



C3807 Cvičení z chemie přírodních polymerů

Návody k laboratorním úlohám

Radka Bačovská, Světlana Filípková, Pavla Hanáčková, Ladislav Pospíšil

Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita

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: POLYSACHARIDY – ŠKROB	6
A. KVALITATIVNÍ REAKCE SACHARIDŮ	7
a. Fehlingova reakce.....	7
b. Tollensova zkouška.....	8
c. Selivanova reakce	8
B. STANOVENÍ ŠKROBU GRAVIMETRICKY.....	9
C. DŮKAZ PŘÍTOMNOSTI ŠKROBU A SOLANINU V HLÍZÁCH BRAMBOR	9
D. DĚLENÍ ŠKROBU NA AMYLOSU A AMYLOPEKTIN	10
E. ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA ŠKROBU	10
Úloha č. 2: DŘEVO A POLYSACHARID CELULOZA.....	12
A. STANOVENÍ ROZPUSTNOSTI CELULOS V HYDROXIDU SODNÉM	13
B. STANOVENÍ VLHKOSTI DŘEVA	13
C. STANOVENÍ VLHKOSTI CELULOSY	14
D. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Tappiho)	14
E. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Klauzitze).....	15
F. STANOVENÍ PODÍLU HOLOCELULOSY VE DŘEVĚ (metoda podle Wise)	16
G. STANOVENÍ LIGNINU VE DŘEVĚ (metoda podle Komarova).....	16
H. SIMULACE VÝROBY PERGAMENOVÉHO PAPÍRU	17
I. PŘÍPRAVA NITRÁTU CELULOSY	17
BÍLKOVINY A AMINOKYSELINY.....	19
Úloha č. 3: DŮKAZ BÍLKOVIN / AMINOKYSELIN BIURETOVOU A XANTOPROTEINOVOU REAKCÍ.....	19
Biuretová reakce.....	19
Xanthoproteinová reakce	19
Úloha č. 4: KYSELÁ HYDROLÝZA BÍLKOVIN (denaturace kolagenu na klíh)	20
Úloha č. 5: STANOVENÍ SLOŽENÍ A VLASTNOSTÍ AMINOKYSELIN / BÍLKOVIN.....	21
A. STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN	21
B. STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	22
C. STANOVENÍ KYSELOSTI KASEINU	22
D. STANOVENÍ OBSAHU TUKU V KASEINU.....	23
E. STANOVENÍ POPELA V KASEINU	23
F. ORIENTAČNÍ STANOVENÍ VISKOSITY KASEINU	24
G. STANOVENÍ BÍLKOVIN V MLÉČE (Pyneho metoda)	24
H. STANOVENÍ BÍLKOVIN V MLÉČE (metoda dle Schulze).....	25

Úloha č. 6: VÝROBA GALALITU Z KASEINU	25
TUKY, OLEJE, VOSKY	26
Úloha č. 7: TUKOVÉ CHARAKTERISTIKY	26
A. PEROXIDOVÉ ČÍSLO.....	26
B. JODOVÉ ČÍSLO.....	27
C. ČÍSLO KYSELOSTI	28
D. ČÍSLO ZMÝDELNĚNÍ	28
E. ČÍSLO ESTEROVÉ	29
MODERNÍ TRENDY V POLYMERNÍ CHEMII.....	30
Úloha č. 8: MĚĎNATÉ HEDVÁBÍ.....	30
Úloha č. 9: ELEKTROSTATICKÉ NANOZVLÁKŇOVÁNÍ PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ	31
Úloha č. 10: 3D TISK PŘÍRODNÍCH POLYMERŮ.....	32

SACHARIDY

Sacharidy jsou rozsáhlou a velmi pestrou skupinou přírodních látek patřících do skupiny polyhydroxyderivátů karbonylových sloučenin (aldehydů nebo ketonů). Podle počtu monosacharidových jednotek je rozdělujeme na: monosacharidy, oligosacharidy (2-10 molekul) a polysacharidy.

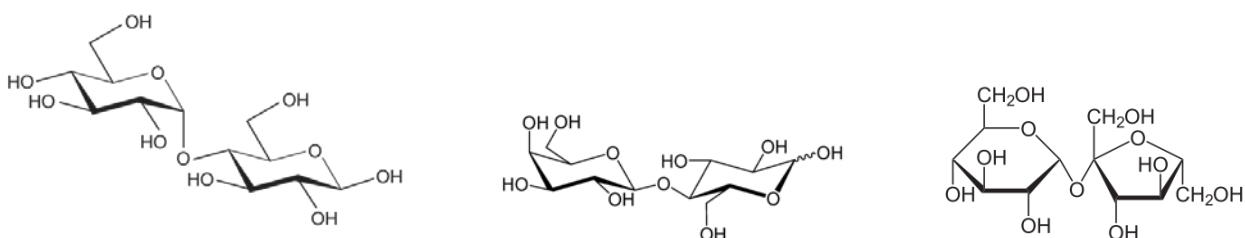
Nízkomolekulární sacharidy jsou rozpustné ve vodě a mají více či méně sladkou chuť: označují se jako cukry (monosacharidy a oligosacharidy jsou na potravinách označovány kategorií „z toho cukry“). Makromolekulární polysacharidy jsou většinou bez chuti a jsou ve vodě jen omezeně rozpustné (škrob, agar), nebo zcela nerozpustné (celulóza a jiné neškrobové polysacharidy z vlákniny).

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 stácejí rovinu rovinně polarizovaného světla. Monosacharidy s aldehydovou skupinou se nazývají aldosa, s ketoskupinou ketosa. Podle počtu uhlíků se dělí na triosy, tetrosy, pentosy a hexosy. Shoda konfigurace na posledním chirálním uhlíku s konfigurací D- nebo L-glyceraldehydu určuje příslušnost monosacharidu do konfigurační řady D nebo L. Názvosloví monosacharidů se tvoří pomocí konfiguračních přepon, které označují relativní konfiguraci na chirálních centrech molekuly.

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

Nejdůležitějšími monosacharidy jsou glukóza, fruktóza a laktóza. Všechny monosacharidy jsou redukující, neboť mají aldehydovou (a patří tedy mezi aldózy) skupinu, nebo mají ketonovou skupinu a mohou se tautomerizovat. Patří sem například galaktóza, glukóza, glyceraldehyd, fruktóza a ribóza.

Oligosacharidy jsou sloučeniny vzniklé spojením dvou až deseti monosacharidových jednotek glykosidovou vazbou. Podle počtu monosacharidových jednotek vázaných v jejich molekulách rozlišujeme disacharidy, trisacharidy, tetrasacharidy atd. Kyselou hydrolyzou se z nich opět uvolňují monosacharidy. Nejdůležitějšími z disacharidů jsou sacharóza a maltóza, laktóza. Sacharóza¹ je cukrem neredukujícím, zatímco, maltóza a laktóza jsou cukry redukující.

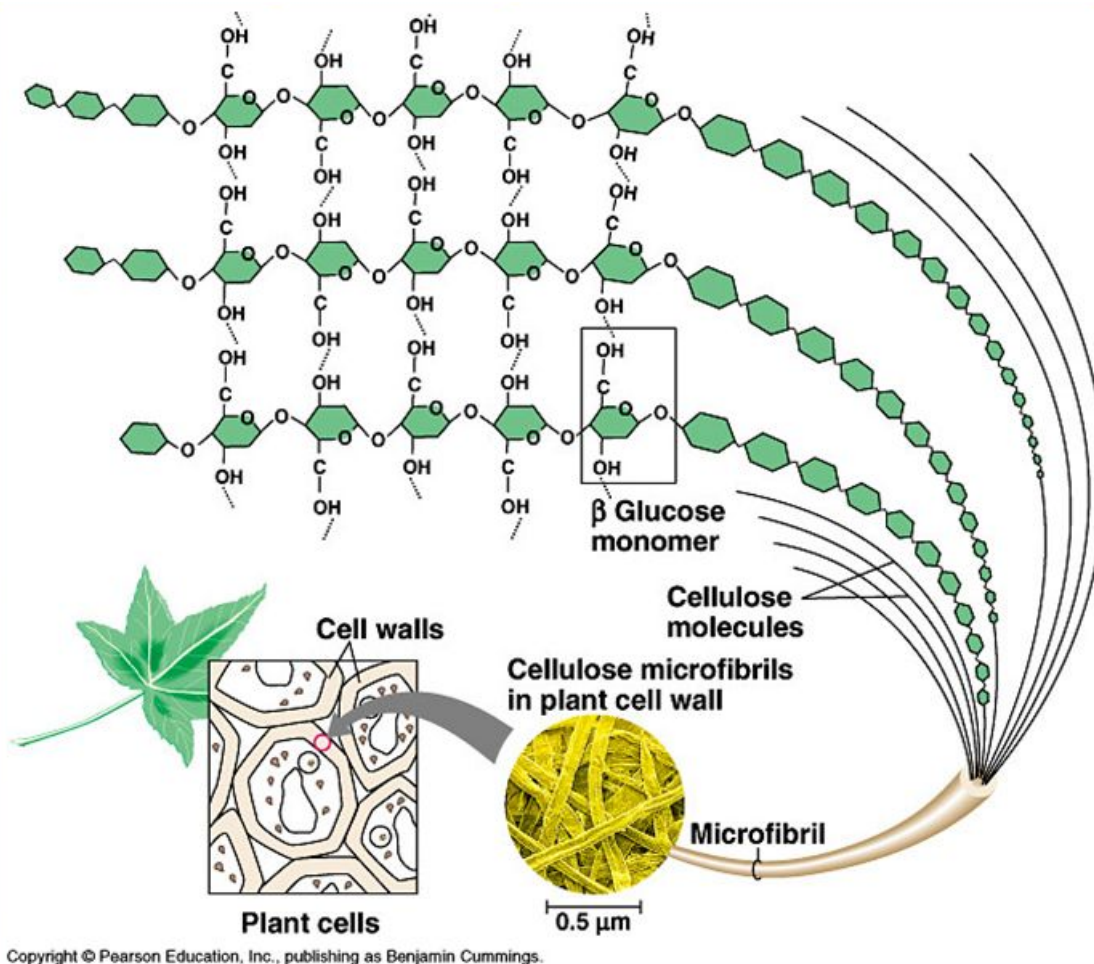


Obrázek 1: maltóza, laktóza, sacharóza

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

¹ 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**.

Polysacharidy jsou nejrozšířenějšími přírodními polymery, Polysacharidy jsou složeny z mnoha monosacharidových jednotek, navzájem spojených glykosidovými vazbami. V přírodě patří mezi nejrozšířenější skupinu sacharidů. Většina polysacharidů má význam jako stavební materiál (celulosa) nebo se ukládá v podobě zásobních látek (škrob) v rostlinných i živočišných organismech. Polysacharidy se obvykle ve vodě nerozpouštějí nebo jen bobtnají. Kyselou nebo enzymovou hydrolyzou vznikají z polysacharidů oligo- až monosacharidy.



Obrázek 2: Stavba dřeva

Úloha č. 1: POLYSACHARIDY – ŠKROB

Škrob je nejdůležitějším zásobním polysacharidem rostlin. V našem zeměpisném pásmu je spojován hlavně s bramborami, ale celosvětově je nejdůležitější plodinou pro výrobu škrobu kukuřice.

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



brambora



pšenice



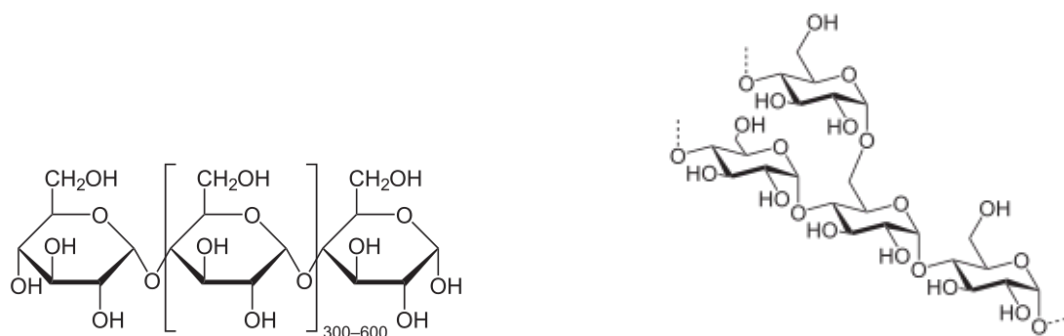
rýže



kukuřice

Obrázek 3: Zrna různých škrobů

Chemicky je škrob poly (1,4) α -D-glukopyranosa v podobě lineární makromolekuly amylozy nebo větveného amylopektinu, jejichž vzájemný poměr se liší dle druhu rostliny.



Obrázek 4: Amylóza

Amylopektin

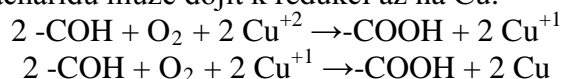
Typickou barevnou reakcí s Lugolovým činidlem (roztok jódu v KJ) dává pouze amylóza.

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

A. KVALITATIVNÍ REAKCE SACHARIDŮ

a. Fehlingova reakce

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 měry 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 na Cu⁺¹. V případě vyšší koncentrace redukujícího sacharidu může dojít k redukci až na Cu.



Pomůcky:

zkumavka, lžička, 2 pipetky, kádinka, stojan, žíhací kruh, síťka

Vzorky:

vzorky sacharidů

Chemikálie:

Fehlingovo činidlo I - 40 g CuSO₄.5H₂O rozpustíte v destilované vodě a doplňte na 1000 ml.

Fehlingovo činidlo II - 200 g vinanu sodnodraselného (tetrahydrát) a 150 g NaOH rozpustíte v destilované vodě a doplňte na 1000 ml.

Pracovní postup:

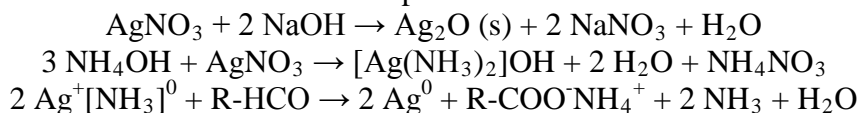
1. Do zkumavky nalijte vzorek roztoku sacharidu, přidejte 1 ml roztoku Fehling I a 1 ml roztoku Fehling II.
2. Zkumavku umístěte do vodní lázně a zahřívejte, dokud nedojde ke změně barvy.

Závěr

Jako výsledek uveďte, který vzorek obsahoval redukující a který neredukující sacharid, popište změnu barvy.

b. Tollensova zkouška

Tollensovo činidlo vzniká reakcí dusičnanu stříbrného a koncentrovaného roztoku hydroxidu amonného za vzniku amonného komplexu.



Pomůcky:

zkumavka, lžička, 2 pipetky, kádinka, stojan, žíhací kruh, síťka

Vzorky:

vzorky sacharidů

Chemikálie:

2 g AgNO_3 v 50 ml vody, přikapat 2 M NaOH a promíchat tyčinkou. Pozorovat, zda se ještě sráží Ag_2O . Až toto ustane, přestat NaOH přikapávat. K suspenzi Ag_2O přikapávat koncentrovaný NaOH až do rozpuštění všeho Ag_2O . Vzniklý roztok přefiltrovat přes fritu č. 1. Fritu promýt HNO_3 a pak destilovanou vodou.

Pracovní postup:

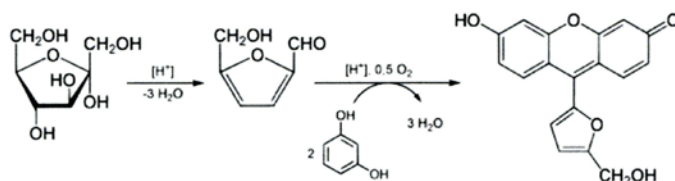
1. Do roztoku sacharidů ve zkumavce přikápněte roztok NaOH a AgNO_3 , přičemž vznikne hnědá sraženina Ag_2O .
2. Do zkumavky přidejte koncentrovaný NH_4OH , přičemž se hnědá sraženina Ag_2O rozpustí. **Delším stáním ve směsi vzniká velmi výbušný Ag_3N .** V reakci s aldehydickou skupinou sacharidů vzniká amonná sůl karboxylové kyseliny a redukované stříbro, které pozorujte na stěně zkumavky v podobě stříbrného zrcátka.

Závěr:

Jako výsledek uveďte, který vzorek obsahoval redukující a který neredukující sacharid.

c. Selivanova reakce

Podstatou reakce je dehydratace sacharidů koncentrovanými kyselinami na 5-hydromethylfural, který následně reaguje s resorcinolem za změny barvy.



Obrázek 5: Selivanova reakce

Ketózy dávají třešňově červené zbarvení, aldózy reagují pomaleji². Při delší době zahřívání mohou dát reakci i aldózy, protože v roztoku probíhá izomerizace aldózy na ketózu.

Pomůcky:

zkumavka, lžička, 2 pipetky, kádinka, stojan, žíhací kruh, síťka

Vzorky:

vzorky sacharidů

Chemikálie:

H_2O , 05 % roztok resorcinolu v 10 % HCl , HCl

Pracovní postup:

1. Do roztoku sacharidů ve zkumavce přikápněte kapku HCl .
2. Přidejte kapku roztoku resorcinolu a pozorujte změnu barvy do červena.

² Reagují cca. 20x pomaleji.

Závěr:

Jako výsledek uveďte pouze popis změny barvy.

B. STANOVENÍ ŠKROBU GRAVIMETRICKY**Pomůcky:**

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

Vzorky:

Kuřecí párky „Striptýzky“, paštika „Májka“

Chemikálie:

8 % 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) / balení paštiky.
3. Do Erlenmayerovy baňky pak odvažte 2,5 – 3 g zhomogenizovaného vzorku masného výrobku. Paštiku pouze jemně rozetřete, párek stáhněte ze střívka a rozemlete.
4. K masnému vzorku přilejte 80 ml 8% alkoholického roztoku KOH.
5. Vodní lázeň přiveďte k varu a obsah Erlenmayerovy baňky nechte za občasného míchání zahřívát na vodní lázni 45 min.
6. K plně rozpuštěnému vzorku přidejte 25 ml 50% horkého ethanolu. Dojde k vysrážení škrobových zrn, které nechte usadit na dno.
7. Opatrně odlijte horní vrstvu roztoku. Usazený škrob 3x dekantujte 30 ml horkého 5% ethanolu. Účinnost dekantace sledujte pomocí pH papírku, kdy by hodnota pH měla poklesnout až k neutrální reakci.
8. Obsah Erlenmayerovy baňky kvantitativně převedte na předem vysušenou a zváženou fritu a vakuově prefiltrujte. Erlenmayerovu baňku důkladně vypláchněte horkým 50% ethanolem.
9. Sraženinu na fritě promyjte 20 ml chladného 96% ethanolu a po dobu 10 minut nechte přes fritu se vzorkem procházet vzduch. Fritu se vzorkem vložte do sušárny o teplotě cca 100 °C a sušte do konstantní hmotnosti.

Vyhodnocení a závěr:

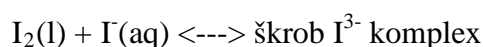
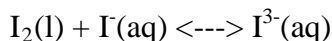
Obsah škrobu ve zkoumaném vzorku v hm %:

$$w(\text{škrob}) = \frac{\text{hmotnost škrobu na fritě v gramech}}{\text{navážka masného vzorku v gramech}} \cdot 100$$

Jako výsledek uveďte obsah škrobu v analyzovaných výrobcích (přepočtete na hmotnost celé nožičky párku / balení paštiky) vyjádřený aritmetickým průměrem ze tří souběžných stanovení. Vzájemně srovnajte oba testované výrobky a pokuste se o srovnání s hodnotami deklarovanými výrobcem.

C. DŮKAZ PŘÍTOMNOSTI ŠKROBU A SOLANINU V HLÍZÁCH BRAMBOR

Principem Lugolovy reakce je vznik komplexu škrob I_3^- .

**Pomůcky:**

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

Vzorky:

Bramborová hlíza naklíčená a nenaklíčená

Chemikálie:

konc. kyselina sírová, konc. kyselina octová, 1% vodný roztok formaldehydu, 0,5% roztok peroxidu vodíku, Lugolův roztok (5 g jódu a 10 g KI v 85 ml destilované vody)

Pracovní postup:

1. Z bramborové hlízy (1x naklíčené, 1x nenaklíčené) ukrojíte tenký plátek a položte jej na Petriho misku / podložní sklíčko. Postupně kapejte na plátek do řady 1-3 kapky konc. kyseliny sírové, konc. kyseliny octové, 1% roztoku formaldehydu, 0,5% peroxidu vodíku a Lugolův roztok.
2. 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. 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:

Fyziologický 5% roztok NaCl, 35% HCl, 0,01M a 0,2M NaOH, Lugolův roztok

Pracovní postup:

1. 200g omytých rozkrájených bramborových hlíz v mixéru zhomogenizujte na kaši a převedte do 800 ml kádinky naplněné 500 ml fyziologického roztoku.
2. Suspenzi během 5 minut 3x promíchejte, dále filtrujte přes několikrát přeloženou gázu do odměrného válce a nechte usadit.
3. Kapalínu opatrně odlijte a usazený škrob dekantujte 3x 150 ml fyziologického roztoku, poté 150 ml 0,01M NaOH a nakonec 3x 150 ml destilované vody.
4. Škrob nechte vysušit na vzduchu do dalšího cvičení, zvažte a proveďte důkaz pomocí Lugolova roztoku.
5. Izolovaný škrob převedte 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.
6. Vzorek nechte stát do dalšího cvičení, kdy se na dně kádinky objeví bílý gel (amylopektin). Amylopektin dekantujte a pomalu odfiltrujte na Büchnerově nálevce. Vzorek amylopektinu sušte za laboratorní teploty do konstantní hmotnosti.

Závěr

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

E. ENZYMATICKÁ HYDROLÝZA ŠKROBU**Pomůcky:**

Kádinka 250 ml, vařič, zkumavky, kapátko, odměrný válec

Vzorky:

Lidské sliny

Chemikálie:

Bramborový škrob, Lugolův roztok

Pracovní postup:

1. Do 2 zkumavek nalijeme pomocí odměrného válce 5 ml škrobového mazu a 4 ml lidských slin naředěných destilovanou vodou 1:1.

2. První zkumavku nechejte jako referenční, kdy při přikápnutí Lugolova roztoku dojde k modrému zbarvení.
3. Druhou zkumavku vložte do vodní lázně (kádinka 250 ml) a pozvolna zahřívejte.
4. V pravidelných časových intervalech odebírejte na kapkovací destičku vzorek z referenční i zahřívané zkumavky a po přidání kapky Lugolova roztoku sledujte zbarvení vzorků. Zbarvení referenčního vzorku bude modré na důkaz přítomnosti škrobu, u zbarvení zahřívané vzorku by mělo docházet k barevným změnám v závislosti na rychlosti enzymatické degradace škrobu lidskými slinami.

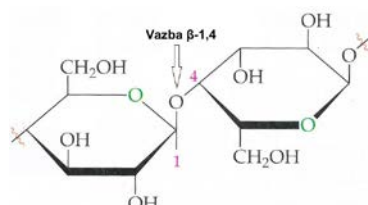
Závěr:

Jako výsledek uveďte barevnou změnu reakce.

Úloha č. 2: DŘEVO A POLYSACHARID CELULOZA

Chemickou stavbu dřeva tvoří 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. Celulóza a hemicelulóza patří mezi polysacharidy a bývají souhrnně označovány jako *holocelulóza*. Lignin je vysokomolekulární látka.

Celulóza je nejrozšířenějším BIOPOLYMEREM na zemském povrchu. Tvoří základní stavební složku rostlin. Celulóza je tvořena molekulami β -D-glukózy spojenými pomocí β -1,4 glykosidové vazby.



Obrázek 6: β -D-Glukóza, β -1,4 glykosidová vazba

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

Celulóza se pro komerční účely izoluje ze dřeva odstraněním ostatních složek (ligninu, hemicelulózy, olejů). Celulózové vlákno 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; jejím derivátem jsou vlákna z acetátu celulózy nebo vlákna viskózová, surovina k výrobě celofánu. Nitrací celulózy vzniká nitrocelulóza, známá také jako střelná bavlna.

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

Lignin je vysokomolekulární polyfenolická amorfní látka. Základní stavební jednotkou jsou deriváty fenypropanu, 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.

Tab.: Složení bavlny, listnatého a jehličnanového dřeva³

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

³ Pentosany jsou hlavně hemicelulózy.

A. STANOVENÍ ROZPUSTNOSTI CELULOSY V HYDROXIDU SODNÉM

Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml (2x), filtrační papír, Büchnerova nálevka, odsávačka, Petriho miska (2x), odměrný válec 100 ml, nálevka (3x), lžička, sušárna, kádinka, vaříč, teploměr s rozsahem do 100 °C, pH papírky, nůžky

Chemikálie:

1% roztok NaOH, 10% CH₃COOH, celulóza (bavlněný plášť, sisalový, jutový či konopný provaz...)

Pracovní postup:

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

Vyhodnocení a závěr:

Obsah nerozpustné celulózy ve vzorku stanovte ze vzorce.

$$\text{obsah nerozpustné celulózy (\%)} = \frac{\text{hmotnost nerozpuštěné vzorku celulózy (g)}}{\text{navážka vzorku celulózy (g)}} \cdot 100$$

Obsah nerozpustné celulózy přepočtený na absolutně suchou celulózu vypočtete ze vzorce:

$$\text{obsah suché nerozpustné celulózy} = \text{obsah nerozpustné celulózy} \cdot f$$

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

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

$$C_{\text{ROZP}}(s) = 100 - C_{\text{NEROZP}}(s)$$

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, eksikátoreksikátor, 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 2 hodiny.
3. Kádinku i s víčkem nechejte v eksikátoreksikátoru vychladnout a kádinku s obsahem zvažte opět na analytických vahách.
4. Tento postup dále opakujte v 1h intervalu, dokud se nebude hmotnost vzorku pohybovat v rozmezí 0,2 mg.

Vyhodnocení a závěr:

Vlhkost ve vzorku dřeva stanovte ze vzorce:

$$v = \frac{B - C}{B - A} 100 \quad (\%)$$

kde je 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

C. STANOVENÍ VLHKOSTI CELULOSY

Pomůcky:

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

Chemikálie:

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

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách zvažte prázdnou váženku a váženku s asi 1g celulosy.
2. Váženku s celulosou vložte do vyšší kádinky a kádinku umístěte do sušárny vyhřáté na teplotu 103 °C po dobu nejméně 2 hodiny.
3. Váženku vyjměte ze sušárny a vložte do eksikátoreksikátoru, 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 celulosy se vypočte podle vzorce:

$$v = \frac{B - C}{B - A} 100 \quad (\%)$$

kde je v ... vlhkost celulosy v %

A ... hmotnost prázdné navažovačky v g,

B ... hmotnost navažovačky se vzorkem celulosy před vysušením v g

C ... hmotnost navažovačky se vzorkem celulosy po vysušení v g

Obsah vlhkosti celulosy vyjádříme aritmetickým průměrem ze dvou souběžných stanovení.

D. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Tappiho)

Pomůcky:

kádinka 250 ml (2x), odměrný válec 10 ml, 50 ml (2x), 100 ml, lžička, hodinové sklíčko, odsávačka, filtrační kelímek S1 (2x), kádinka 400 ml, nálevka střední (2x), sušárna, exsikátor

Chemikálie:

10% CH₃COOH, 17,5 % roztok NaOH, filtrační papír, celulóza (bavlna sepraná, sisalový, jutový či konopný provaz ...)

Pracovní postup:

1. Do 250 ml kádinky navažte na analytických vahách cca 3 g celulosy.
2. K celulose přilejte 35 ml 17,5 % NaOH o teplotě 20 ± 0,2 °C a nechte 3 minuty stát
3. Poté za pomoci skleněné tyčinky 3 minuty míchejte a rozvláknějte.
4. Po 3 minutách přilejte 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 přilejte 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 promícháme lžičkou (cca 1 minutu)
9. Rozvlákněnou celulosu filtrujte přes předem zváženou a vysušenou fritu.
10. Filtrační zbytek promyjte 300 ml vody o teplotě 20 ± 0,2 °C za stálého odsávání.

11. Poté odsávání přerušete a na filtrační zbytek nalijte 40 ml 10 % CH₃COOH o teplotě 20 ± 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. Kelímeček se zbytkem sušte v sušárně při teplotě 103 ± 2 °C do konstantní hmotnosti.
14. Po vychladnutí v exsikatoru zvažte.

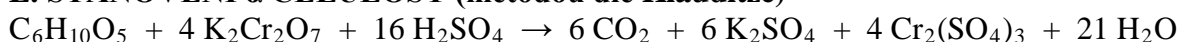
Vyhodnocení a závěr:

Obsah α celulosy (αC_{TAPPI}) [%]:

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

kde je m₁... hmotnost α celulosy po vysušení v g,
n₁... navážka celulosy na stanovení v g.

E. STANOVENÍ α CELULOSY (metodou dle Klauditze)



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, odsávačka, frity S1 (2x), kádinka 600 ml, vaříč, titrační baňka 250 ml (2x), nálevka střední (2x).

Chemikálie:

96 %-ní H₂SO₄, p.a., 17,5 % roztok NaOH, 0,2 M Na₂S₂O₃, 1 M K₂Cr₂O₇ (toxická látka)

Pracovní postup:

1. Do 75 ml Erlenmayerovy baňky navažte na analytických vahách 3,0 g celulosy.
2. Přidejte 40 ml 17,5 % NaOH o teplotě 20 ± 0,2 °C
3. Intenzivně třepajte (v ruce) až se obsah baňky rozvlákní a zhomogenizuje (cca 10 minut).
4. Nechte stát 15 minut při teplotě 20 °C, poté řádně ručně protřepeme (cca 1 minutu) a nechte stát dalších 15 minut při teplotě 20 °C. Důkladně promíchejte lžičkou (1 minutu) a filtrujeme přes filtrační kelímeček za odsávání.
5. Filtrační koláč promyjte 50 ml vody o teplotě 20 °C.
6. Filtrační roztok s promývací vodou nalijte do odměrné baňky (100 ml a doplňte destilovanou vodou.
7. Odpipetujte 1 ml filtrátu do 50 ml Erlenmayerovy baňky, přidejte 2 ml 1 M K₂Cr₂O₇ a 2 ml koncentrované H₂SO₄.
8. Povařte 1 minutu (varný kamínek).
9. Erlenmayerovu baňku ochlaďte pod tekoucí vodou.
10. Obsah baňky přilijte do 25 ml odměrné baňky, doplňte destilovanou vodou po rysku, promíchejte.
11. Do titrační baňky napipetujte 25 ml roztoku, přidejte 100 ml vody a 10 ml 5% KI. Ve tmě nechte stát 5 min.
12. Titrujte 0,1 M roztokem Na₂S₂O₃ do žlutého zbarvení roztoku, poté přidejte 5 ml škrobového mazu a dotitrujte do modrého (až černého) zbarvení.

Vyhodnocení:

Obsah α-celulosy (AC_{Klauditz}) v % se vypočte ze vztahu:

$$AC_{Klauditz} = 100 - RS$$

RS je zjištěné procento rozpuštěné celulosy.

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

kde je V₁... spotřeba 0,1 M Na₂S₂O₃ při titraci v ml,
n₂... navážka celulosy na stanovení v g,
z... zředění (100)
M... molarita roztoku Na₂S₂O₃,
0,000675... přepočítávací faktor na celulosu

Závěr:

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

F. STANOVENÍ PODÍLU HOLOCELULOSY VE DŘEVĚ (metoda podle Wise)**Pomůcky:**

Erlenmayerova baňka 250 ml (2x), nálevka, hřidelové míchadlo (2x), váženka (2x), vodní lázeň, odměrný válec 25, 50, 250 ml, sušárna, analytické váhy, exsikátor, filtrační papír, vařič, Büchnerova nálevka (1x), Petriho miska (2x), kádinka 400 ml, lžička, odsávačka

Chemikálie:

dřevěné piliny, ledová kyselina octová, NaClO_4

Pracovní postup:

1. Do Erlenmayerovy baňky navažte na analytických vahách asi 1,5 g dřevěných pilin.
2. K pilinám přilejte 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 a za stálého míchání zahřívejte 40 minut.
4. Po 40 min. znovu přidejte 2,5 ml ledové kyseliny octové 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 obsah baňky ochlaďte proudem tekoucí studené vody.
7. Směs filtrujte přes předem zvážený (analytické váhy) filtrační papír na Büchnerově nálevce. Filtrační koláč promyjte 2x 50 ml studené vody a pak 20 ml acetonu
8. Filtrační koláč izolované holocelulosity sušte na Petriho misce v sušárně vyhřáté na 105 °C do konstantní hmotnosti.

Vyhodnocení a závěr:

Obsah holocelulosity ve dřevě:

$$H = \frac{V}{n} 100 \quad (\%)$$

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

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

kde je H ... obsah holocelulosity ve dřevě v %

H_s ... obsah holocelulosity ve dřevě v % přepočtený na sušinu dřeva

V ... hmotnost vláknitého materiálu (holocelulosity) na filtračním kelímku v g

n ... navážka vzorku dřeva v g

f ... přepočítávací faktor na sušinu

v ... vlhkost dřeva v %

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

G. STANOVENÍ LIGNINU VE DŘEVĚ (metoda podle Komarova)**Pomůcky:**

váženka, nálevka, lžička, odměrný válec 25 ml, 250 ml, kádinka 100 ml, sušárna, analytické váhy, exsikátor, fritra (2x), varná baňka 500 ml(2x), topné hnízdo 500(2x), zpětný chladič (2x), vařič, tyčinka, hodinové sklo

Chemikálie:

72 % H_2SO_4 , dřevěné piliny vysušené při 105 °C

Pracovní postup:

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

Výpočet:

Obsah ligninu ve dřevě lze stanovit dle vzorce:

$$L = \frac{V_L}{n} 100 \quad (\%)$$

kde je L ... obsah ligninu ve dřevě v %,
V_L ... hmotnost ligninu na filtračním kelímku v g,
n ... navážka vzorku dřevěných pilin v g.

Závěr:

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

H. 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 60% H₂SO₄ s 15 ml ledové destilované vody. Připravený roztok chlaďte v ledové lázni na cca 5 °C.
2. Z filtračního papíru vystříhnete dva stejně velké díly.
3. První díl ponořte pomocí pinzety do chladného roztoku H₂SO₄ a ihned po vyjmutí jej vložte do kádinky s destilovanou vodou a 10 kapkami NH₃. Papír nechte alespoň 5 min propírat a poté nechte usušit na hladkém povrchu.

Závěr:

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

I. PŘÍPRAVA NITRÁTU CELULOSY**Pomůcky:**

Erlenmayerova baňka 250 ml, tyčinka

Chemikálie:

HNO₃, H₂SO₄, ethanol, kafr, aceton

Pracovní postup:

1. V Erlenmayerové 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 1g vaty (celulosa) vhodte 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 celulosu rozdělte na 4 části, z nichž jedna bude mít hmotnost cca 0,5 g.
7. Porovnejte rozpustnost nitrocelulózy a celulosy v acetonu.
8. Porovnejte rozpustnost nitrocelulózy a celulosy v ethanolu.
9. Třetí kousek vaty jen opatrně položte na žíhací síťku (odváží na rozevřenou dlaň) a zapalte.
10. Ve zkumavce rozpustíte 0,1 g kafru v 8 ml acetonu. Do připraveného roztoku vhodíte 0,5 g nitrocelulózy ovlhčeného ethanollem. Zkumavku uzavřete a důkladně promíchejte.
11. Viskózní roztok nalijte na Petriho misku, uložte do digestoře a nechte do dalšího cvičení vyschnout. Na Petriho misce vznikne průsvitný film z celuloidu.

Závěr:

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

BÍLKOVINY A AMINOKYSELINY

Bílkoviny, odborně **proteiny**, jsou základem všech známých organismů. Plní v něm 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.

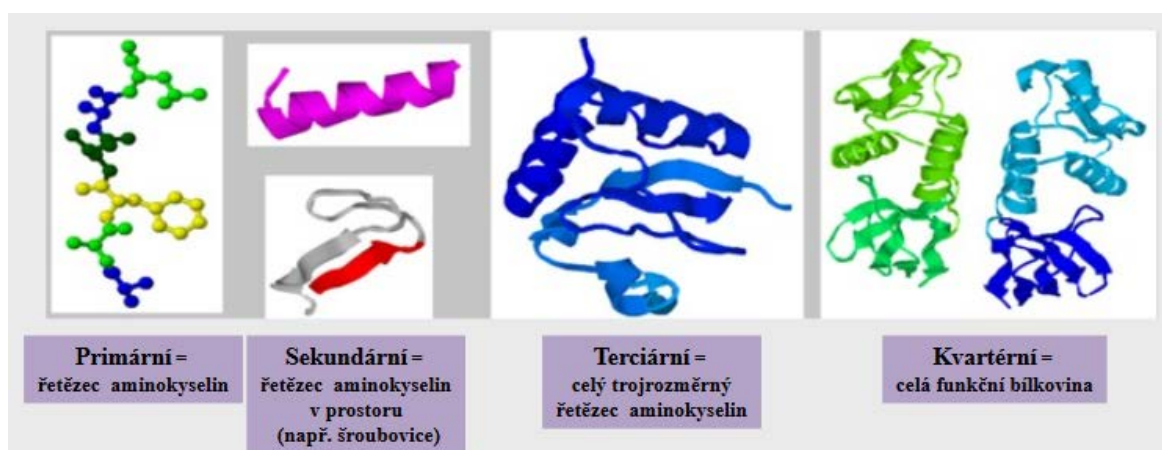
Rozlišujeme primární, sekundární, terciární a u některých složitějších proteinů ještě kvartérní strukturu bílkovinových řetězců.

Primární struktura - Pořadí aminokyselin v řetězci proteinu označujeme jako primární strukturu. Primární struktura udává chemické vlastnosti bílkoviny.

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

Terciární struktura - Tímto 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 - Kvartérní struktura řeší prostorové uspořádání bílkovin. Takovéto uspořádání vykazují jen složitější komplexy bílkovin.



Obrázek 7: Struktura bílkovin (cit. <http://slideplayer.cz/slide/11211150/>)

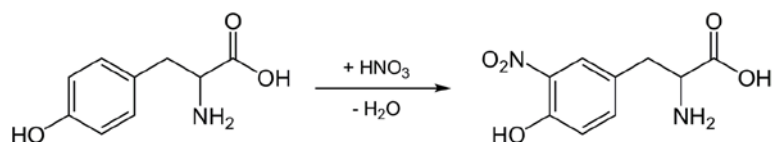
Úloha č. 3: DŮKAZ BÍLKOVIN / AMINOKYSELIN BIURETOVOU A XANTOPROTEINOVOU REAKCÍ

Biuretová reakce

Biuretová reakce je reakce, při níž se dokazuje bílkovina pomocí směsi roztoků hydroxidu sodného NaOH a síran měďnatého $CuSO_4$. Bílkovina se při důkazu zbarví modrofialově. Biuretovou reakcí dokážeme peptidové vazby, kterými se navzájem váží aminokyseliny. Ty tvoří v alkalickém prostředí se solemi mědi charakteristicky barevný komplex - biuret.

Xanthoproteinová reakce

Bílkovina poskytující pozitivní odezvu na xanthoproteinovou reakci musí mít aromatické jádro, jako mají např. tyrosin nebo tryptofan. Xanthoproteinová reakce je nitrací, zde je uveden nitrace tyrosinu.



Pomůcky:

filtrační papír, skleněná tyčinka, kádinka, zkumavky, vata, nálevka, kahan, kleště

Chemikálie:

voda, 0,1M NaOH, 0,05M CuSO₄ · 5H₂O, HNO₃

Vzorek:

vaječný bílek

Pracovní postup:

1. Vaječný bílek zředíte 1:2 vodou, důkladně promíchejte a filtrujte přes smotek vaty v nálevce.
2. Filtrát rozdělíte do dvou zkumavek. Složení obsahu zkumavek je uvedeno dále.
3. První zkumavka: 1 ml bílkového filtrátu, 1 ml 0,1M NaOH a 1 ml 0,05M CuSO₄ · 5H₂O, objeví se typické modrofialové zbarvení pro biuretovou reakci.
4. Druhá zkumavka: 2 ml bílkového filtrátu, 1 ml HNO₃ a opatrně zahříváte na vodní lázni do vzniku sraženiny. K sraženině opatrně přidejte zrnko NaOH, kdy nejprve dochází k neutralizační reakci mezi HNO₃ a NaOH, při nadbytku NaOH pozorujete vznik oranžového xantoproteinu.

Závěr:

Do protokolu uveďte pozorování.

Úloha č. 4: KYSELÁ HYDROLÝZA BÍLKOVIN (denaturace kolagenu na klíž)

Kolagen je složitá bílkovina, tvořící cca. 25 – 30 % hmotnosti kostí a cca. 36 % hmotnosti kůží. Kostí a kůže jsou tedy hlavními surovinami pro výrobu klížů a želatin, což jsou v obou případech denaturovaný kolagen. Želatina více zachovánu molekulovou hmotnost a vyšší čistotu. Klíž má více odbouranou molekulovou hmotnost 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 krok technologie časově náročný, vyjdeme z průmyslově vyrobeného kolagenu.

Pomůcky:

Varná baňka 250 ml, zpětný chladič, míchadlo, pipeta, odměrný válec 100 ml, topné hnízdo olejkové s regulací teploty lázně, Petriho misky,

Vzorky:

Průmyslově vyrobený kolagen

Chemikálie:

Koncentrovaná H₂SO₄, 2 M roztok NaOH, 2 M H₂SO₄, univerzální indikátorový papírek.

Pracovní postup:

1. Připravíme suspenzi 5 g průmyslového kolagenu v 150 ml vody ve varné baňce.
2. K suspenzi přidáme 5 kapek koncentrované H₂SO₄.
3. Za stálého míchání zahříváme 30 minut ve varné baňce.
4. Obsah v baňce necháme vychladnout na laboratorní teplotu a zneutralizujeme 2 M roztok NaOH, indikace univerzálním indikátorovým papírkem.
5. 10 ml vychladnutého roztoku nalijeme do Petriho misky.
6. Vznikne tzv. klížová galerta, podobná rosolu.
7. Pokud rosol nevznikne, vložíme roztok do rotační vakuové odparky a postupně snižujeme objem.
8. Po zmenšení objemu o cca. třetinu znovu zkusíme vytvořit tzv. klížovou galertu.
9. Postup opakujeme s tím rozdílem, že místo H₂SO₄ přidáme 10 ml 2 M roztok NaOH a po reakci neutralizujeme 2 M H₂SO₄.

Úloha č. 5: STANOVENÍ SLOŽENÍ A VLASTNOSTÍ AMINOKYSELIN / BÍLKOVIN

A. STANOVENÍ VOLNÝCH AMINOKYSELIN

Pomůcky:

spektrofotometr, dělené pipety 1 ml, 5 ml, vaříč, kádinka 500 ml, zkumavka se zátkou (10x), nálevka malá (10x), odměrná baňka

Chemikálie:

96 % ethanol, fosfátový tlumivý roztok (pH = 7, 2), roztok ninhydrinu, roztok komplexonu III

Roztok ninhydrinu (čerstvě připravený): do 50 ml odměrné baňky navažte 0, 2 g ninhydrinu, rozpustíte v 30 ml ethanolu, přikápněte 0, 4 ml kyseliny octové a doplňte po rysku ethanolem.

Roztok alaninu: Na analytických vahách navažte 1, 5 g alaninu (zaznamenejte přesnou navážku). Navážku kvantitativně převedte do 250 ml odměrné baňky, rozpustíte v destilované vodě, doplňte po rysku a promíchejte.

Vzorek:

Juice Toma Relax pomeranč (deklarovaný obsah bílkovin cca 0,6%)

Pracovní postup:

1. Kalibrační křivka alaninu:

- Postupně do 6 zkumavek se zátkou pipetujte 2 – 3 – 4 – 5 – 6 – 7 ml roztoku alaninu a doplňte destilovanou vodou vždy na objem 8 ml.
- Do každé zkumavky přidejte 3 ml fosfátového tlumivého roztoku, 1 ml ninhydrinového činidla.
- Obsah zkumavek promíchejte, do hrdla zkumavek vložte malé nálevky a všechny zkumavky ponořte na 10 min. do vroucí vodní lázně.
- Zkumavky poté opatrně vyjměte a ochlaďte ponořením do kádinky s ledovou vodou.
- Do každého vzorku přidejte 0,1 ml roztoku komplexonu III, 5 ml ethanolu a dobře promíchejte.
- Do 100 ml odměrných baněk z každé zkumavky postupně odeberte 1 ml temně modře zabarveného vzorku a destilovanou vodou doplňte po rysku.
- Změřte absorbanci na spektrofotometru při vlnové délce 570 nm oproti slepému pokusu.

2. Vzorek:

- Do zkumavky odpipetujte 3 ml juice a 5 ml destilované vody, přidejte 3 ml fosfátového tlumivého roztoku, 1 ml ninhydrinového roztoku, promíchejte.
- Do hrdla zkumavky vložte malou nálevku a celou zkumavku ponořte na 10 min. do vroucí vodní lázně. Obsah zkumavky ochlaďte v lázni s ledovou vodou.
- Ke vzorku přidejte 0, 1 ml roztoku komplexonu III a 5 ml ethanolu. Dobře promíchejte.
- Do 100 ml odměrné baňky odeberte 1 ml vzorku a destilovanou vodou doplňte po rysku.
- Změřte absorbanci na spektrofotometru při vlnové délce 570 nm oproti slepému pokusu.

3. Slepý pokus:

- Přípravu slepého vzorku provedte stejně jako přípravu vzorku reálného, pouze v bodě 1 místo 3 ml juice a 5 ml destilované vody pipetujte do zkumavky pouze 8 ml destilované vody.

Vyhodnocení a závěr:

Obsah aminokyselin (mg.l^{-1}) ve vzorku vypočtete podle vztahu:

$$w_N = \frac{m_a \cdot r}{V} 1000$$

Kde m_a ... množství alaninu odečtené z kalibrační křivky v mg,
 r ... stupeň zředění,
 V ... objem vzorku pipetovaný na stanovení v ml.

Jako výsledek uveďte graf závislosti absorbance na koncentraci alaninu při vlnové délce 570 nm (kalibrační křivku) s vyznačeným bodem odpovídající naměřené hodnotě reálného vzorku. Uveďte, kolik mg aminokyselin je přítomno v 1 l juice, porovnejte s hodnotou na obalu výrobku.

B. STANOVENÍ AKTIVNÍ KYSELOSTI MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Pomůcky:

pH-metr, kádinka 50 (4x) a 250 ml, třecí miska s tloučkem, odměrný válec 50 ml, Erlenmayerova baňka 250 ml se zátkou, vařič, teploměr do 100 °C, třepačka

Použitý vzorek:

mléko OLMA, smetana ke šlehání Kunín, acidofilní mléko, měkký tvaroh, sýr Lučina ...

Pracovní postup:

Stanovení provedte 3x u dvou vybraných vzorků.

1. Kapalný analyzovaný vzorek nalijte do 50 ml kádinky. Z pevného vzorku odvažte 10 g, přidejte 30 ml destilované vody a zhomogenizujte.
2. Elektrodu pH-metru ponořte do analyzovaného vzorku.
3. Po ustálení odečtěte hodnotu pH na stupnici přístroje.

Vyhodnocení a závěr:

Jako výsledek uveďte aritmetický průměr hodnot aktivní kyselosti obou vzorků. 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 – 6,7	Mléko sladké
6,3 – 6,4	Mléko nakyslé
5,4 – 6,2	Mléko kyselé
6,8 – 7,1	Mléko pravděpodobně ředěné vodou či s přidávkem alkálií, nebo mléko od nemocných dojnic, 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

C. STANOVENÍ KYSELOSTI KASEINU

Pomůcky:

Erlenmayerova baňka 250 ml, odměrný válec 25 a 100 ml, nálevka střední (2x), magnetické míchadlo s vyhříváním, teploměr s rozsahem do 100 °C.

Chemikálie:

0,15M NaOH, 1% roztok fenolftaleinu, 0,1M HCl (připravený titrační roztok)

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách navažte 1 g kaseinu a vsypte jej do 250 ml Erlenmayerovy baňky.
2. Přidejte 25 ml 0,15M roztoku NaOH. Mírně zahřívejte (40 °C) do úplného rozpuštění.
3. Po rozpuštění přidejte pár kapek 1% fenolftaleinu a titrujte 0,15M HCl do odbarvení.

Vyhodnocení a závěr:

Kyselost kaseinu lze vyjádřit jako počet mililitrů odměrného roztoku 0,1M NaOH potřebný na neutralizaci kyselých složek v 1 g kaseinu. Stanovení proveďte třikrát a výsledek uveďte jako aritmetický průměr získaných hodnot.

Poznámka: Kasein vyrobený z mléka má kyselost v rozmezí 8,8 – 13 ml 0,1 mol.l⁻¹ NaOH; kasein v sýru má kyselost 1,6 – 2,8.

Jako výsledek uveďte vypočtený aritmetický průměr jednotlivých titrací.

D. STANOVENÍ OBSAHU TUKU V KASEINU

Pomůcky:

odměrný válec 10 a 100 ml, nálevka střední (2x), Erlenmayerova baňka 50 ml, kádinka 100 ml (2x), dělicí 150 ml (2x), varná baňka 250 ml, teploměr s rozsahem do 100 °C, vařič

Chemikálie:

37 % HCl, 96 % ethanol, petrolether

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 přilijte do dělicí baňky a poté ještě jednou vypláchněte petroletherem (50 ml), který taktéž přilijte do dělicí baňky.
6. Obsah dělicí baňky důkladně protřepejte (nezapomeňte na možnost 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 vodní lázni. Zbytek petroletheru dosušte v sušárně na chemikálie při 80 °C.
9. Po vychladnutí baňky v exsikátoru ji zvažte.

Vyhodnocení a závěr:

Obsah tuku v kaseinu v % hm.:

$$\text{tuk v kaseinu} = \frac{\text{hmotnost izolované hotuky v gramech}}{\text{hmotnost navážky vzorku kaseinu v gramech}} \cdot 100$$

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

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

Vyhodnocení a závěr:

Obsah popela v kaseinu v % hm.:

$$\text{obsahpopela} = \frac{\text{hmotnostpopelavgramech}}{\text{navážkavzorkukaseinuvgramech}} \cdot 100$$

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

Poznámka: Dobrý kasein má obsah popela do 2 %.

F. ORIENTAČNÍ STANOVENÍ VISKOSITY KASEINU

Pomůcky:

odměrný válec 5 a 50 ml, nálevka, kádinka 150 a 400 ml, teploměr s rozsahem do 100 °C, skleněná tyčinka, stopky

Chemikálie:

kasein, 27 % NH₃

Pracovní postup:

1. Do 150 ml kádinek navažte 2, 4, 6, 8 a 10 g kaseinu (s přesností na 0,1 g), přidejte 20 ml vody a 2 ml NH₃.
2. Pracujte v digestoři.
3. Směsi za neustálého míchání skleněnou tyčinkou zahřívejte ve vodní lázni na teplotu 60 °C do úplného rozpuštění kaseinu.
4. Připravte si 5 byret, do nichž nalijte ještě teplý kaseinový roztok. Pracujte rychle (všechny roztoky by měly být přibližně stejně teplé).
5. Pomocí stopek stanovte časy, než vyteče vždy 10 ml kaseinového roztoku.
6. Zbytky kaseinového roztoku vylijte z byret, ochlaďte na 30 °C a senzorycky vyhodnoťte.

Vyhodnocení a závěr:

Jako výsledek uveďte graf závislosti koncentrace kaseinového roztoku na době výtoku z byrety.

Popište vzhled a chování jednotlivých zchladlých roztoků kaseinu.

G. 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 šťavelanu draselného, 0,143M NaOH, zneutralizovaný formaldehyd, 0,0025% roztok fuchsínu, mléko

Pracovní postup:

1. Do titrační baňky pomocí odměrného válce nalejte 50 ml mléka, přikápněte 0,5 ml roztoku fenolftaleinu a 2 ml roztoku šťavelanu draselného. Obsah baňky promíchejte a nechte 2 minuty odstát.
2. Roztok v baňce zneutralizujte 0,143M NaOH a přidejte 10 ml zneutralizovaného formaldehydu. Obsah baňky promíchejte a nechte opět 2 minuty odstát.
3. Odbarvený roztok titrujte 0,143M NaOH do barvy srovnávacího roztoku.
4. Srovnávací roztok připravte to druhé titrační baňky. K 50 ml mléka přidejte 3 ml roztoku fuchsínu a promíchejte.
5. Stanovení proved'te třikrát.

Vyhodnocení a závěr:

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

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

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

H. 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 šťavelanu draselného, 0,143M NaOH, zneutralizovaný formaldehyd, 5% roztok CoSO₄, mléko

Pracovní postup:

1. Do titrační baňky pomocí odměrného válce nalejte 25 ml mléka, přikápněte 0,5 ml roztoku fenolftaleinu a 1 ml roztoku šťavelanu draselného. Obsah baňky promíchejte a nechte 2 minuty odstát.
2. Roztok v baňce zneutralizujte 0,143M NaOH a přidejte 5 ml zneutralizovaného formaldehydu. Obsah baňky promíchejte a nechte opět 2 minuty odstát.
3. Odbarvený roztok titrujte 0,143M NaOH do barvy srovnávacího roztoku.
4. Srovnávací roztok připravte to druhé titrační baňky. K 25 ml mléka přidejte 1 ml roztoku šťavelanu draselného a 0,5 ml roztoku CoSO₄, promíchejte.
5. Stanovení proveďte třikrát.

Vyhodnocení a závěr:

Spotřeba 0,143M NaOH při stanovení bílkovin metodou dle Schulzeho udává tzv. bílkovinný titr, tedy přímo procentuální zastoupení bílkovin ve vzorku mléka.

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

Úloha č. 6: VÝROBA GALALITU Z KASEINU

Pomůcky:

kádinky 100, 150 a 2 x 600 ml, Petriho miska, sítko, plátěný kapesník, lžička, rukavice

Chemikálie:

mléko, komerční kasein, ocet, formaldehyd

Pracovní postup:

1. Odměřte v kádince 100 ml octa a 150 ml mléka, obě kapaliny slejte 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 vhoďte do 1% roztoku 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 roztoku formaldehydu a nechte vytvrzovat v uzavřené Petriho misce do dalšího cvičení. Třetí knoflík nechte vyschnout pouze za laboratorní teploty.

Vyhodnocení a závěr:

Vzájemně porovnejte vzhled a tvrdost materiálu.

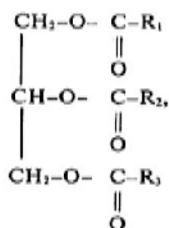
TUKY, OLEJE, VOSKY

Kapitolu tuky, oleje a vosky jsou do cvičení zařazeny proto, že hrají významnou úlohu v oblasti chemie restaurování a konzervování, podléhají vlivu kyslíku, teploty a UV záření, což katalyzuje polymerační proces, tzv. vysychání.

Tuky, jinak 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 známé vosky patří včelí vosk, lanolín, vorvaňovina, karnaubský vosk atd.



Obrázek 8: Obecný vzorec olejů a tuků

Úloha č. 7: TUKOVÉ CHARAKTERISTIKY

A. PEROXIDOVÉ ČÍSLO

Přístroje a pomůcky:

250 ml Erlenmayerova baňka + zátka (3x), odměrný válec 50 ml, 5 ml, pipeta 1 ml, lžička, nálevka, odměrná baňka 100 ml se zátkou, kádinka 10 ml, vaříč, teploměr.

Chemikálie a roztoky:

Chloroform, Kyselina octová, Roztok KI – 5 g KI se rozpustí v 5 ml vody (připravuje se čerstvý), Indikátor škrobový maz (zásobní roztok), Odměrný roztok thiosíranu sodného, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,002 \text{ mol.l}^{-1}$ (připravený titrační roztok)

Použitý vzorek:

máslo, margarin, pokrmový tuk, sádlo...

Pracovní postup:

Stanovení se provede 2x u stejného vzorku.

1. Do 100 ml odměrné baňky připravte 75 ml směsi chloroformu a kyseliny octové v poměru 1 : 1,5

- Do Erlenmayerovy baňky navažte cca 8 g vzorku s přesností na 0,0001 g.
 - Přilejte 25 ml směsi chloroform – kyselina octová a opatrně (na vařiči nastavte nízký stupeň topného výkonu) zahřejeme na teplotu nepřekračující 40 °C a zahřívejte při této teplotě, až dojde k rozpuštění vzorku.
 - Přidejte (pipetou) 1 ml roztoku KI, baňku zazátkujte, mírně promíchejte a uložte na tmavé místo na 20 minut.
 - Přidejte 50 ml destilované vody a promíchejte.
 - Přidejte 5 ml škrobového mazu a promíchejte.
 - Obsah baňky titrujte za míchání odměrným roztokem 0,002M thiosíranu sodného do odbarvení vrchní (vodní) vrstvy. Pokud je spodní vrstva fialová, baňka se uzavře a v tukové vrstvě přítomný jód se protřepáním uvolní do vodní vrstvy. Tato vrstva se poté ještě podle potřeby titruje do trvalého odbarvení.
- 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.

Vyhodnocení:

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

$$P\check{C} = \frac{(a-b)}{n} c f 8 1000$$

- kde je a ... spotřeba odm. roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ($c = 0,002 \text{ mol.l}^{-1}$) na vlastní stanovení v ml,
 b ... spotřeba odm. roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ($c = 0,002 \text{ mol.l}^{-1}$) na slepý pokus v ml,
 c ... koncentrace odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ v mol.l^{-1} ,
 f ... faktor odměrného roztoku $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$,
 n ... navážka zkušební vzorku v g.

Závěr:

Peroxidové číslo se vyjádří aritmetickým průměrem ze dvou souběžných stanovení. Do protokolu se také uvede popis použitého vzorku na stanovení.

B. JODOVÉ ČÍSLO

Přístroje a pomůcky:

Vařič, odměrný válec 25 ml, 100 ml, kádinka 150 ml, 300 ml Erlenmayerova baňka se zátkou (3x), lžička, nálevka, pipeta 1 ml

Chemikálie a roztoky:

Chloroform, $0,1 \text{ mol.l}^{-1}$ roztok jódmonobromidu (Hanušovo činidlo) (zásobní roztok), 20 % roztok KI (zásobní roztok), Indikátor škrobový maz (zásobní roztok), Odměrný roztok thiosíranu sodného, $c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3) = 0,1\text{N}$ (zásobní roztok)

Použitý vzorek:

máslo, margarin, pokrmový tuk, sádlo...

Pracovní postup:

Stanovení se provede 2x u stejného vzorku.

- Do Erlenmayerovy baňky navažte s přesností na 0,0001 g 1 g zkušební vzorku.
- Přidejte 25 ml chloroformu a nechte rozpustit; rozpouštění lze urychlit mírným zahřátím).
- Přidejte 25 ml roztoku jódmonobromidu, baňku uzavřeme, obsahem míchejte a baňku uložte do tmy na 1 hodinu
- Poté přidejte 20 ml roztoku jodidu draselného, a 100 ml vody.
- Obsah baňky titrujte za stálého míchání 0,2M odměrným roztokem thiosíranu sodného do oranžového (oranžovo-žlutého) zabarvení.
- Přidáme 1 ml škrobového mazu a titrujte až do odbarvení.

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

Vyhodnocení:

Jodové číslo (JČ) je dáno vztahem:

$$J\check{C} = \frac{(a-b) f c 12,692}{n}$$

kde je a ... spotřeba odm. roztoku Na₂S₂O₃ na slepý pokus v ml
 b ... spotřeba odm. roztoku Na₂S₂O₃ na vlastní stanovení v ml
 f faktor odměrného roztoku Na₂S₂O₃
 c.... koncentrace odměrného roztoku Na₂S₂O₃
 n ... navážka zkušební vzorku v g.

Závěr:

Jodové číslo se vyjádří aritmetickým průměrem ze dvou souběžných stanovení.
 Do protokolu se také uvede popis použitého vzorku na stanovení.

C. ČÍSLO KYSELOSTI

Pomůcky:

vaříč, kovová špachtle, odměrný válec 50 ml, kádinka 150 a 250 ml Erlenmayerova baňka (2x), lžička, nálevka

Chemikálie a roztoky:

96% ethanol, 3% ethanolický roztok KOH, 0,1M ethanolický roztok KOH, chloroform, 1% ethanolický roztok fenolftaleinu

Použitý vzorek:

sádlo, rostlinný olej, máslo

Pracovní postup:

1. Na analytických vahách odvažte 20 g vzorku a kvantitativně převed'te do 250 ml Erlenmayerovy baňky.
2. V kádince slijte 50 ml ethanolu a 50 ml chloroformu. Směsný roztok neutralizujte na fenolftalein do slabě růžového zabarvení pomocí 3 % ethanolického roztoku KOH.
3. Zneutralizovaný roztok vlijte ke vzorku a obsah baňky v digestoři opatrně zahřejte k varu.
4. Přidejte 5 kapek fenolftaleinového roztoku a titrujte ještě zahorka 0,1M ethanolickým roztokem KOH do růžovofialového zabarvení trvajícího nejméně 30s.
5. Stanovení proveďte třikrát.

Vyhodnocení a závěr:

Číslo kyselosti (ČK) lze stanovit jako hmotnost KOH (v mg) potřebná k neutralizaci 1 g vzorku.

$$\check{C}K = \frac{a c M}{n}$$

kde je a ...spotřeba odměrného roztoku 0,1M KOH v ml,
 c ... koncentrace odměrného roztoku KOH (c = 0,1 mol.l⁻¹),
 M ... molární hmotnost KOH v g.mol⁻¹,
 n ... navážka 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 ČK 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

Přístroje a pomůcky:

Vaříč, kovová špachtle, 250 ml Erlenmayerova baňka (3x), odměrný válec 50 ml, zpětný chladič (2x), pipeta 25 ml, lžička, nálevka, varné kuličky.

Chemikálie a roztoky:

Ethanolický roztok KOH, $c(\text{KOH}) = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ (zásobní roztok), Roztok HCl, $c(\text{HCl}) = 0,5 \text{ mol.l}^{-1}$ (zásobní roztok), 1 % roztok fenolftaleinu v ethanolu (zásobní roztok)

Použitý vzorek:

sádlo, olej, pokrmový tuk.

Pracovní postup:

Stanovení se provede 2x u stejného vzorku.

1. Do Erlenmayerovy baňky se navažte s přesností na 0,001 g cca 3 g zkušební vzorku.
2. Pipetou přidejte 25 ml roztoku KOH a několik varných kamínků.
3. Na baňku připojte zpětný chladič a vařte 1 hodinu.
4. Poté k horkému roztoku přidejte cca 5 kapek indikátoru fenolftalein.
5. Za horka a za míchání titrujte 0,5 mol.l⁻¹ roztokem kyseliny chlorovodíkové do vymizení růžového (červeného) zbarvení.

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

Vyhodnocení:

Číslo zmydelnění (ČZ) v mg KOH na 1 g vzorku se vypočte podle vztahu:

$$\text{ČZ} = \frac{(V_0 - V_1) c f 56,1}{m},$$

kde je 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.

Závěr:

Číslo zmydelnění se vyjádří aritmetickým průměrem ze dvou stanovení.
Do protokolu se také uvede popis použitého vzorku na stanovení.

E. ČÍSLO ESTEROVÉ

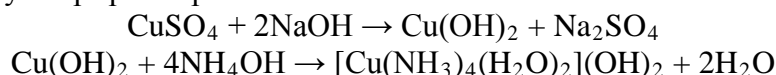
Číslo esterové udává počet mg KOH potřebného ke zmydelnění esterů v 1 g tuku.
Esterové číslo se vypočte z rozdílu čísla zmydelnění a čísla kyselosti: $\text{ČE} = \text{ČZ} - \text{ČK}$

MODERNÍ TRENDY V POLYMERNÍ CHEMII

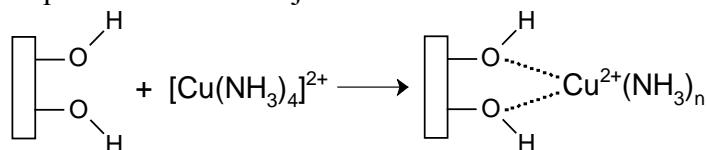
Současné trendy v oblasti polymerní chemie (přírodních i syntetických polymerů) se soustřeďují nejen na recyklaci polymerních materiálů, ale i na vytvoření nanostruktur či nahrazení původních materiálů.

Úloha č. 8: 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. 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 a roztoky:

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

Použitý 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 si 250 ml 5% vodného roztoku CuSO_4 . Pro lepší rozpouštění kádinku s obsahem zahřívejte.
2. Připravte si 50 ml 8% vodného roztoku NaOH.
3. Roztok NaOH přidejte k roztoku CuSO_4 . Jejich smísením vznikne modrá sraženina $\text{Cu}(\text{OH})_2$.
4. Sraženinu dekantujte destilovanou vodou alespoň 3x, čímž dojde k odstranění rozpustných solí. Sraženinu přefiltrujte 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 všechn $\text{Cu}(\text{OH})_2$ 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, pláště, odličovací tampónky, papírový kapesník aj.). 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.

2. Připravte 100 ml srážecího roztoku. K destilované vodě přikapávejte kyselinu sírovou až do získání kyselého roztoku o pH 2 - 3 (pH kontrolujte pomocí indikátorového papírku)
3. Směs Schweizerova činidla s rozpuštěnou celulózu natáhněte do injekční stříkačky s jehlou a hadičkou. Roztok pomalu vkapávejte do srážecího roztoku.
4. V kyselém roztoku vznikají vlákna měďnatého hedvábí.
5. Vysrážená vlákna odfiltrujte na fritě (Büchnerově nálevce), vysušte 2 h při 150 °C v sušárně a pak zvažte.

Závěr:

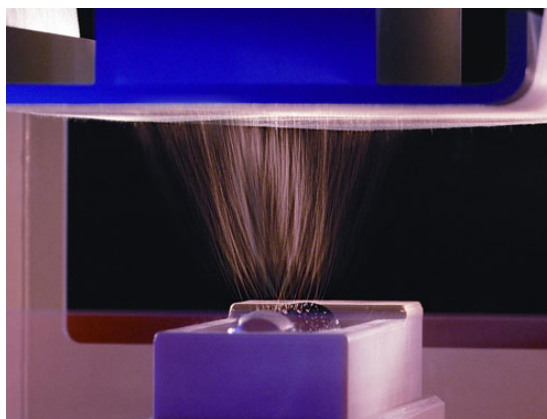
Uveďte vlastní pozorování průběhu reakce, popište výsledný produkt. Uveďte hmotnost vysrážených vláken a procentuální výtěžek vzhledem k původní navážce a vzhledem k rozpuštěné celulóze. Uveďte veškeré potřebné výpočty.

Úloha č. 9: 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. emitor) 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 zvlákňovatelnosti 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 zvlákňovatelnost.



Obrázek 9, 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 umístíte na elektromagnetickou míchačku, uzavřete zátkou a nechte granulát PLA rozpouštět do dalšího cvičení.
3. Samotné zvlákňování roztoku proved'ete na UFE P'řF 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. Vystříhnete navlákněný vzorek netkané textilie společně s nosnou textilií, nechte na vzduchu proschnout.
8. Pomocí SEM popište nanovláčenou 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. 10: 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 tiskárny 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. podpurných konstrukcí (u technologie FDM) nebo vyčištěním (jiné technologie). 3D tisk materiálem kyselinou polymléčnou (PLA) bude realizovaný v rámci exkurze na CEITEC VUT.