

# **PŘÍRODNÍ POLYMERY**

## **Identifikace přírodních látek**

**RNDr. Ladislav Pospíšil, CSc.**

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

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

# **1. Barevné reakce**

# **2. Bod tání**

# **3. Dělicí metody**

## **1. Destilace**

## **2. Chromatografie**

## **3. Elektroforéza**

# **4. Spektroskopické metody**

## **1. Hmotová spektroskopie**

## **2. FTIR spektroskopie**

## **3. NMR spektroskopie**

# **Základní problémy analýzy přírodních látek (polymerů)**

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

# Barevné reakce

Tabulka 12 Barevné reakce pojiv

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

# Bod tání

Podle chování při zahřátí je možné při pozorování pod mikroskopem rozoznat jednotlivá pojiva podle postupného tavení<sup>46</sup>:

vosky – od 50 do 100 °C,

pryskyřice – od 120 °C,

polymerované oleje – od 160 °C,

žloutek – od 200 °C.

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

# Dělicí metody

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

# Dělicí metody - Destilace

- **Nevýhody:**

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

- **Výhody:**

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



# Dělicí metody - Chromatografie

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

# Chromatografie – základní metody

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

# Chromatografické pojmy

**Analyty** – složky vzorku, které mají být chromatograficky rozděleny

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

**Chromatograf** – přístroj sloužící k chromatografické separaci složek vzorku

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

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

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

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

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

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

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

# **Rozdělení chromatografických metod podle uspořádání**

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

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

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

# Rozdělení chromatografických metod podle mobilní fáze

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

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

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

# Rozdělení kapalinové chromatografie podle principu dělení

adsorpční chromatografie - stacionární fáze je adsorbent.

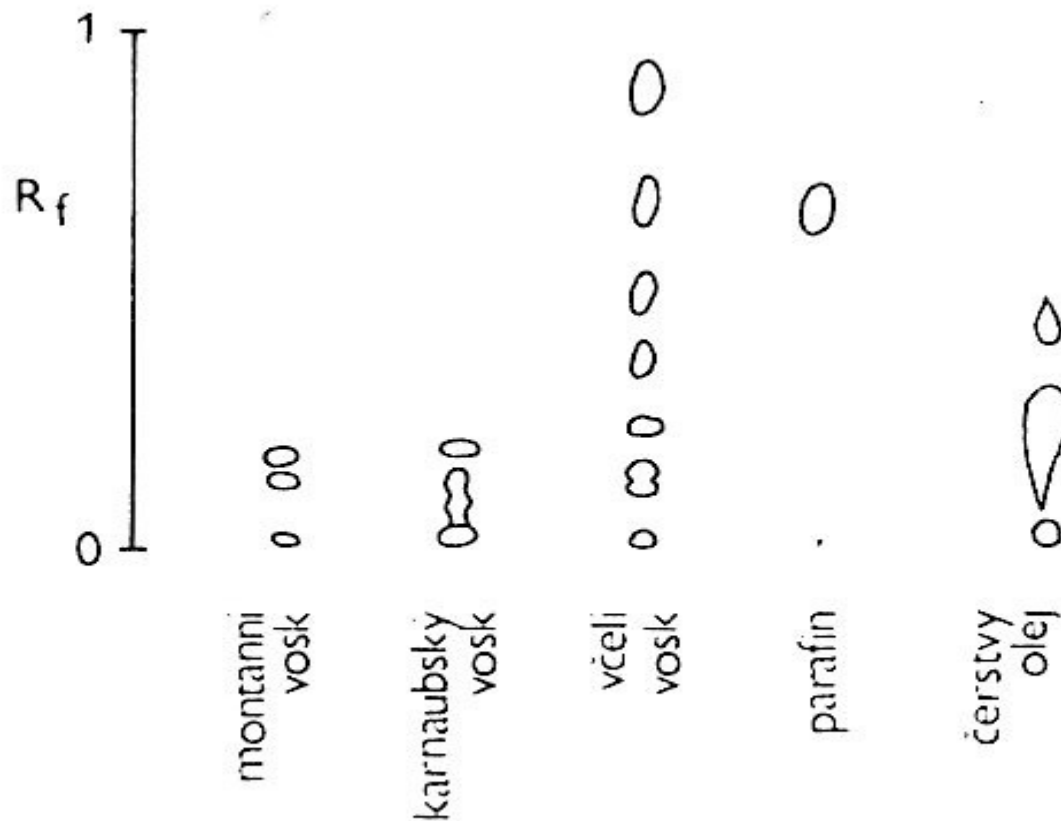
iontová chromatografie - stacionární fáze je ionex.

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

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

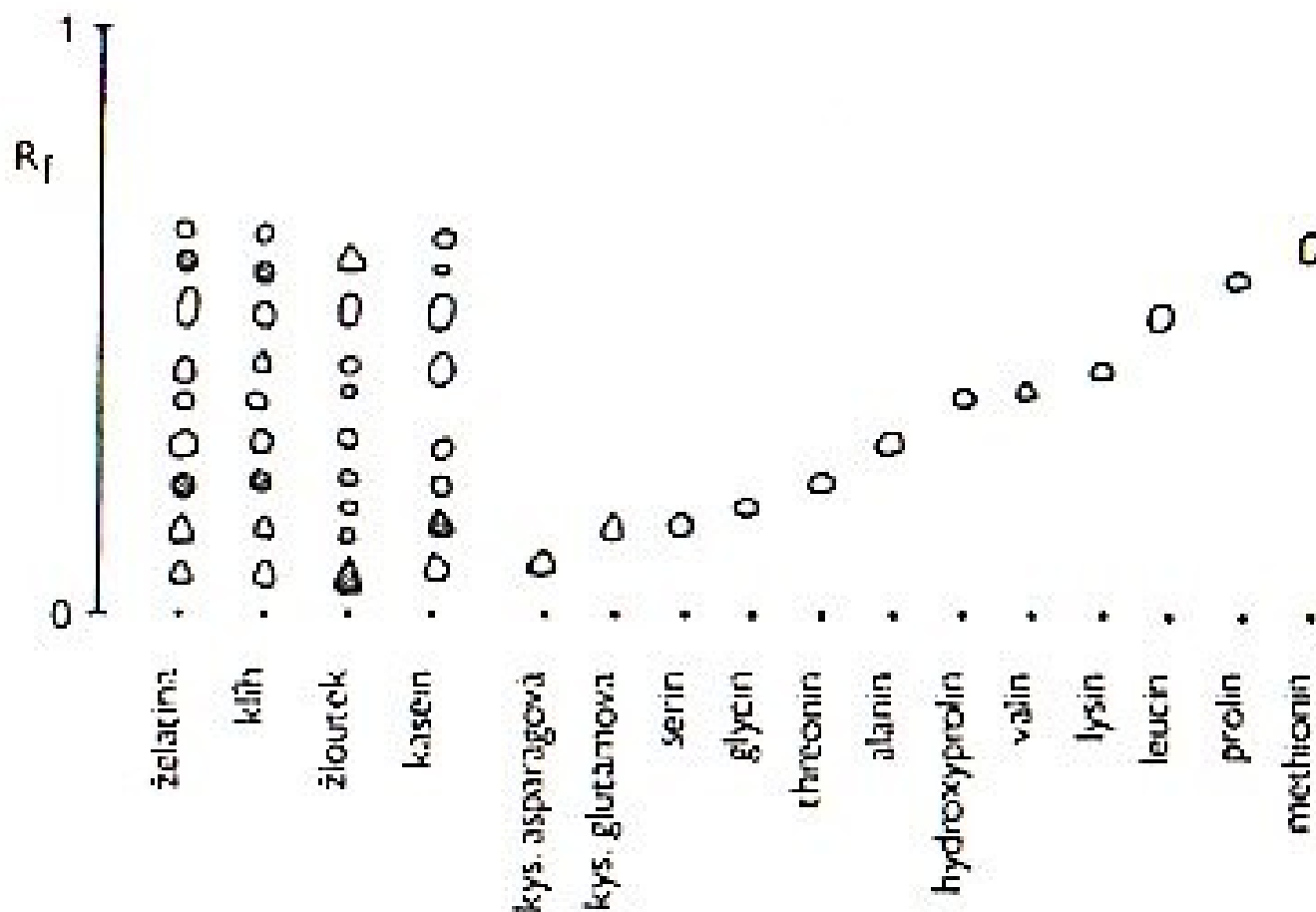
rozdělovací chromatografie - o separaci rozhoduje různá rozpustnost složek vzorku v stacionární a mobilní fázi

# TL Chromatografie – bez předúpravy látky (např. hydrolýzou)



Obr. 22 Tenkovrstvý chromatogram vosků <sup>50</sup>.

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



Obr. 21 Tenkovrstvý chromatogram hydrolyzátů proteinů a příslušných aminokyselin<sup>10</sup>.

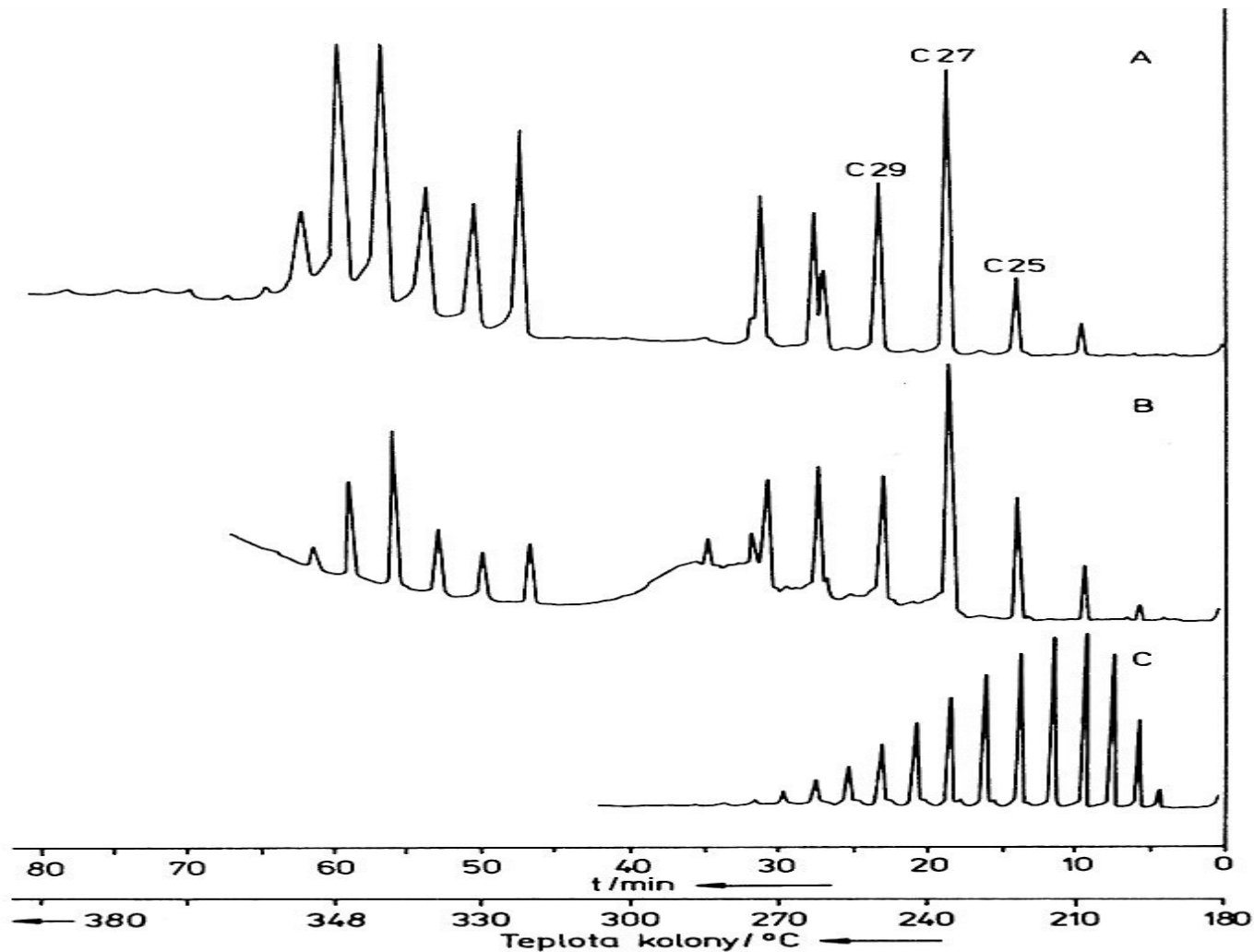


# Aminokyseliny v různých proteinech *(bylo už v přednášce minulé)*

Tabulka 13 Obsah aminokyselin v různých proteinech<sup>60</sup>

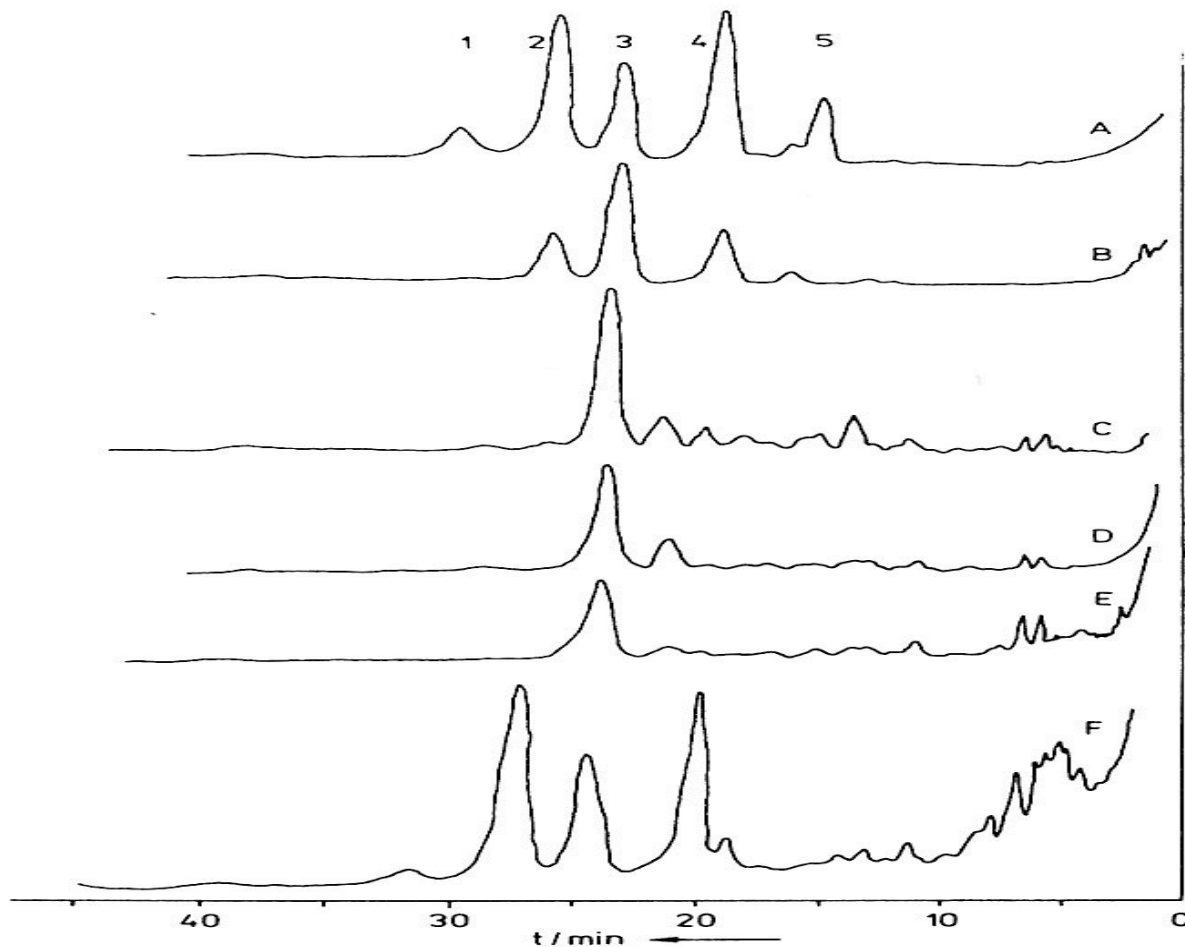
Aminokyselina	Protein			
	želatina	kasein	vaječný bílek	vaječný žloutek
	(mol. %)			
hydroxyprolin	6	0	0	0
asparagová kys.	4	6	10	11
threonin	2	3	4	6
serin	4	5	7	11
glutamová kys.	7	18	12	13
prolin	12	15	5	5
glycin	35	3	6	6
alanin	12	4	9	8
valin	2	8	9	7
1/2 cystin	0	0	2	2
methionin	1	2	1	2
isoleucin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

# GC vosků po zmýdelnění a methylaci kyselin na methylestery



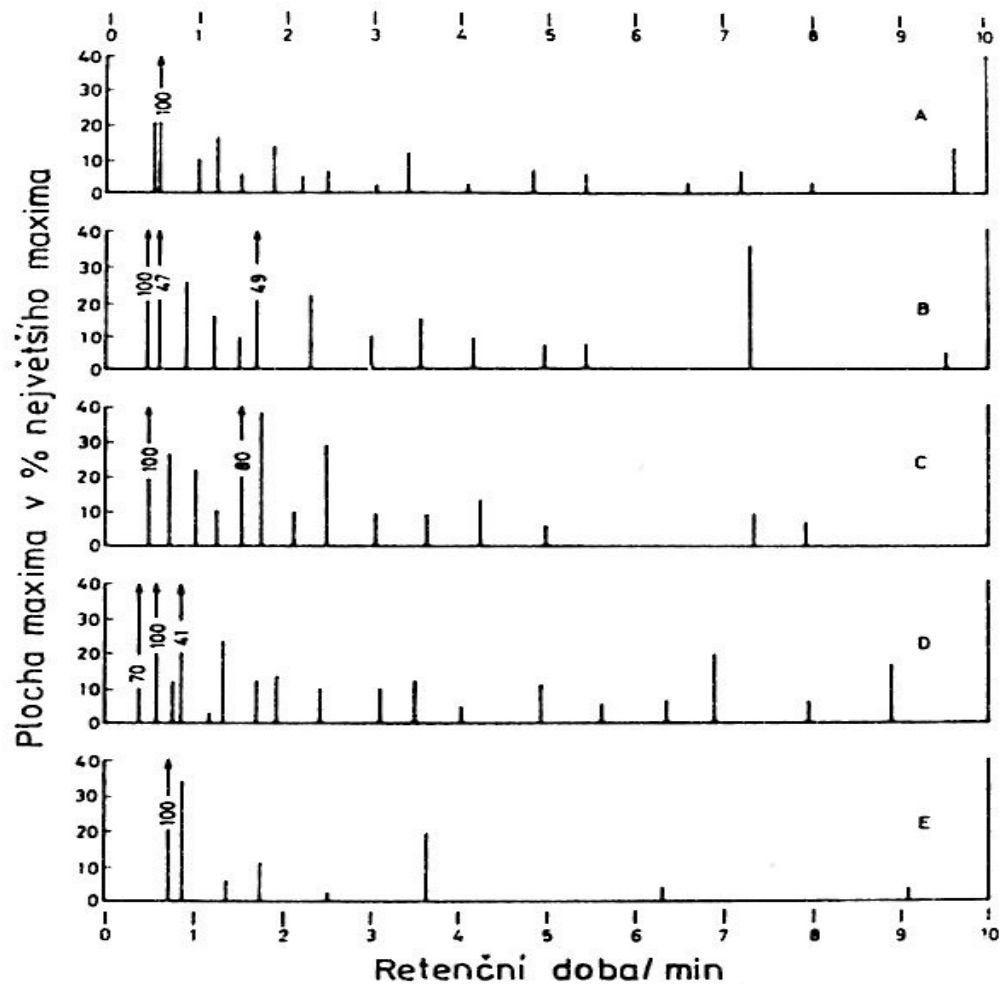
Obr. 23 Plynový chromatogram vosků<sup>29</sup>. A – včelí vosk, B – punský vosk, C – ceresin.

# GC pryskyřic po zmýdelnění a methylaci kyselin na methylestery



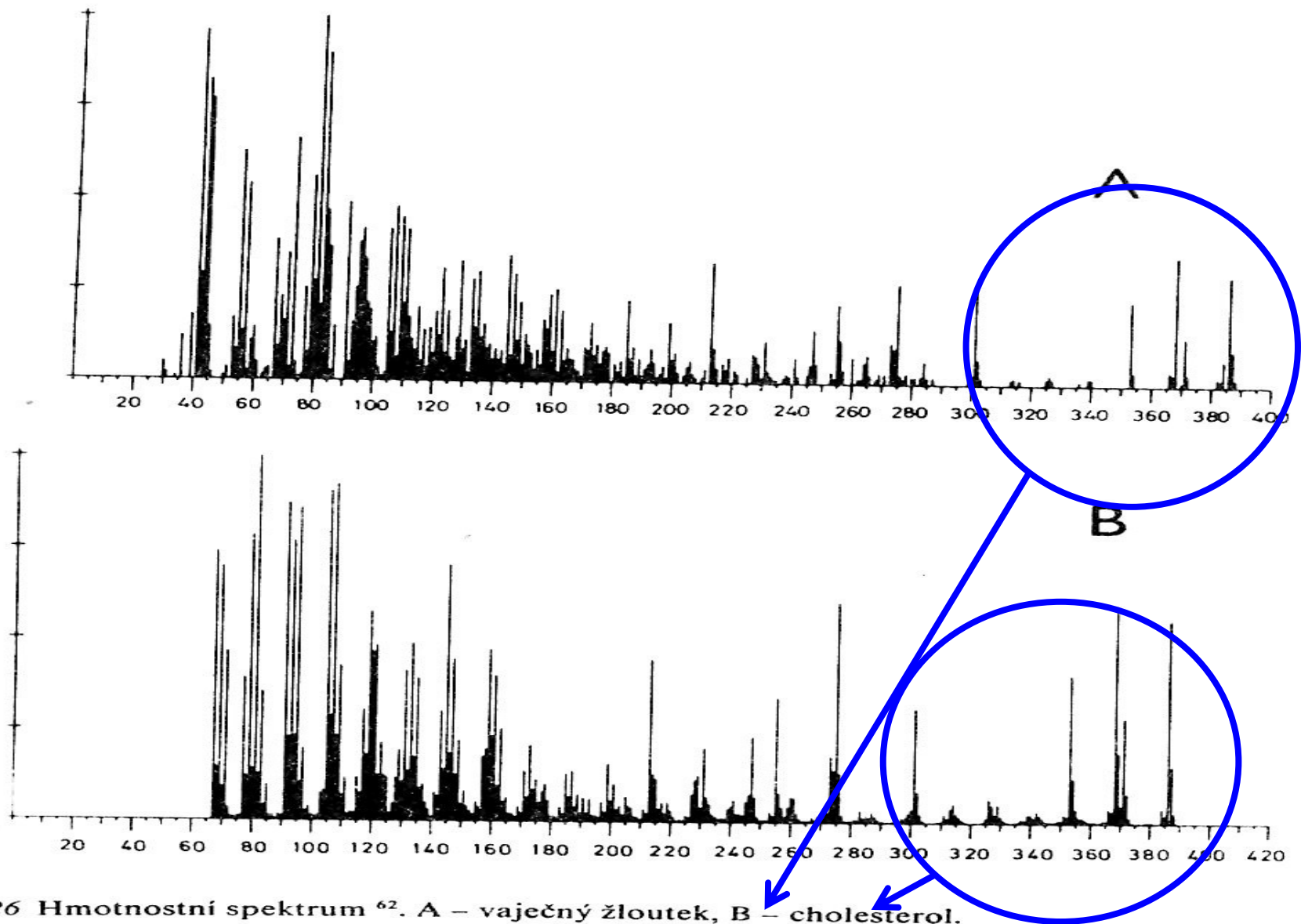
24 Plynový chromatogram pryskyřic <sup>35</sup>. A – kalafuna, B – pryskyřičné pojivo z oltáře Santo Stefano v Benátkách, C – pryskyřičné pojivo mozaiky ze 4. st. n.l., D – dehet z dřevěného uhlí, E – kalafuna zahřívána 15 minut na 300–350 °C, F – pryskyřičné pojivo z válečné lodi ze 3. st. př.n.l. 1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

# GC poživ po pyrolýze při 600 °C



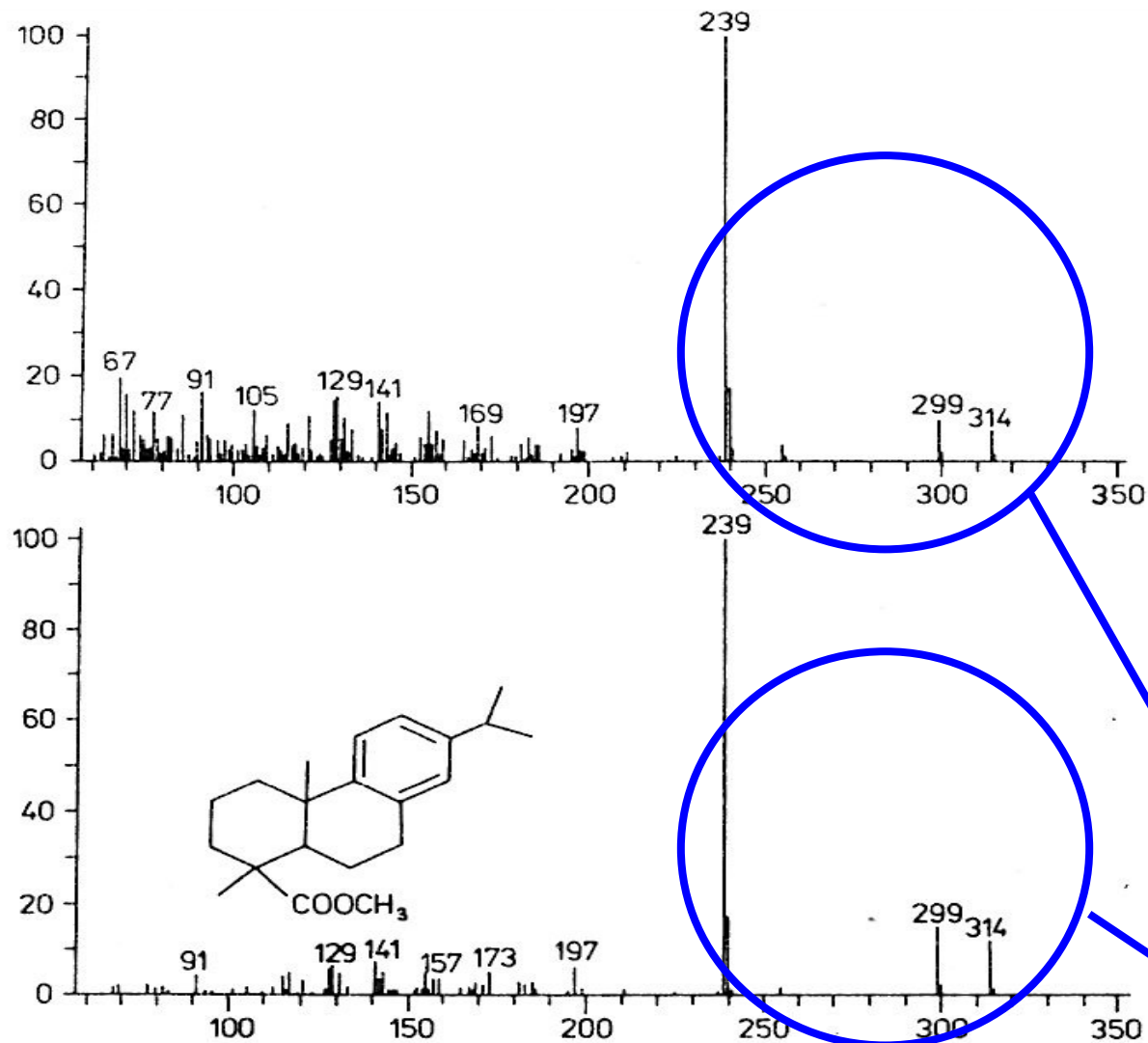
Obr. 25 Pyrogramy poživ <sup>61</sup>. A – lněný olej, B – vaječný bílek, C – želatina, D – mastix, E – dama-ra.

# GC & hmotová spektroskopie 1



Obr. 26 Hmotnostní spektrum <sup>62</sup>. A – vaječný žloutek, B – cholesterol.

# GC & hmotová spektroskopie 2



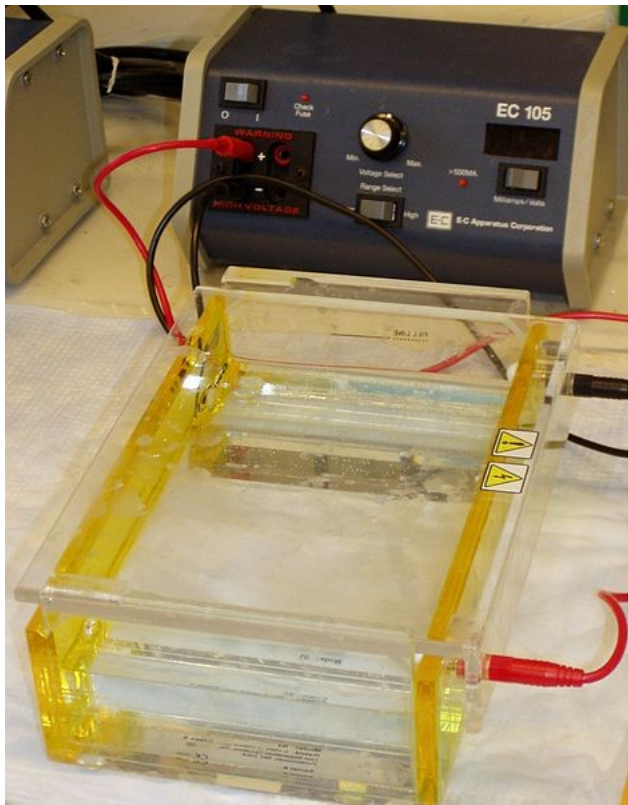
Obr. 27 Hmotnostní spektrum <sup>63</sup>. A – část spektra pojiva z obrazu P. Veronese (1570), B – methyl-ester kyseliny dehydroabietové.

# Elektroforéza

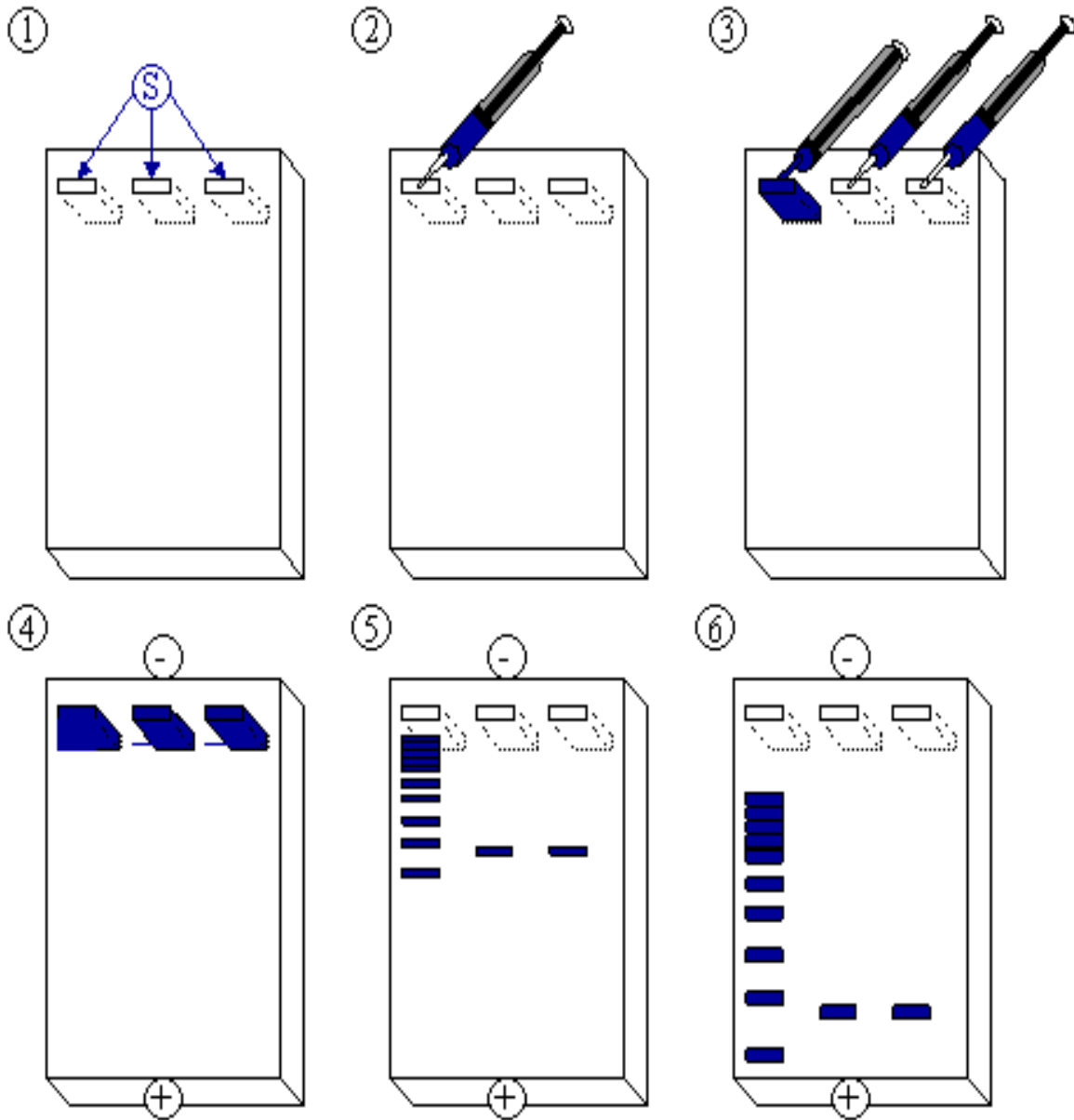
- **Elektroforéza** je soubor separačních metod, které využívají k dělení látek jejich odlišnou pohyblivost ve stejnosměrném elektrickém poli. Na principu rozdílných elektroforetických mobilit se při ní dělí nabitě molekuly (ionty).
- V roce 1892 bylo publikováno, že anorganické částice v koloidním roztoku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

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





# Elektroforéza



# FTIR spektroskopie

- **Výhody:**

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

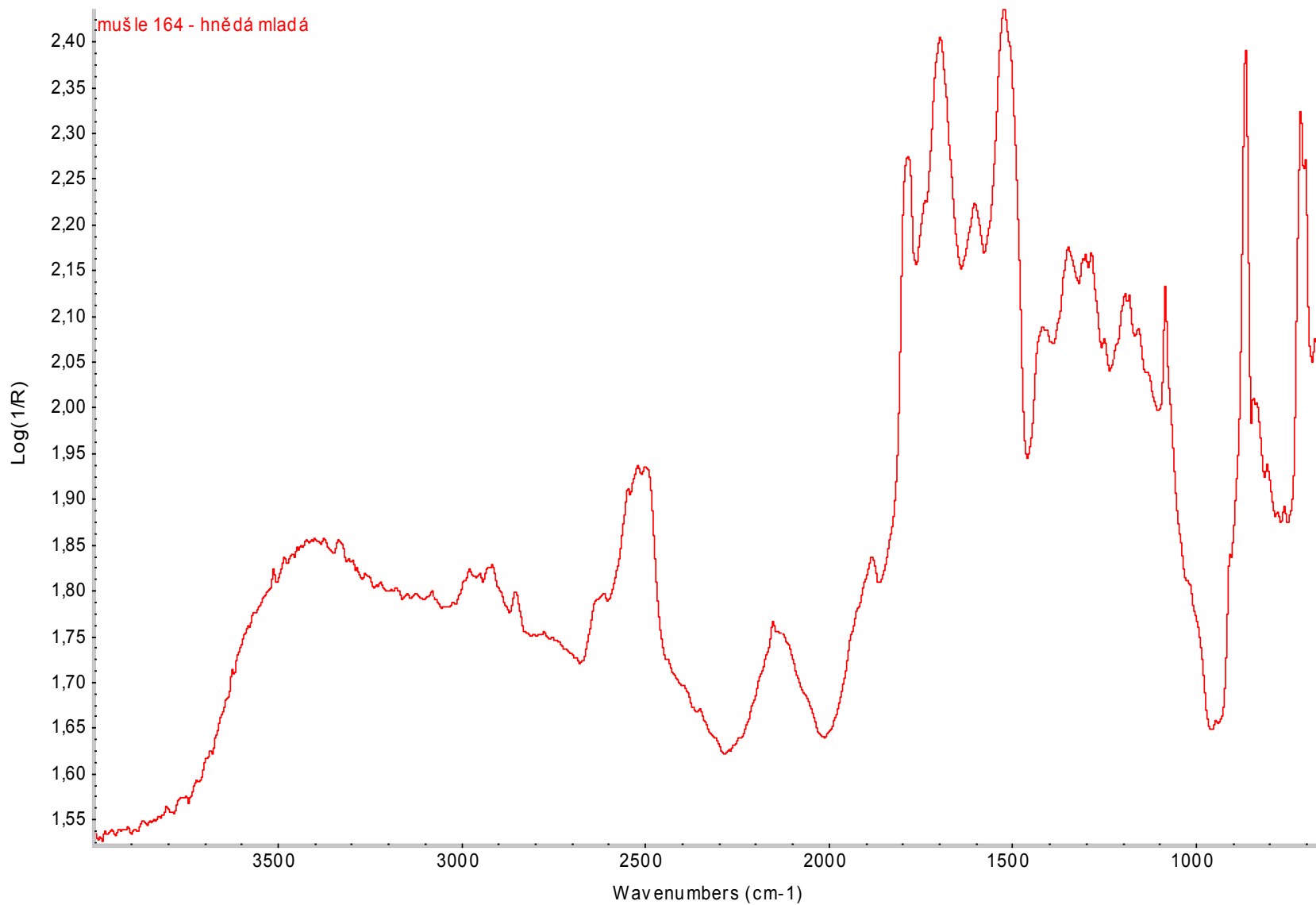
- **Nevýhody:**

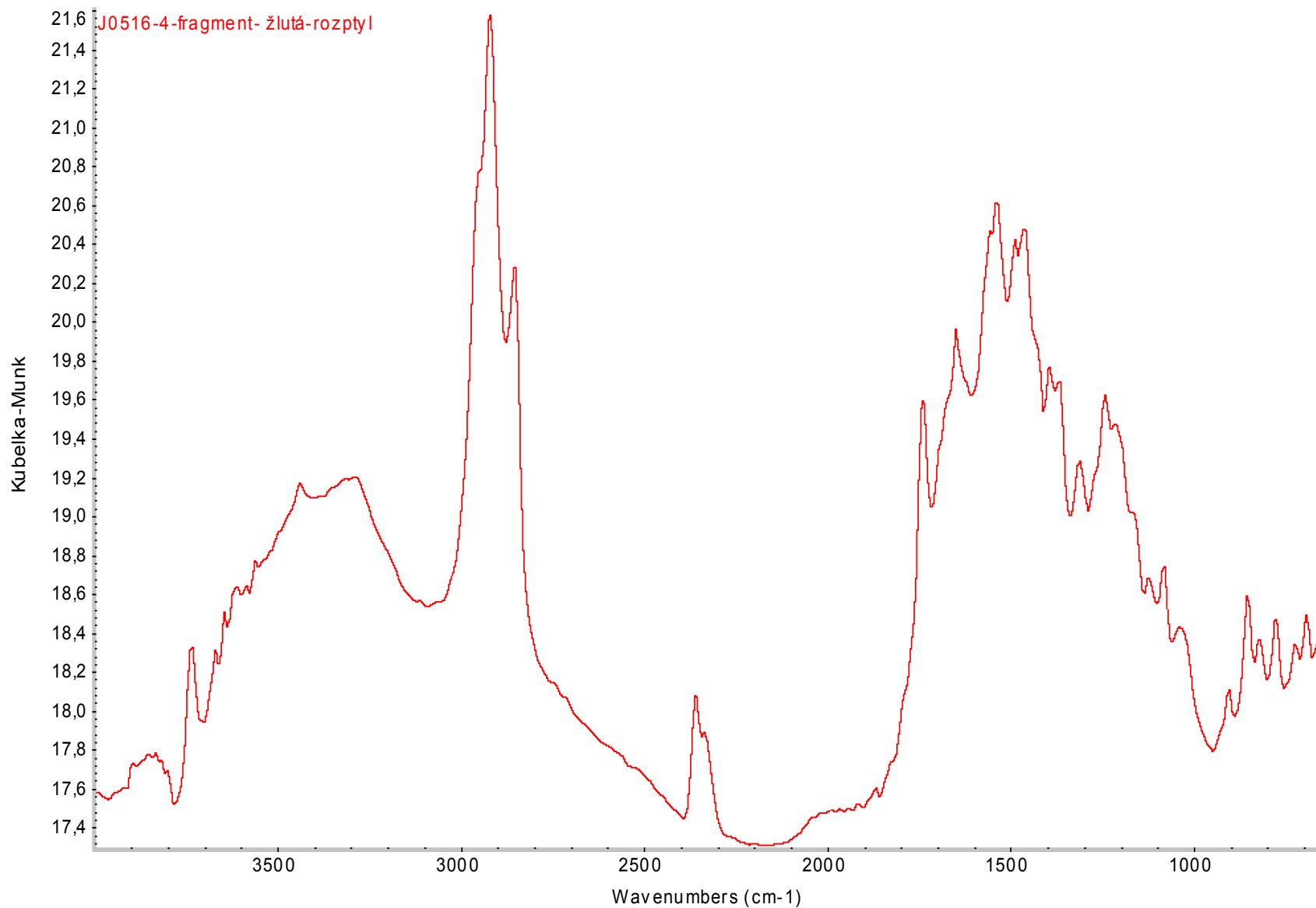
- Instrumentálně i vzdělanostně náročné
- Spektrum závisí i na technice měření
- .....

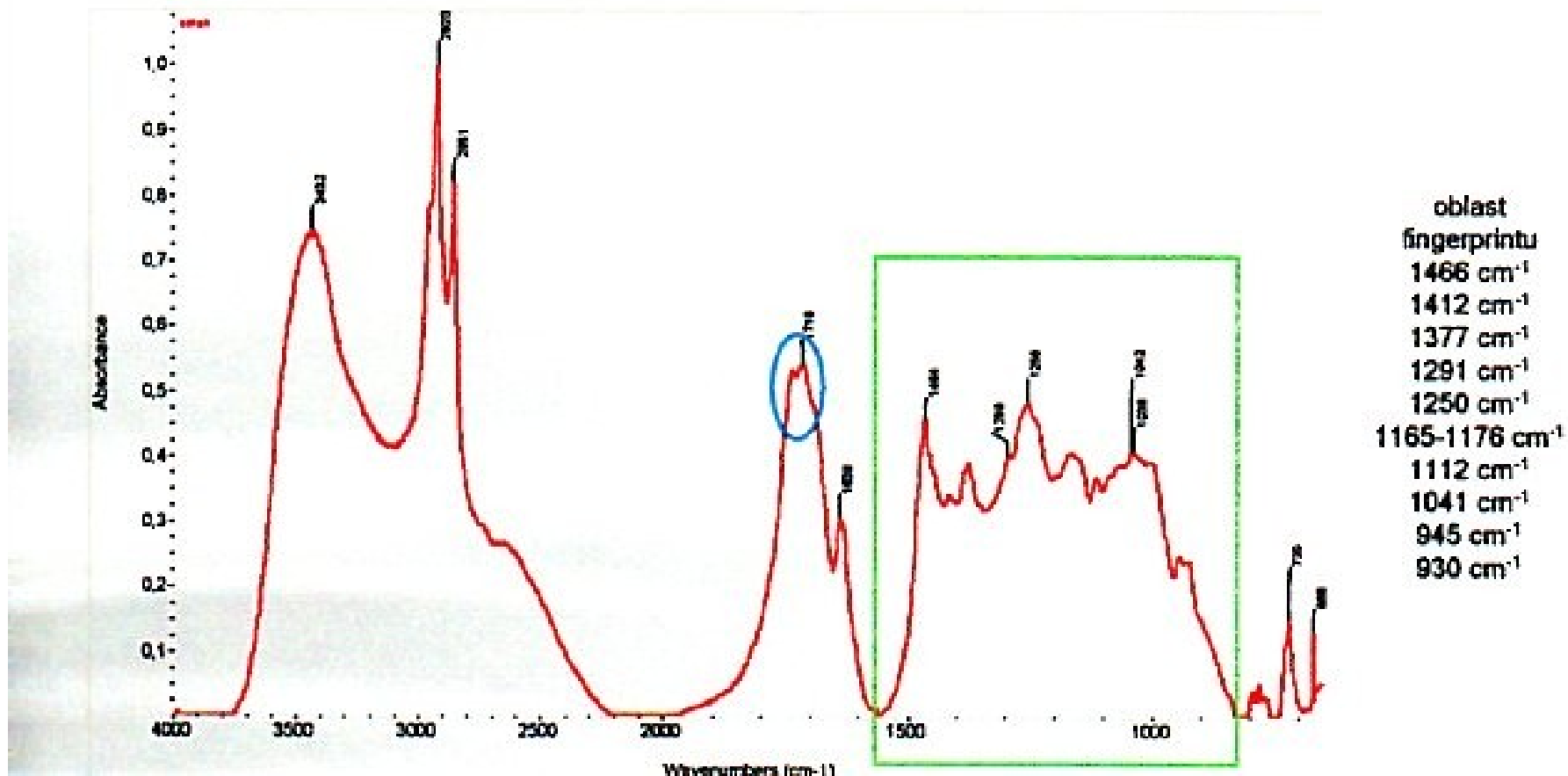
# FTIR spektroskopie – spojení s mikroskopem



IDENTIFIKACE PŘÍRODNÍCH  
LÁTEK 2018



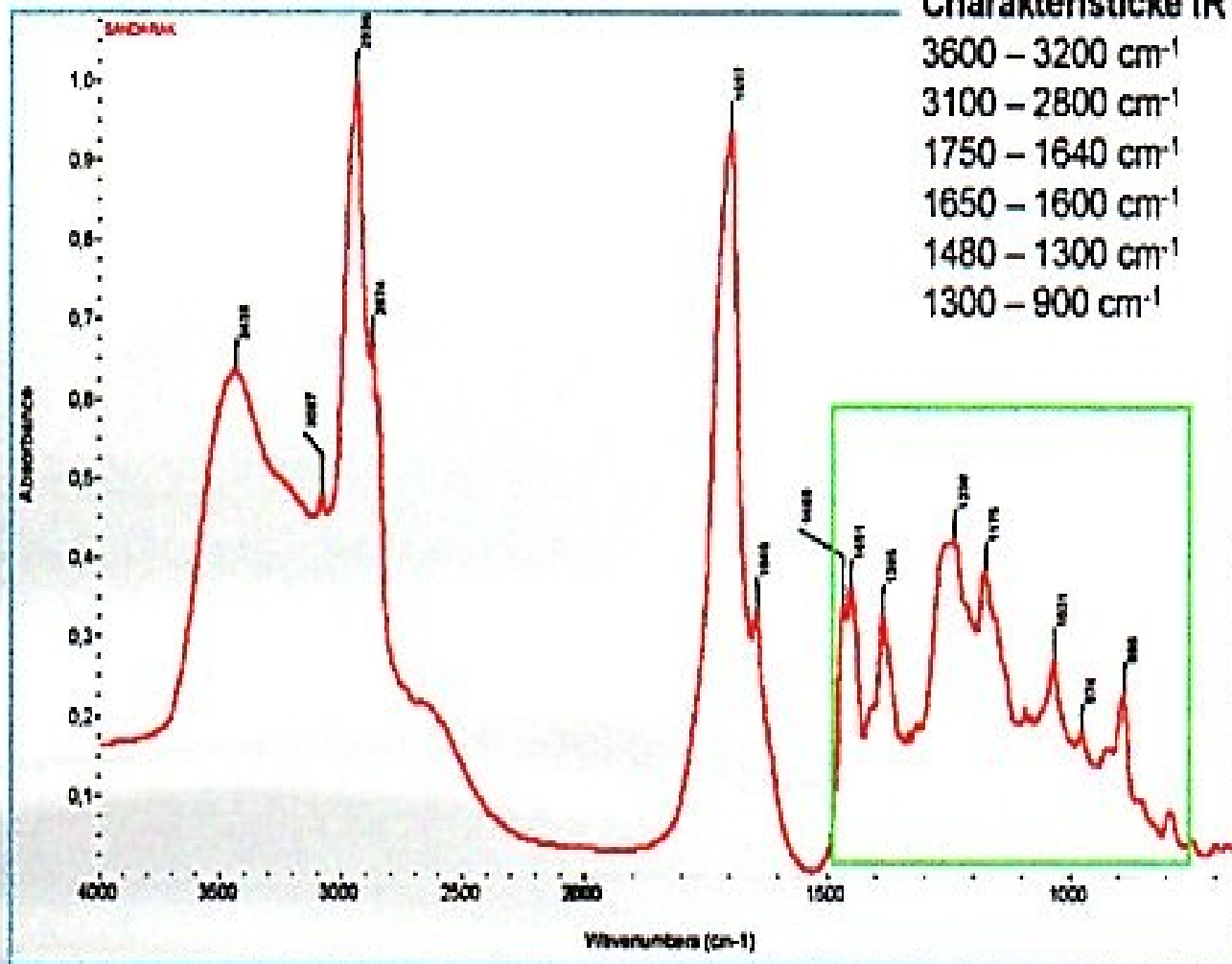




## FTIR spektrum šelaku

## Charakteristické IR absorpční pásy

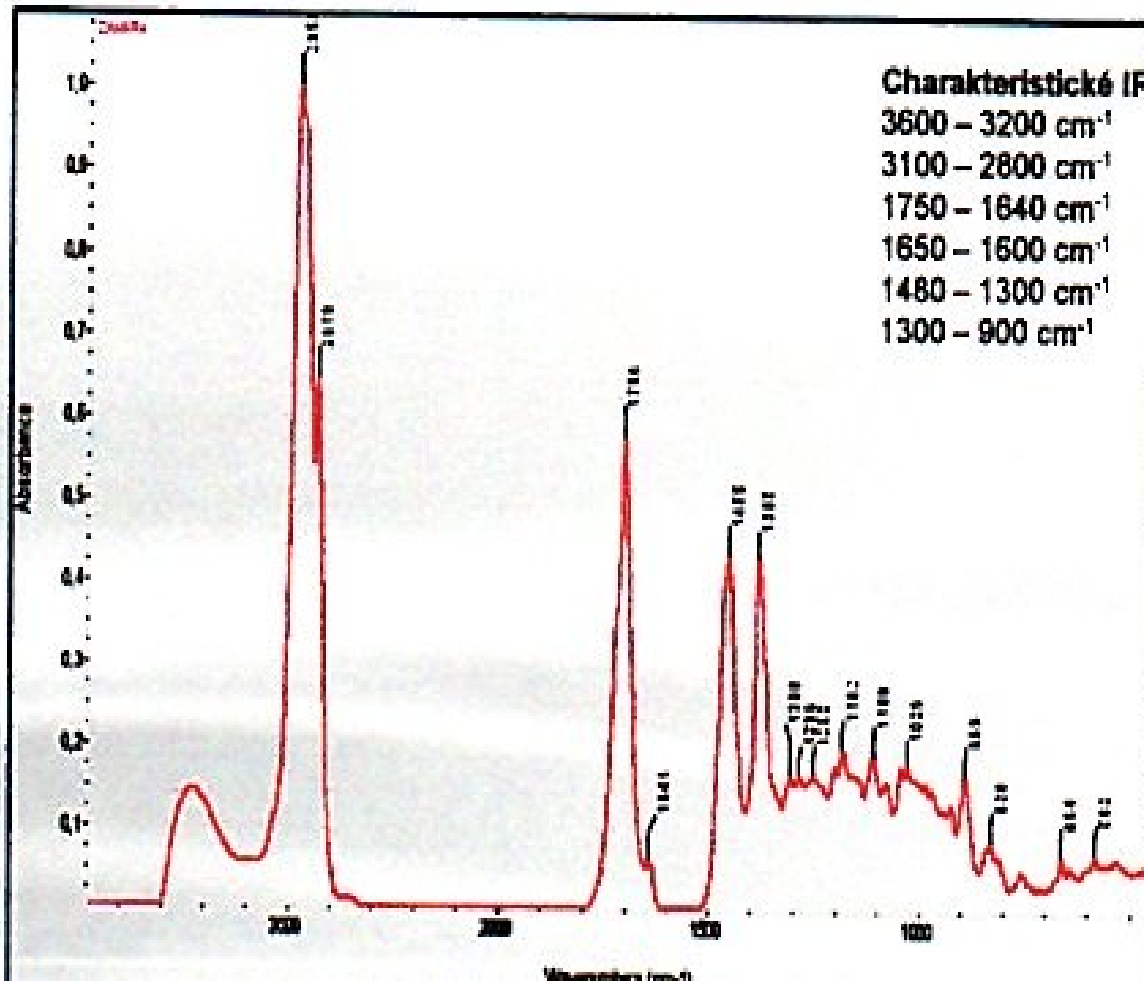
3600 – 3200 $\text{cm}^{-1}$	O-H valenční vibrace
3100 – 2800 $\text{cm}^{-1}$	C-H valenční vibrace
1750 – 1640 $\text{cm}^{-1}$	C=O valenční vibrace
1650 – 1600 $\text{cm}^{-1}$	C-C valenční vibrace
1480 – 1300 $\text{cm}^{-1}$	C-H deformační vibrace
1300 – 900 $\text{cm}^{-1}$	C-O valenční vibrace



## oblast fingerprintu

- 1466  $\text{cm}^{-1}$
- 1449  $\text{cm}^{-1}$
- 1329  $\text{cm}^{-1}$
- 1315  $\text{cm}^{-1}$
- 1259-1263  $\text{cm}^{-1}$
- 1497  $\text{cm}^{-1}$
- 1236  $\text{cm}^{-1}$
- 1213  $\text{cm}^{-1}$
- 972  $\text{cm}^{-1}$
- 909  $\text{cm}^{-1}$
- 856  $\text{cm}^{-1}$
- 823  $\text{cm}^{-1}$
- 789-792  $\text{cm}^{-1}$

# FTIR spektrum sandaraku

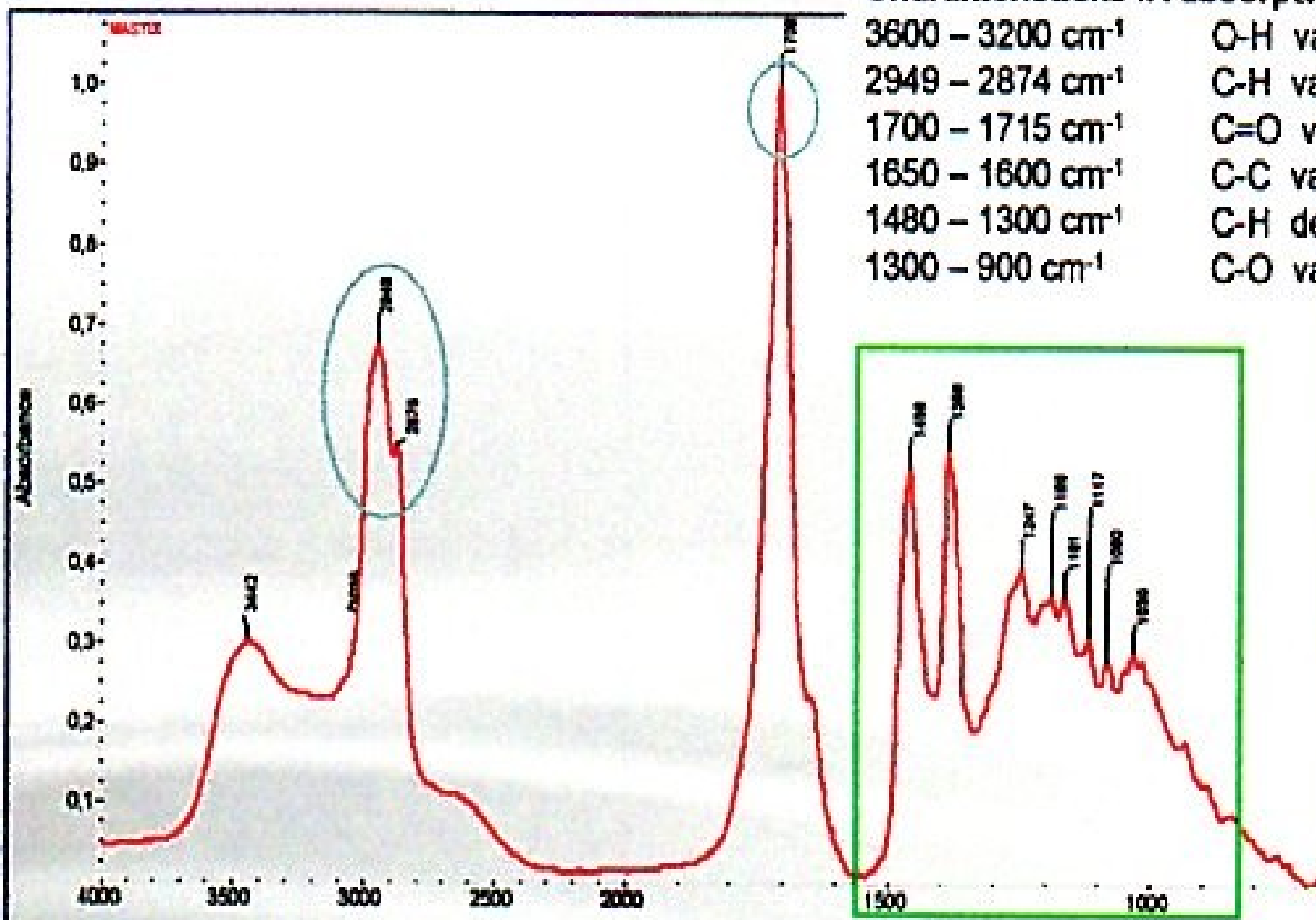


## FTIR spektrum damary



### Charakteristické IR absorpční pásy (GCI)

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



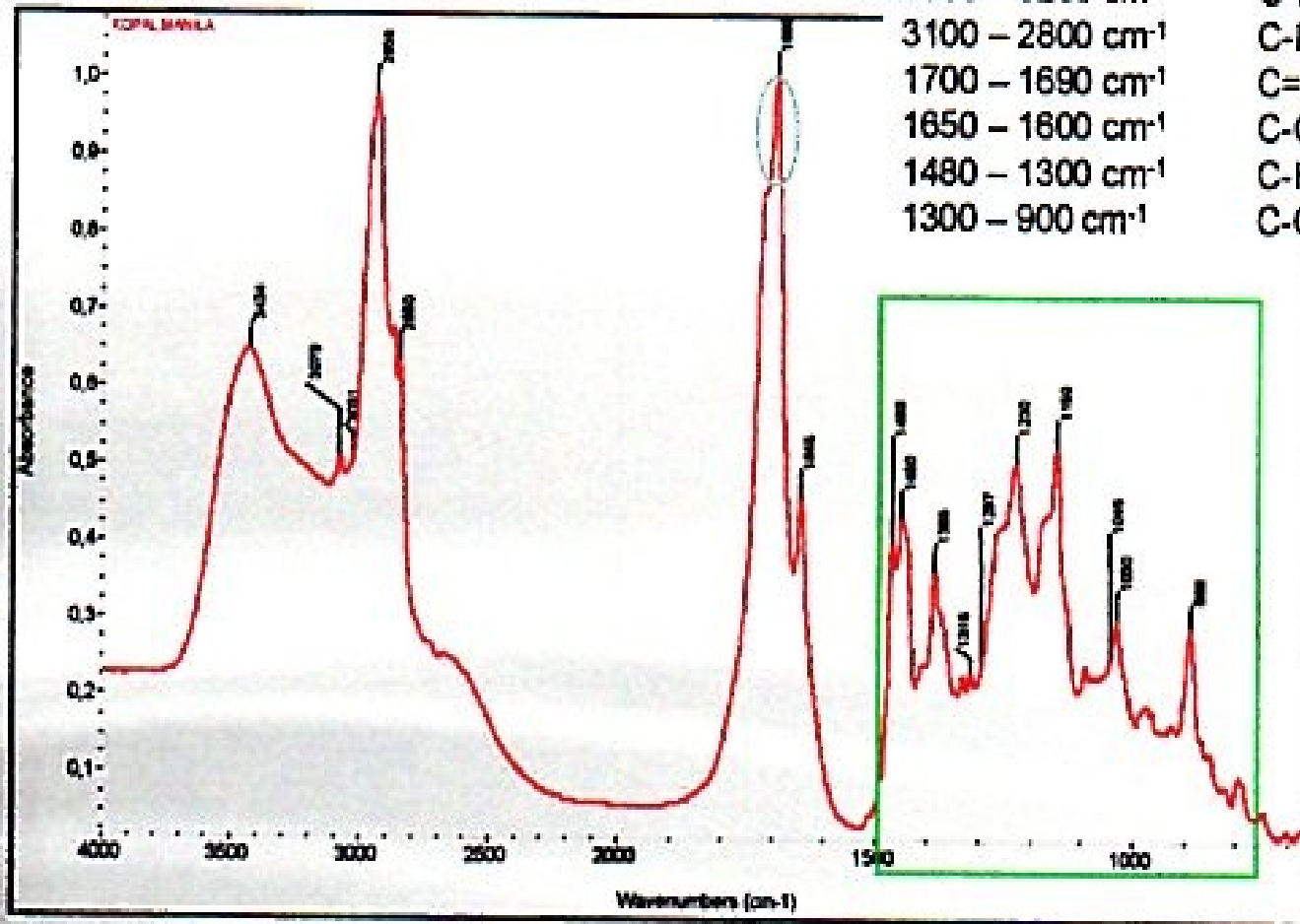
oblast fingerprintu

- 1458-1460  $\text{cm}^{-1}$
- 1245  $\text{cm}^{-1}$
- 1161  $\text{cm}^{-1}$
- 1115  $\text{cm}^{-1}$
- 1046  $\text{cm}^{-1}$
- 1008  $\text{cm}^{-1}$
- 837  $\text{cm}^{-1}$

## FTIR spektrum mastixu

### Charakteristické IR absorpční pásy

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



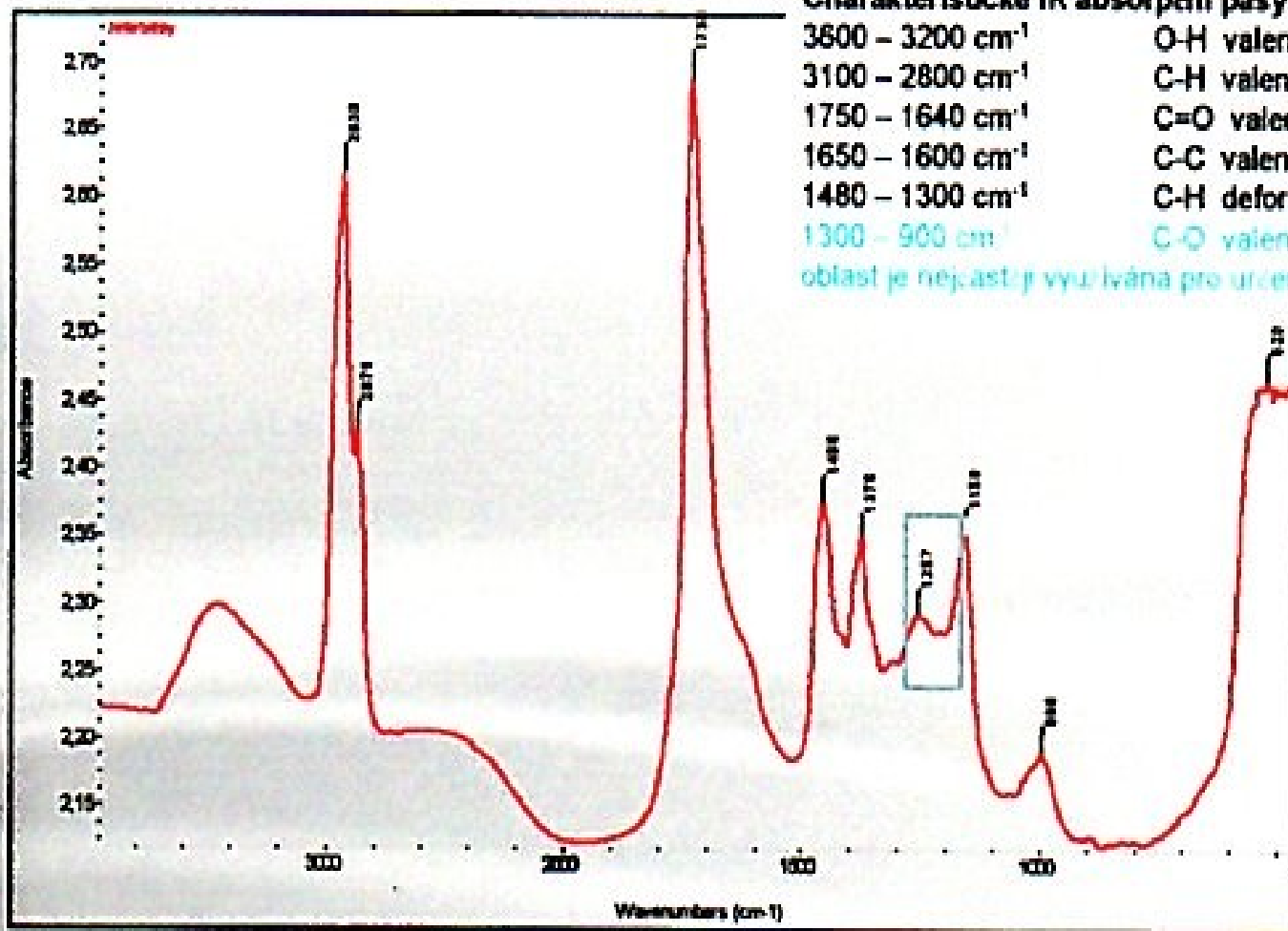
### oblast fingerprintu

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

## FTIR spektrum kopálu

### Charakteristické IR absorpční pásy

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



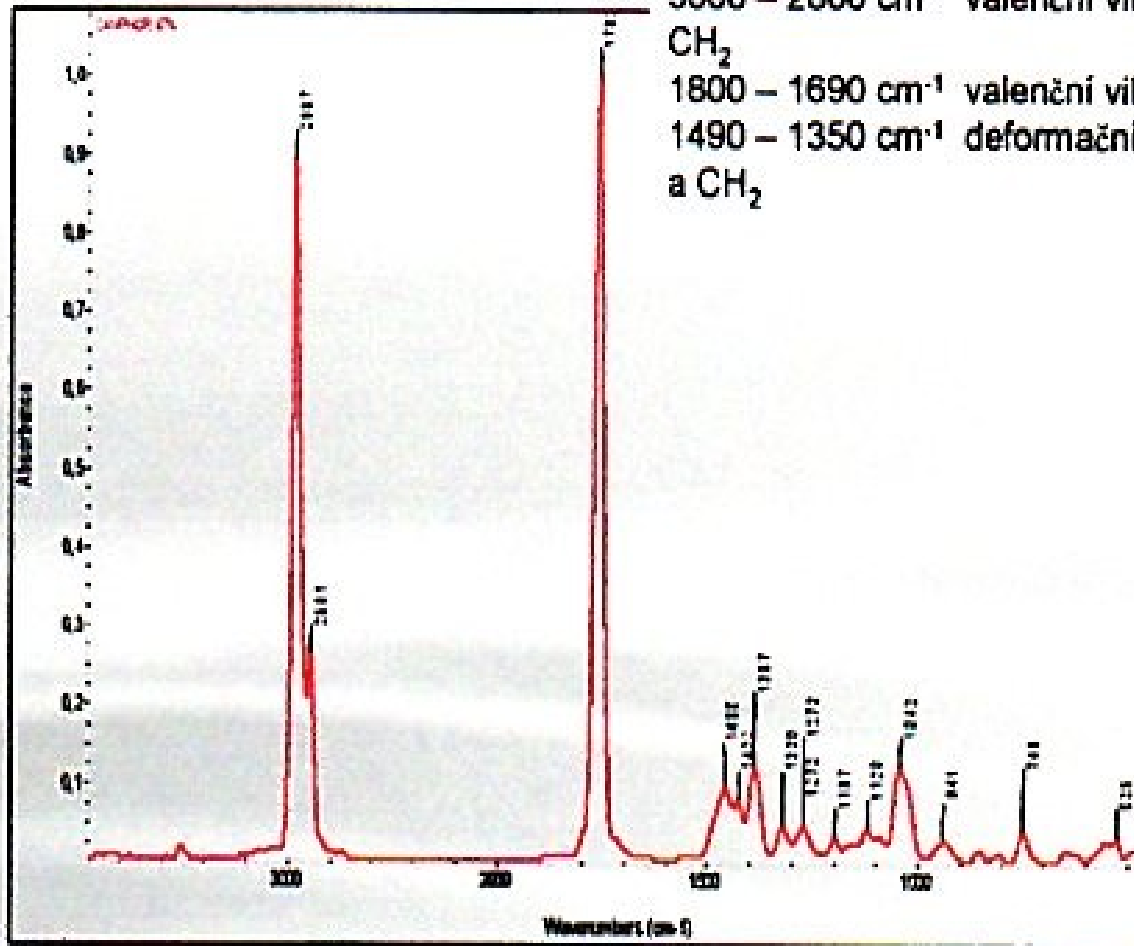
## FTIR spektrum jantaru (oblast Baltu)

### Charakteristické IČ absorpční pásy

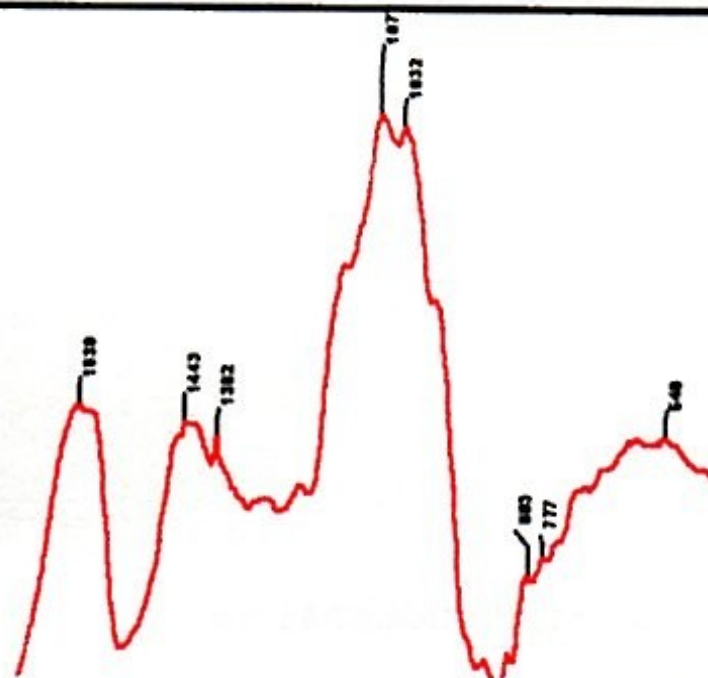
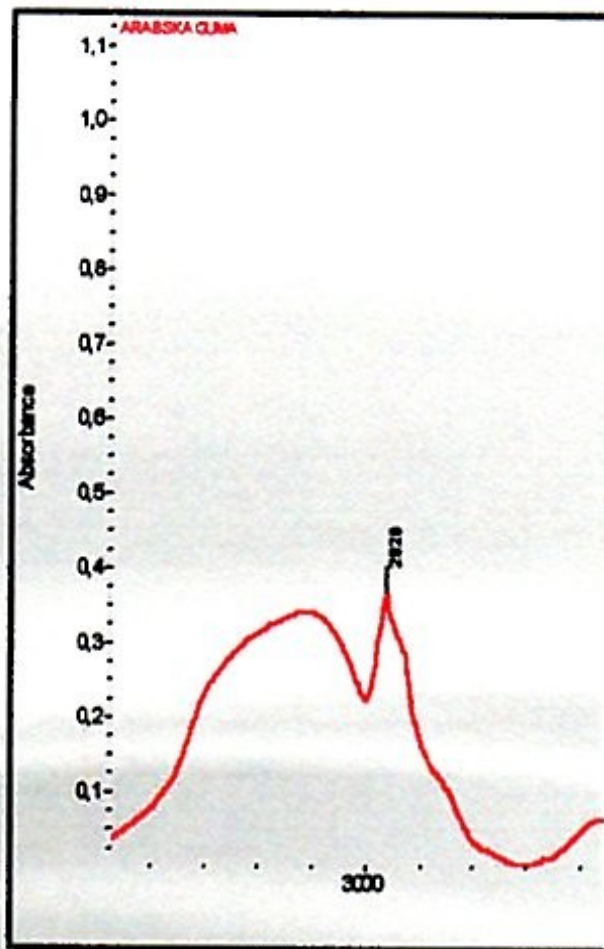
3000 – 2800  $\text{cm}^{-1}$  valenční vibrace CH ve skupinách  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2$

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

1490 – 1350  $\text{cm}^{-1}$  deformační vibrace CH ve skupinách  $\text{CH}_3$  a  $\text{CH}_2$



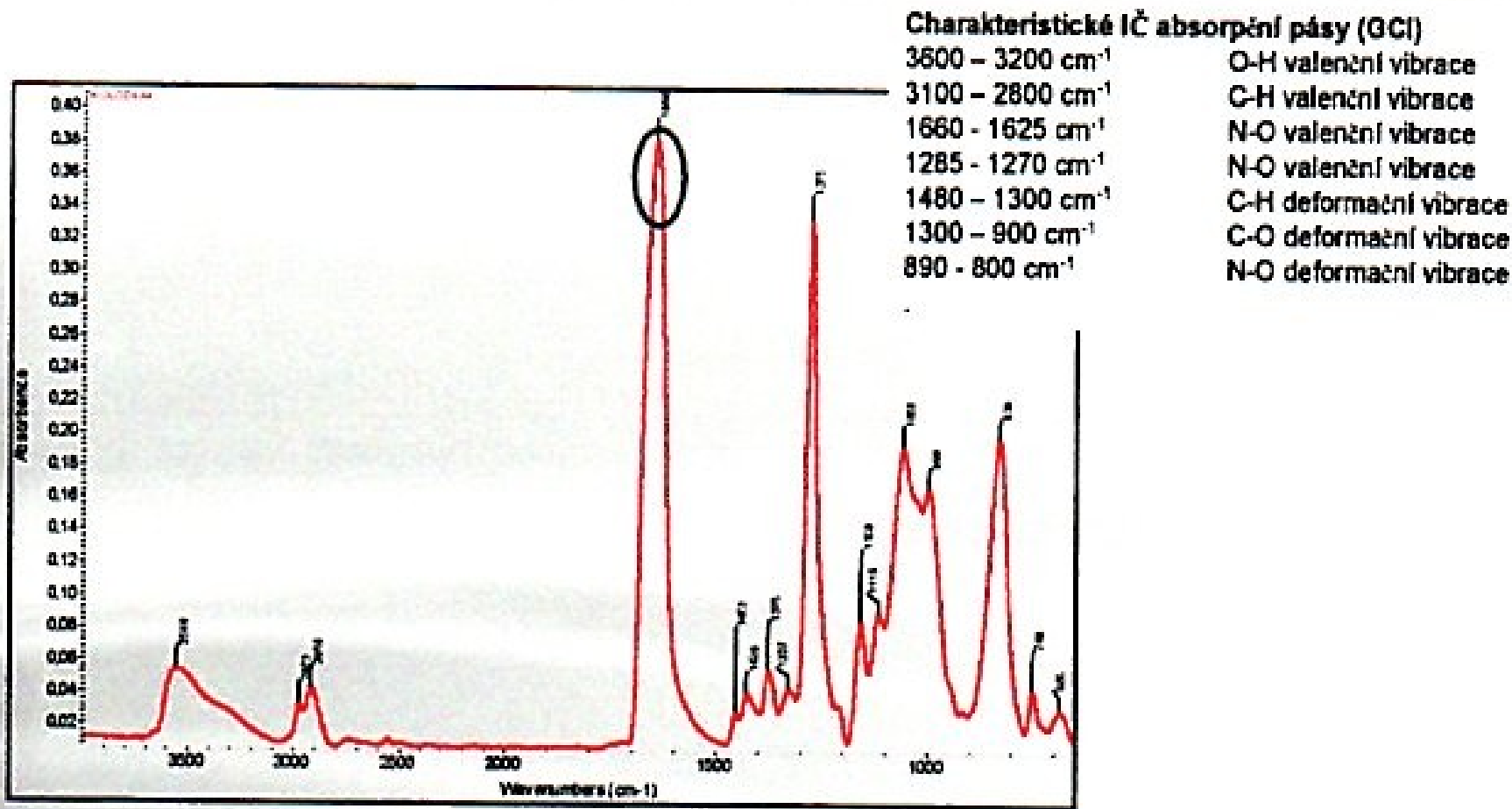
## FTIR spektrum kávy



### Charakteristické IČ absorpční pásy

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

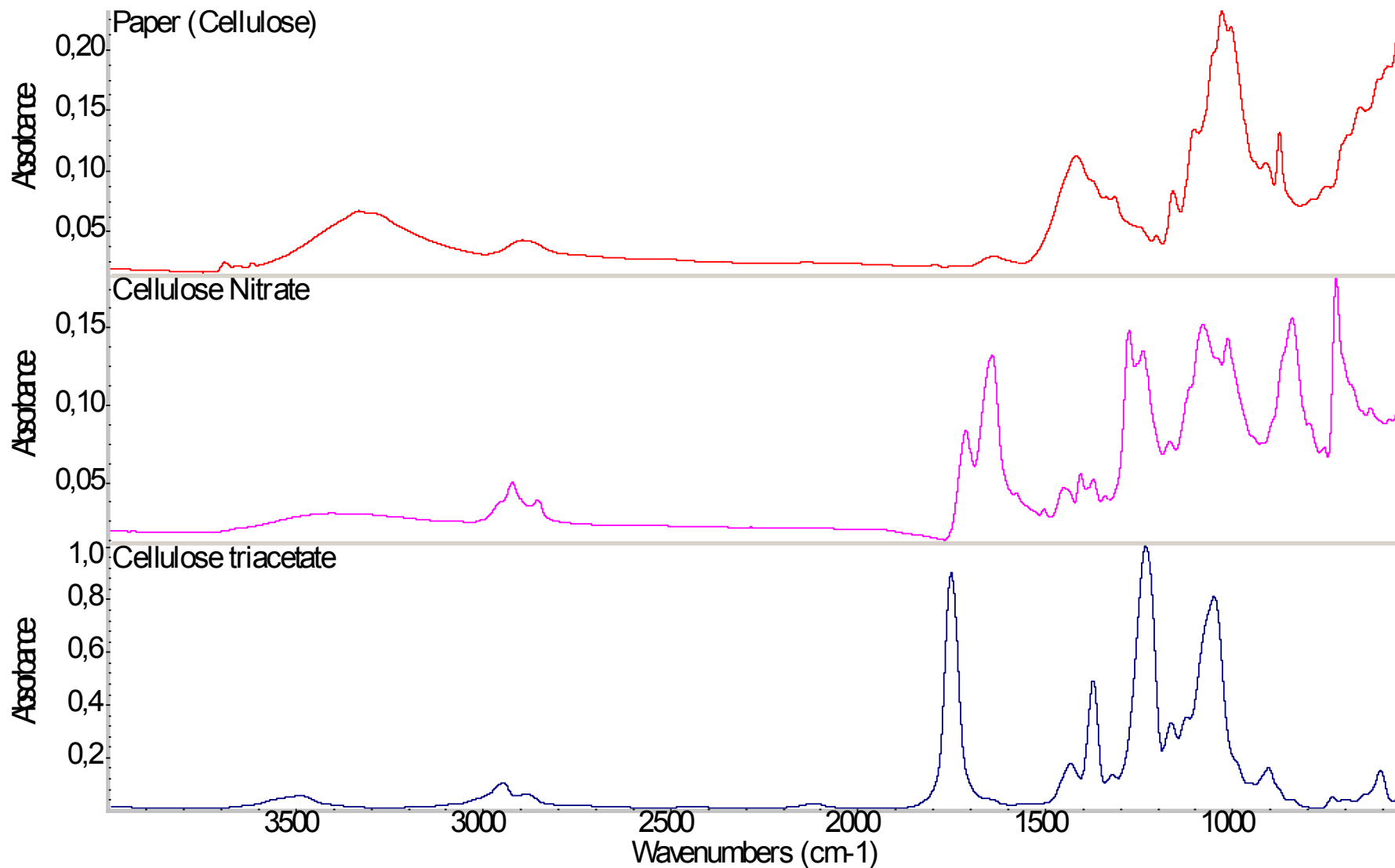
## FTIR spektrum arabské gummy



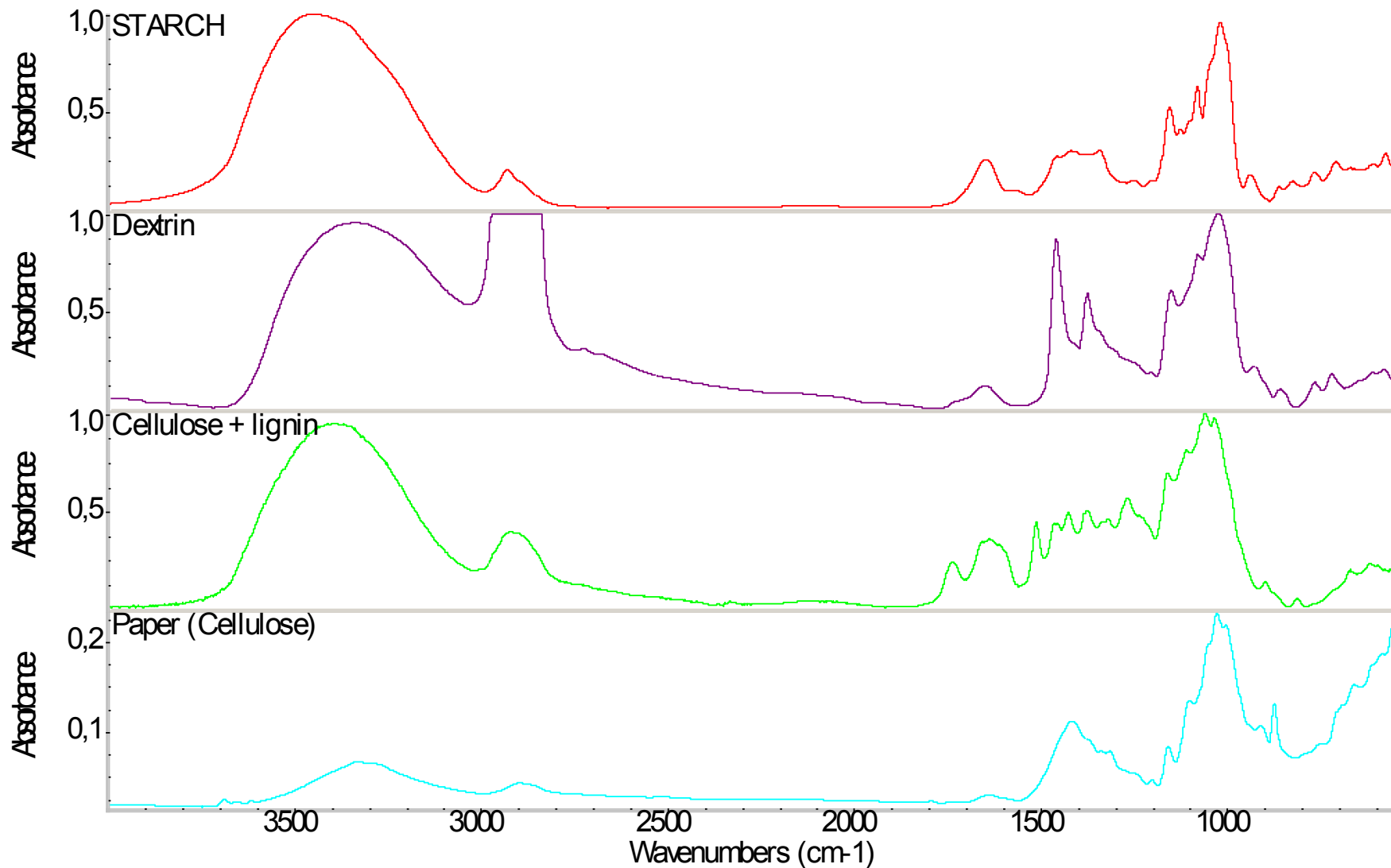
Nejsilnější pás, který je charakteristický pro nitrocelulózu je kolem 1656  $\text{cm}^{-1}$ , další pásy se obvykle vyskytují při 1281, 1060 a 846  $\text{cm}^{-1}$



# FTIR spektrum NITROCELULÓZY

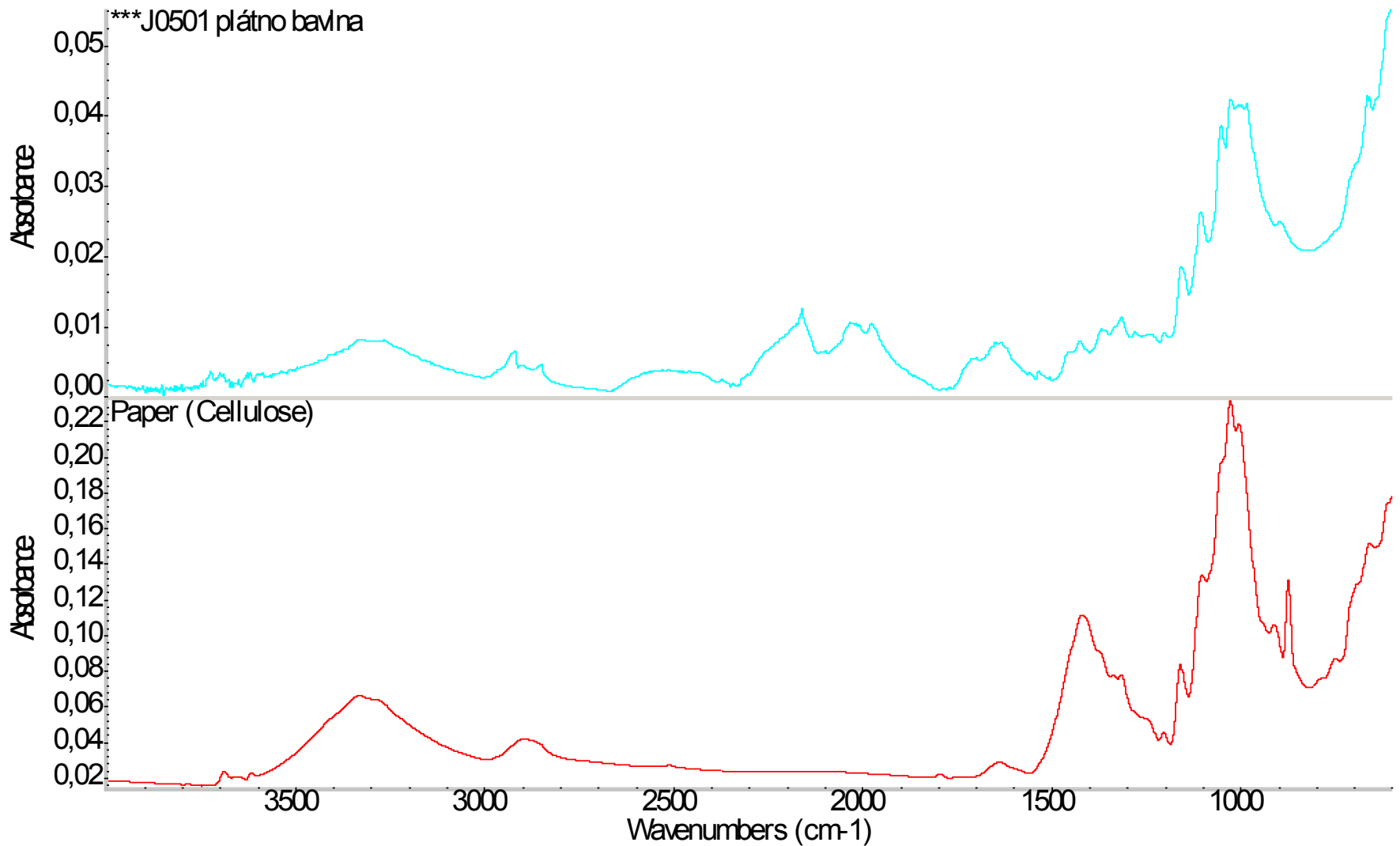


## FTIR spektrum celulózy, NITROCELULÓZY a triacetátu celulózy

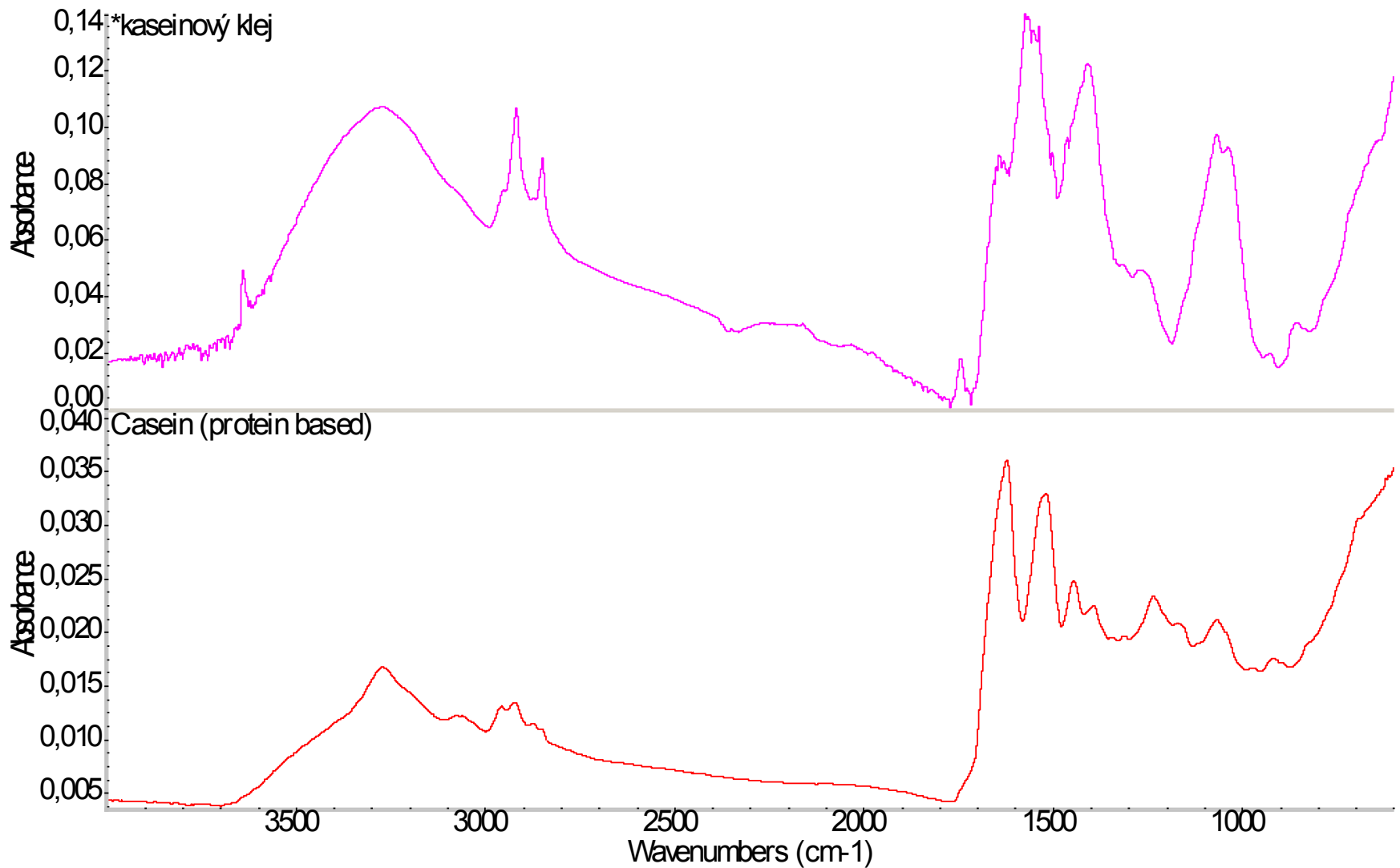


## FTIR spektrum celulózy, škrobu, dextrinu, celulózy s ligninem





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



## FTIR spektrum kaseinu a kaseinového klišu (Ca sůl)

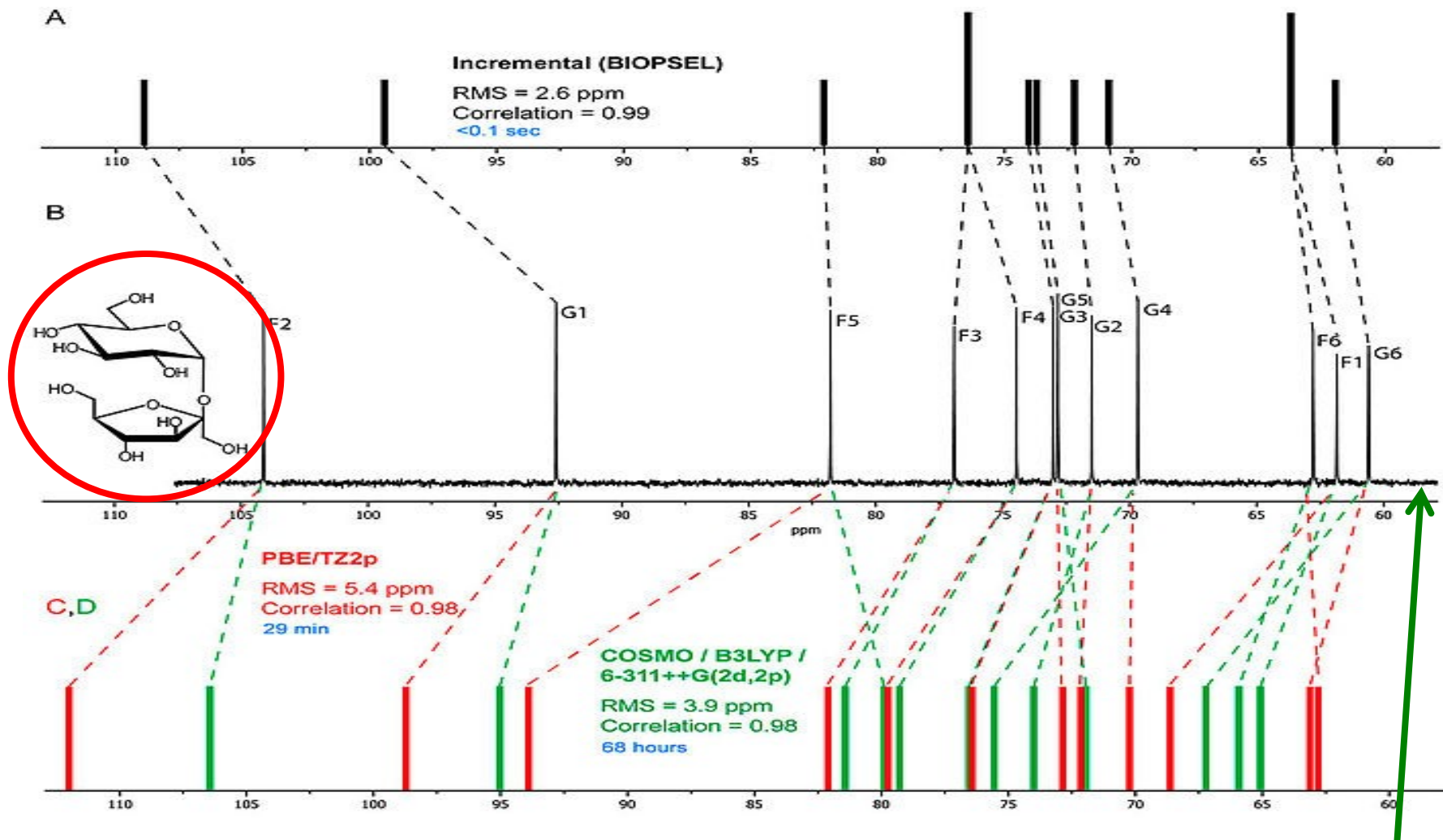
# NMR spektroskopie

- **Výhody:**

- **Může být vodíkové i uhlíkové a případně i jiné spektrum**
- **Detailní informace o struktuře molekuly**
- **Jsou k dispozici simulační metody**
- .....

- **Nevýhody:**

- **Instrumentálně i vzdělanostně náročné**
- **Většinou nutno pracovat v roztoku nebo s kapalinou**
- .....



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