$$m_{tuk} = \frac{m_1}{m} \cdot 100$$

Kde m = navážka vzorku kaseinu v g

m_1 = hmotnost izolovaného tuku v g

m_{tuk} = obsah tuku v %

Uveďte stanovené množství tuku v kaseinu (hmotnostně i procentuálně).

G. ORIENTAČNÍ STANOVENÍ VISKOSITY KASEINU

Pomůcky:

odměrný válec 5 a 50 ml, nálevka, kádinky, teploměr s rozsahem do 100 °C, skleněná tyčinka, stopky, byrety

Chemikálie:

kasein, 27% NH₃

Pracovní postup:

Pracujte v digestoři!!

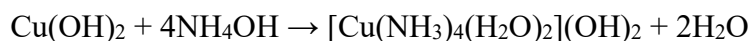
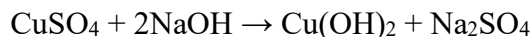
1. Do 150 ml kádinek navažte 0,5; 1,0; 1,5; 2 ... až maximálně 4 g kaseinu (s přesností na 0,1 g), přidejte 20 ml vody a 2 ml NH₃.
2. Směsi za neustálého míchání skleněnou tyčinkou zahřívejte ve vodní lázni na teplotu 60 °C do úplného rozpuštění kaseinu.
3. Připravte si byretu, do níž nalijte ještě teplý kaseinový roztok. Pracujte rychle (všechny roztoky by měly být přibližně stejně teplé).
4. Pomocí stopek stanovte časy, než vyteče vždy 10 ml kaseinového roztoku.
5. Zbytky kaseinového roztoku vylijte z byret, ochlaďte na 30 °C a sensoricky vyhodnoťte za pomoci skleněné tyčinky (sledujte především viskozitu).

Vyhodnocení a závěr:

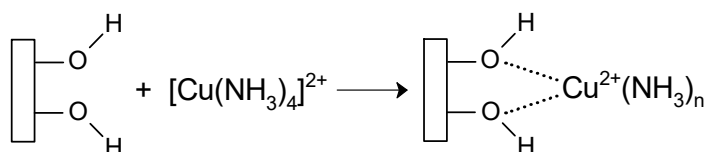
Jako výsledek uveďte graf závislosti koncentrace kaseinového roztoku rychlosti vytékání z byrety. Popište vzhled a chování jednotlivých zchladlých roztoků kaseinu.

Úloha č. 9: MĚĎNATÉ HEDVÁBÍ

Princip výroby měďnatého hedvábí byl navržen roku 1857 Eduardem Schweizerem, kdy se čistá celulóza (vata, filtrační papír atd.) rozpouští v roztoku hydroxidu tetraamminměďnatého $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4](\text{OH})_2$, který lze připravit podle rovnice:



Vazba mědi na celulózu probíhá dle následujícího schématu:



Rovnováha reakce závisí na pH prostředí. V kyselém prostředí se pak rovnováha posunuje ve prospěch nerozpustné celulózy.

Přístroje a pomůcky:

kádinky, pinzeta, Erlenmayerova baňka (200 - 250 ml, 500 ml), Büchnerova nálevka, filtrační baňka, injekční stříkačka a jehla (kapilára, plastová hadička), pH papírky, kapátko.

Chemikálie:

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, NaOH, NH_3 , H_2SO_4 případně CH_3COOH

Vzorek:

Buničitá vata – obsahuje část tzv. viskózy, což je regenerovaná celulóza

Vatové odličovací tampóny – 100% celulóza

Papírový kapesník - 100% celulóza

Pracovní pláště - 100% celulóza

Pracovní postup:

Příprava Schweizerova činidla:

1. Připravte 250 ml 5% vodného roztoku CuSO_4 . Pro lepší rozpouštění kádinku s obsahem zahřívejte.
2. Připravte 50 ml 8% vodného roztoku NaOH.
3. Roztok NaOH přidejte k roztoku CuSO_4 . Smísením vznikne modrá sraženina $\text{Cu}(\text{OH})_2$.
4. Sraženinu dekantujte destilovanou vodou alespoň 3×, čímž dojde k odstranění rozpustných solí. Sraženinu prefiltrujte na Büchnerově nálevce a následně ji převed'te do Erlenmayerovy baňky. **Nepoužívejte fritu!**
5. Vytvořte nasycený roztok Schweizerova činidla $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4](\text{OH})_2$ rozpuštěním sraženiny $\text{Cu}(\text{OH})_2$ v 70 – 100 ml koncentrovaného NH_3 . Sraženinu rozpouštějte v Erlenmayerově baňce. V případě, že se všechno $\text{Cu}(\text{OH})_2$ nerozpustí, odfiltrujte zbývající sraženinu na fritě, která je pro tento úkol vyhrazena.

Příprava měďnatého hedvábí:

1. Do baňky se 100 ml přefiltrovaného roztoku Schweizerova činidla přidejte 1 g natrhané celulózy (vata, plášť, odličovací tampónky, papírový kapesník aj.).
2. Během 60 min roztok občas protřepejte a sledujte, jak se vzorek rozpouští. Nerozpuštěnou celulózu odfiltrujte na pro tento účel vyhrazené fritě, promyjte vodou a sušte 2 h při 150 °C v sušárně. Pak zvažte a vypočítejte množství rozpuštěné celulózy. V případě, že se celulóza rozpouští pomalu, nechte rozpouštět do příštího cvičení.
3. Připravte 100 ml srážecího roztoku. K destilované vodě přikapávejte H_2SO_4 až do získání kyselého roztoku o pH 2 - 3 (pH kontrolujte pomocí indikátorového papírku)
4. Směs Schweizerova činidla s rozpuštěnou celulózou natáhněte do injekční stříkačky s jehlou a hadičkou. Roztok pomalu vkapávejte do srážecího roztoku.
5. V kyselém roztoku vznikají vlákna měďnatého hedvábí.
6. Vysrážená vlákna odfiltrujte na fritě (Büchnerově nálevce), vysušte 2 h při 150 °C v sušárně a zvažte.

Závěr:

Uveďte vlastní pozorování průběhu reakce, popište výsledný produkt. Uveďte hmotnost vysrážených vláken a procentuální výtěžek vzhledem k původní navážce a vzhledem k rozpuštěné celulóze. Uveďte veškeré potřebné výpočty.

MODERNÍ TRENDY V POLYMERNÍ CHEMII

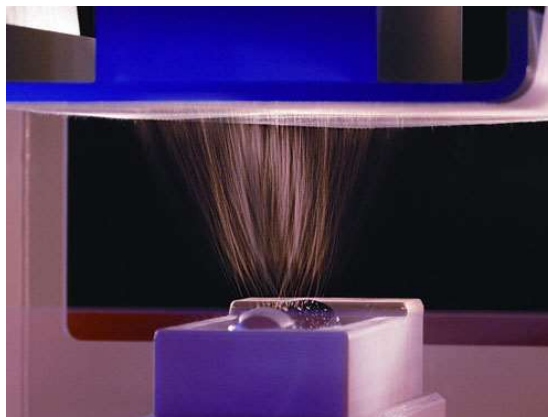
Současné trendy v oblasti polymerní chemie (přírodních i syntetických polymerů) se soustřeďují nejen na recyklaci polymerních materiálů, ale i na vytvoření nanostruktur či nahrazení původních materiálů.

Úloha č. 10: ELEKTROSTATICKÉ NANOZVLÁKŇOVÁNÍ PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ

Metoda elektrostatického zvlákňování, tzv. electrospinning, využívá elektrické síly k tvorbě nanovláknenných struktur z polymerního roztoku. Základem uspořádání jsou dvě protilehlé elektrody připojené k opačnému elektrickému potenciálu. První elektroda (zvlákňující elektroda, tzv. emitör) slouží k dávkování roztoku polymeru a tvorbě nanovláken. Elektroda může mít tvar od jednoduché jehlové elektrody (pro menší množství vzorku) po velké válcové či strunové elektrody rotující v nádobě s polymerním roztokem. Druhá elektroda, tzv. kolektor, slouží k ukládání vláken. Vlivem vysokého elektrického napětí (až desítky kV) se vytvoří na kapce roztoku polymeru kónický tvar, tzv. Taylorův kužel. Dalším zvýšením elektrického pole dojde k porušení povrchových sil natolik, že z vrcholu Taylorova kužele dojde k tvorbě vláken ve směru od zvlákňující elektrody ke kolektoru. Vytvořené vlákno z roztoku polymeru prochází v mezielektrodovém prostoru procesem nestability a prodlužování, při kterých dochází také k vypaření rozpouštědla. Vlákno polymeru je elektrostatickými silami přitahováno ke kolektoru a vytváří na něm souvislou vrstvu složenou z vláken o rozměrech desítek až stovek nanometrů. Vlivem chaotického pohybu vláken směrem ke kolektoru má výsledná vrstva strukturu náhodně uspořádaných vláken.

Na schopnost vytvářet nanovláknenné vrstvy mají zásadní vliv parametry zvlákňovaného roztoku, geometrie použitých elektrod a okolní podmínky během procesu vláknění. Mezi roztokové parametry můžeme zařadit viskozitu, koncentraci, molekulovou hmotnost daného polymeru, vlastnosti rozpouštědla, povrchové napětí či vodivost. O zvláknitelnosti roztoku rozhoduje koncentrace vláknenného polymeru, což ovlivňuje jak viskozitu, tak povrchové napětí roztoku. Jestliže je roztok příliš zředěný, pak se budou vlákna polymeru rozpadat na kapičky dříve, než dosáhnou kolektoru a dochází k tzv. elektrospreyingu. Jestliže je naopak roztok příliš koncentrovaný, tak se vlákna nebudou tvořit vůbec.

Jednou z nejdůležitějších oblastí využití metody electrospinningu jsou biomedicínské aplikace. Ideální materiál musí být biokompatibilní, aby ani polymer ani produkty vzniklé jeho degradací nevyvolali zánětlivou nebo toxickou reakci v těle, musí mít povrch umožňující adhezi buněk a podporovat jejich růst, mít vhodnou (dostatečnou) porositu a dostatečnou mechanickou odolnost. Měl by být také biodegradabilní, biostabilní, voděodolný a vyrobitelný do 3D struktur s vlastnostmi a designem měnitelným podle potřeb zamýšlené aplikace. Převést přírodní biopolymer do podoby nanovláken prostřednictvím elektrostatického zvlákňování je obvykle těžší než u syntetických polymerů. Roztoky přírodních polymerů mají často příliš vysokou viskozitu a vysoké povrchové napětí, což omezuje jejich zvláknitelnost.



Obrázek 4, 10: Nanospider TM (cit. <http://academic.sun.ac.za/polymer/electrospinning.html>, <https://tech.ihned.cz/c1-23053440-nanotechnologie-z-liberce-maji-budoucnost-i-za-oceanem>)

Přístroje a pomůcky:

kádinky, pinzeta, Erlenmayerova baňka se zátkou (250 ml, 500 ml), elektrody Nanospideru, Nanospider, ubrousky, tyčinka, váhy, odměrný válec, pipeta, nůžky

Chemikálie a roztoky:

organická rozpouštědla (kyselina trifluoroctová, tetrahydrofuran,)

Použitý vzorek:

Polymléčná kyselina – granulát (PLA)

Pracovní postup:

1. Do Erlenmayerovy baňky s elektromagnetickým míchadlem navažte granulát PLA a zalijte rozpouštědlem tak, aby výsledný roztok byl 10%, 25% a 35%.
2. Baňku umístěte na elektromagnetickou míchačku, uzavřete zátkou a nechte granulát PLA rozpouštět do dalšího cvičení.
3. Samotné zvlákňování roztoku proveďte na UFE PřF MU pomocí Nanospideru TM.
4. Zvlákňujte nejprve z jehlové elektrody, kde vzorek roztoku polymeru nanášíte na vrchol elektrody pomocí skleněné tyčinky.
5. Vyberte nejvhodnější koncentraci roztoku.
6. Tento roztok poté zvlákňujte pomocí válcové elektrody.
7. Vystříhňte navlákňovaný vzorek netkané textilie společně s nosnou textilií, nechte na vzduchu proschnout.
8. Pomocí SEM popište nanovlákenou strukturu, určete šířku vláken (její průměrnou hodnotu v závislosti na koncentraci zvlákňovaného roztoku).
9. Určete kontaktní úhel smáčení vodní kapkou, tedy hydrofobicitu/hydrofilitu materiálu.

Závěr:

Do protokolu uveďte SEM snímky, popis struktury vláken, hodnotu kontaktního úhlu.

Úloha č. 11: 3D TISK PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ

3D tisk je proces tvorby trojrozměrných objektů pokládáním souvislých vrstev polymerního materiálu. K vytištění výrobku je potřeba několik kroků. Prvním krokem je vytvoření 3D modelu (např. pomocí CAD softwaru nebo 3D skeneru či fotogrammetrického softwaru). Tento model je nutné v druhém kroku převést do tiskárnou požadovaného formátu. Dalším krokem je volba vhodného polymeru a parametrů tisku (teplota tiskové hlavy, typ a teplota podložky). Následně je na tiskovou podložku nanášen tiskový materiál po vrstvách. Vždy po dokončení tisku vrstvy se posune tisková hlava (nebo podložka) o jednu vrstvu a zahájí se tisk další vrstvy. Většinou se po výtisku ještě objekt upraví opilováním, odlomením tzv. podpůrných konstrukcí (u technologie FDM) nebo vyčištěním (jiné technologie).