



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

ČLOVĚK A ZDRAVÍ, VÝŽIVA LIDSTVA

LUCIE KUBIENOVÁ, PAVLÍNA BAIZOVÁ

OBSAH

1. DŮKAZ A STANOVENÍ PROTEINŮ
2. DŮKAZ A STANOVENÍ SACHARIDŮ
3. DŮKAZ A STANOVENÍ TUKŮ
4. STANOVENÍ A DŮKAZY VITAMÍNŮ
5. ANALÝZA MEDU
6. ANALÝZA MLÉKA
7. CHEMIE NÁPOJŮ A POCHUTIN
8. ENZYMY V POTRAVINÁCH
9. STANOVENÍ LÉČIV

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

1. DŮKAZ A STANOVENÍ PROTEINŮ

Bílkoviny, odborně proteiny, jsou vysokomolekulární přírodní látky s [relativní molekulární hmotností](#) 10^3 až 10^6 složené z [aminokyselin](#), které najdeme v každém živém organismu. V proteinech jsou [aminokyseliny](#) vzájemně vázány aminoskupinami $-NH_2$ a karboxylovými skupinami $-COOH$ amidovou vazbou $-NH-CO-$ (amidy), která se v případě proteinů nazývá peptidová vazba. Strukturu bílkovinného řetězce rozlišujeme na primární, sekundární, terciární a kvartérní. Bílkoviny v organismech plní rozličné funkce, např. stavební (kolagen), transportní a skladovací (hemoglobin), pohybové (aktin, myosin), katalytické (enzymy), řídicí a regulační (hormony), obranné a ochranné (imunoglobuliny).

1.1 DŮKAZOVÉ REAKCE BÍLKOVIN

1.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Primární struktura makromolekuly bílkovin je dána pořadím jednotlivých aminokyselin v peptidovém řetězci. Pro důkaz bílkovin se používá řada barevných reakcí, nejznámější jsou xantoproteinová a biuretová reakce. Xantoproteinová reakce spočívá v nitraci aromatického jádra aromatických aminokyselin v bílkovině (tryptofan, tyroxin, fenylylalanin). Působením kyseliny dusičné dochází k nitraci aromatického jádra a vzniku žlutých nitrosloúčenin. Při biuretové reakci vytvářejí měďnaté ionty v alkalickém prostředí s peptidovou vazbou komplexní sloučeniny. Tuto reakci poskytují látky, které mají v molekule alespoň dvě peptidové vazby nebo dvě skupiny $CO-NH_2$.

1.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: zkumavky, stojan na zkumavky, skleněná tyčinka, pipeta, struhadlo, třecí miska s tloučkem, vata, filtrační aparatura, kahan

Chemikálie: brambora, vaječný bílek, 1% roztok $CuSO_4$, 20% roztok KOH , koncentrovaná kyselina dusičná, amoniak (vodný roztok)

1.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Biuretova reakce:

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Oloupanou syrovou bramboru nastrouhejte a roztírejte v třecí misce, kašovitou hmotu přefiltrujte – získáte tím extrakt bílkovin. Do 1 ml extraktu bílkovin ve zkumavce přidejte 1 ml roztoku KOH a opatrně po kapkách přidávejte roztok CuSO_4 . Pozorujte barevnou změnu.

Xantoproteinová reakce:

Vaječný bílek rozmíchejte s 150 ml vody a přefiltrujte přes vatku. Do 2 ml filtrátu ve zkumavce přidejte 1 ml koncentrované kyseliny dusičné. Roztok zahřejte. Obsah zkumavky se zbarví dožluta nebo vznikne žlutá sraženina. Zkumavku ochlaďte a roztok neutralizujte amoniakem.

1.1.4 VYHODNOCENÍ

Při biuretové reakci se obsah zkumavky na důkaz bílkovin zbarví modrofialově. V molekule bílkovin jsou vázané aromatické aminokyseliny s benzenovým jádrem. Jádro se kyselinou dusičnou při xantoproteinové reakci nitruje za vzniku žlutě zbarvených sloučenin, po přidání amoniaku přechází na oranžovou barvu v alkalickém prostředí.

1.2 DŮKAZ KERATINU VE VLASECH

1.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Keratin je stavební bílkovina řazená mezi skleroproteiny. Keratin je základní složkou vlasů, chlupů a vytváří se z něj také nehty. Keratin je nerozpustný ve vodě a má vláknitou strukturu, jednotlivé monomery mívají délku 400–644 aminokyselin, ale větvi se do polymerů o velkých rozměrech. Konečný tvar molekuly - terciární strukturu - zajišťují disulfidické můstky. Při rovnání vlasů teplem se právě tato přirozená struktura ztrácí a ničí se disulfidické můstky.

1.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: zkumavky, stojan na zkumavky, vaříč, pipeta

Chemikálie: vlasy, 1% roztok CuSO_4 , 10% roztok NaOH

1.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

Chomáček vlasů ve zkumavce povaříme s 5 ml roztoku 10% NaOH. Po vychladnutí přidáme po kapkách roztok 1% CuSO_4 . Pozorujte barevnou změnu.

1.2.4 VYHODNOCENÍ

Přítomnost keratinu (bílkoviny) ve vlasech dokazuje vznik modrofialového až červenofialového zbarvení. Měďnaté ionty v alkalickém prostředí vytvářejí s peptidovou vazbou fialové komplexní sloučeniny.

1.3 DENATURACE BÍLKOVIN

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

1.3.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Funkce všech bílkovin je podmíněna jejich strukturou. Bílkoviny jsou velmi citlivé na teplo a již při teplotě 60°C dochází k narušení vodíkových vazeb a rozvinutí šroubovitě struktury (rozpad nativní prostorové struktury), čímž ztratí svou funkci. Za vyšších teplot se mohou i srážet a koagulovat – dochází k denaturaci bílkovin. Denaturační účinek má na bílkoviny dále i vysoké či nízké pH (změnou náboje proteinu), přítomnost detergentů (interakcí s nepolárními zbytky) nebo některých dalších chemikálií, jako jsou některé alifatické alkoholy či koncentrované roztoky některých solí (chaotropní ionty).

1.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: zkumavky, stojan na zkumavky, kádinky, lžička, kahan, pipeta

Chemikálie: vejce, ethanol, ocet, citrónová šťáva, nasycený roztok soli, 30% roztok CuSO₄

1.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

Ze dvou vajec oddělte vaječný bílek a rozmíchejte ho v kádince v 100 ml vody. Rozdělte ho rovnoměrně do 7 zkumavek. Do první zkumavky nalejte pouze vodu – slouží jako kontrola. Do dalších zkumavek nalévejte chemikálie v tomto pořadí: horká voda, ocet, citrónová šťáva, roztok soli, ethanol, roztok CuSO₄. Pozorujte změny.

1.3.4 VYHODNOCENÍ

Změny bílku jsou důsledkem poškození bílkovin – denaturace (nevratná reakce). Pokud k takové změně nastane v organismu, může to vést k vážným následkům až smrti. Bílkoviny obsažené ve vaječném bílku (obsahuje jich 12%, z nichž 70% tvoří vaječný albumin) citlivě reagují na soli těžkých kovů, ethanol, zvýšenou teplotu, kyseliny, ... Avšak organickými rozpouštědly (ethanol) a některými solemi (CuSO₄) se srážejí vratně (Tabulka 1).

Tabulka 1: Vyhodnocení reakcí vaječného bílku.

	popis změny	došlo k denaturaci
bílek + studená voda	nic	ne
bílek + horká voda	bílek se srazil	ano
bílek + ocet	bílek se srazil	ano
bílek + citrónová šťáva	nic	ne
bílek + roztok soli	bílek se srazil	ano
bílek + ethanol	bílek se srazil	ano
bílek + roztok CuSO ₄	bílek se srazil	ano

1.4 ODHALENÍ PŘÍTOMNOSTI GLUTAMÁTU V INSTANTNÍCH POLÉVKÁCH

1.4.1 TEORETICKÝ ÚVOD



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Kyselina glutamová je neesenciální aminokyselina (soli se nazývají glutamáty či glutamany), která se používá k zvýraznění chuti masových a zeleninových pokrmů, je přirozenou složkou bílkovin masa, ale i rostlinných bílkovin (rajčata, hrášek). Je často používaná v potravinářském průmyslu jako aditivní kořenící látka a působí jako chuťové aditivum (E620, E621). V nezbytném povoleném množství může být součástí instantních polévek, omáček, Podravky, paštik, kečupů, dressingů, konzerv apod.

Chromatografickými metodami lze v potravinářských výrobcích zjistit přítomnost a případně i porovnat množství kyseliny glutamové a glutamátu. Detekce se provádí ninhydrinovou reakcí.

1.4.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, odměrný válec, pipeta, skleněná tyčinka, lžička, nůžky, pinzeta, rozprašovač, sušárna (fén), silufolová deska nebo filtrační papír, krycí sklíčko

Chemikálie: 1% roztok ninhydrinu v acetonu, etanol, 1% kyselina glutamová (standard), amoniak (vodný roztok), vzorek instantních polévek

1.4.3 PRACOVNÍ POSTUP

Vzorek instantní polévky rozmíchejte v malém množství vody a nechte usadit. Připravte si silufolovou desku nebo filtrační papír (asi 8x15 cm) k chromatografii a 1 cm od spodního okraje vyznačte tužkou startovací čáru. Malou kapku připraveného vzorku naneste kapátkem nebo mikropipetou na startovací čáru, nechte kapku zaschnout a postup zopakujte třikrát. Takto postupujte se všemi instantními polévkami, které máte k dispozici. Vzorky nanášejte vedle sebe v dostatečné vzdálenosti, jako poslední naneste kapku 1% roztoku kyseliny glutamová jako standardu. Chromatogram (Silufol či filtrační papír) vložte do vyšší úzké kádinky s vyvíjecí směsí ethanol:amoniak v poměru 8:2 a přikryjte sklíčkem. Asi po 2 hodinách vyjměte chromatogram z kádinky a detekujte. Postříkejte ho z rozprašovače 1% roztokem ninhydrinu, poté usušte a zahřívějte v sušárně nebo pomocí fénu.

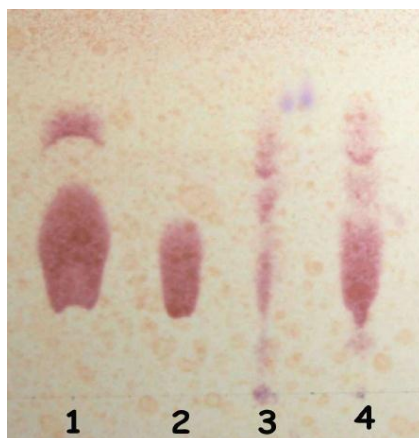
1.4.4 VYHODNOCENÍ

Přítomnost kyseliny glutamové (glutamátu) obsažené v instantních polévkách se projeví červenofialovým zbarvením (Obrázek 1).

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016



Obrázek 1: Chromatogram po detekci ninhydrinem. Vzorek 1 – kyselina glutamová, 2 – Glutasol, 3, 4 – instantní polévka

2. DŮKAZ A STANOVENÍ SACHARIDŮ

Sacharidy nebo také nazývané cukry (z lat. *Saccharum* = cukr) tvoří početnou skupinu přírodních organických látek, s nimiž se setkáváme v našem každodenním životě. Chemické reakce sacharidů jsou založeny na reaktivitě hydroxylových a karbonylových skupin. V některých případech je možné odlišit ketosy od aldós, pentosy od hexos apod. Vhodnou kombinací kvalitativních reakcí lze určit složení neznámé směsi cukrů. Velkou pomocí při identifikaci sacharidů je chromatografie. vzorku. Barevné reakce sacharidů lze dále využít např. pro jejich kvantitativní fotometrické stanovení, pro jejich chromatografickou detekci, případně pro identifikaci cukerných složek biopolymerů. Řada reakcí uvedených níže je podkladem metod spektrofotometrického stanovení cukrů.

2.1 STANOVENÍ CUKRU V JABLEČNÉ ŠŤÁVĚ

2.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Redukující cukry jako glukosa a fruktosa způsobují sladkou chuť ovoce a ovocných šťáv. Pozitivní test na redukující cukry se dokáže pomocí vhodného oxidačního činidla, např. Fehlingova činidla – modrá skalice ve vodném alkalickém roztoku vlnanu sodného.

2.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: stojan na zkumavky, zkumavky, držák na zkumavky, Pasteurova pipeta, kahan

Chemikálie: Fehlingův roztok I a II, jablečná šťáva

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

2.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Připravte Fehlingovo činidlo I rozpuštěním 7 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ v 100 ml vody a Fehlingovo činidlo II rozpuštěním 35 g vlnanu sodno-draselného a 10 g NaOH v 100 ml vody. Ve zkumavce smíchejte 2 ml roztoků Fehlingova činidla I a II a přidejte 2 ml jablečné šťávy. Zkumavku umístěte do držáku a zahřívejte nad kahanem. Pozorujte barevné změny.

2.1.4 VYHODNOCENÍ

Pozitivní reakce na cukry (redukující sacharidy) v jablečné šťávě dává oranžovočervené zbarvení (Obrázek 2).



Obrázek 2: Reakce glukosy s Fehlingovým činidlem (vlevo před, vpravo po reakci).

2.2 DŮKAZ REDUKUJÍCÍCH SACHARIDŮ V OVOCI

2.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Redukující sacharidy, mezi něž patří monosacharidy (fruktosa, glukosa) a některé disacharidy (laktosa), lze dokázat pomocí Fehlingova činidla. Červenooranžové až červenohnědé zbarvení kapaliny způsobené vyredukovaným oxidem měďným, který se usadí na dně zkumavky, je důkazem přítomnosti glukosy a fruktosy v ovoci. Tyto cukry se řadí mezi monosacharidy s karbonylovou funkční skupinou, které jsou schopny v alkalickém prostředí redukovat měďnaté ionty (CuSO_4) na oxid měďný (Cu_2O). Navíc je možno vzniklý oxid měďný použít ke kvantitativnímu stanovení redukujících sacharidů gravimetricky či kolometricky.

2.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Laboratorní materiál: třecí miska s tloučkem, kádinka, nálevka, filtrační papír, stojan na zkumavky, zkumavky, Pasteurova pipeta, kahan

Chemikálie: Fehlingův roztok I a II, destilovaná voda, dužnaté ovoce (hroznové víno, pomeranč, jablko, jahoda, ...), cukr

2.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

Vybraný druh ovoce rozetřete v třecí misce s trochou destilované vody na kašovitou hmotu a přefiltrujte. Napipetujte několik ml filtrátu ovoce do zkumavky a přidejte 2 ml Fehlingova roztoku I a II (příprava viz úloha 2.1). Obsah zkumavky krátce zahřejte nad kahanem a pozorujte barevnou změnu. Cukr (jako negativní vzorek) rozpustíte v trošce vody, přidejte taktéž 2 ml Fehlingova roztoku I a II a zahřejte nad kahanem.

2.2.4 VYHODNOCENÍ

Pozitivní reakce na redukující cukry v dužnatém ovoci dává oranžovočervené zbarvení. Cukr obsahuje sacharosu, která jako neredukující cukr dává negativní reakci – modré zbarvení zkumavky.

2.3 KAMELIZACE SACHAROSY

2.3.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Karamelizování znamená suché zahřátí cukru při vysoké teplotě, kdy se jeho vzhled proměňuje ve světle žlutou až tmavě hnědou, lesklou hmotu s typickým aroma pražení. Karamelizace – termická degradace cukrů nebo také proces oxidace cukrů. Oxidace probíhá při zahřátí cukru na [teplotu](#) vyšší než 110 °C (reakce závisí na druhu cukru). Tento proces se často používá v [gastronomii](#). Ovocný cukr má bod ohřevu při karamelizaci asi 110 °C a sladový cukr 180 °C. Krystalový cukr karamelizuje při teplotě 160 °C. Během karamelizace probíhají stovky [chemických reakcí](#).

2.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: stojan na zkumavky, zkumavky, držák na zkumavky, kádinky, lžička, lihový kahan

Chemikálie: sacharosa (cukr), mléko, voda

2.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do zkumavky nasypete lžičku sacharosy a opatrně zahříváte nad kahanem. Když se sacharosa roztaví a mírně ztmavne, rozdělte ji do dvou zkumavek. Do první přidejte mléko a do druhé zkumavky vodu. Ověřte rozpustnost. Do čisté zkumavky opět nasypete sacharosu, zkumavku umístíte do držáku a intenzivně zahříváte nad kahanem. Pozorujte barevné změny a co se děje s obsahem.

2.3.4 VYHODNOCENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Krystalky sacharosy (řepný cukr) se při zahřívání roztavily a ztmavly – vznikl karamel. Karamel je rozpustný ve vodě i mléku. Delším zahříváním se sacharosa (cukry obecně) úplně rozkládá až na oxid uhličitý, ze zkumavky se intenzivně dýmí a na stěnách se srážejí kapky vody (vodní pára se sráží na kapalinu na chladnější stěně zkumavky).

2.4 IZOLACE BRAMBOROVÉHO ŠKROBU

2.4.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Škrob je bílá, ve vodě málo rozpustná makromolekulární látka. Obecný vzorec škrobu je $(C_6H_{10}O_5)_n$. Průmyslově se z něj vyrábějí např. technická lepidla a glukosa. Je významnou složkou potravy – vyskytuje se např. v bramborách, v rýži nebo v obilí. Kořeny některých rostlin, např. brambor, také obsahují škrob, který si ukládají do zásoby.

2.4.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: nůž, struhadlo, škrabka na brambory, kádinky, lžička, gáza nebo cedník
Chemikálie: brambora, voda

2.4.3 PRACOVNÍ POSTUP

Bramboru oloupejte nožem či oškrábejte škrabkou a nastrouhejte na jemném struhadle do kádinky. K nastrouhané hmotě poté přidejte trochu vody a promíchejte. Směs přeceďte do čisté kádinky přes gázu či cedník. Filtrát nechte 10 minut stát a poté pozorujte.

2.4.4 VYHODNOCENÍ

Na dně kádinky s filtrátem se usadí bílý prášek – škrob. Hlíza brambory obsahuje až 20% škrobu. Škrob se skládá z amylosy a amylopektinu.

2.5 ŠKROBOVÉ ZRNA POD MIKROSKOPEM

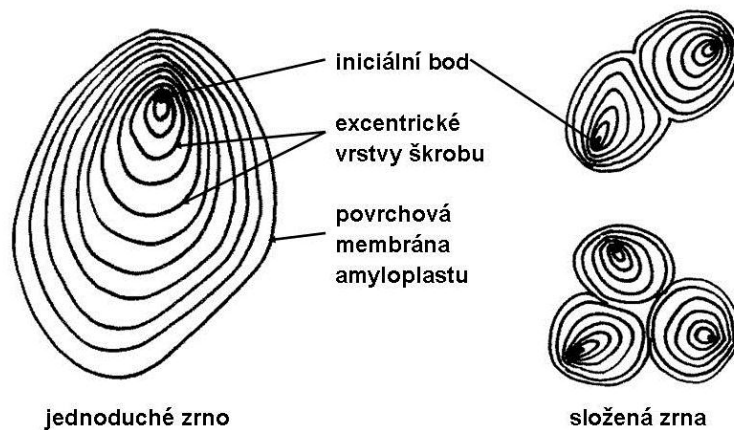
2.5.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Škrob je nejdůležitější zásobní látkou vyšších rostlin. Slouží rostlině k uložení energie získané v průběhu procesu fotosyntézy. Škrob se ukládá v zásobních orgánech rostlin ve formě zrn, která mají pro daný rostlinný druh charakteristický tvar. Škrobová zrna se tvoří v buňce v amyloplastech. Podle počtu iniciálních krystalizačních jader se tvoří buď jednoduchá škrobová zrna (jedno krystalizační jádro), nebo složená škrobová zrna (několik krystalizačních jader) (Obrázek 3).

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016



Obrázek 3: Škrobová zrna z hlízy lilku bramboru . Velikost škrobového zrna je 70 – 140 μm . (převzato z: http://web2.mendelu.cz/af_211_multitext/obecna_botanika/texty-cytologie-rostlinna_bunka.html).

2.5.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: nůž, preparační jehla, podložní a krycí sklíčka, žiletka, kapátko

Chemikálie: brambora, obilky ovsa či pšenice, zrnka rýže, kukuřice, mouka, pudinkový prášek, voda, Lugolův roztok (5 g jodu a 10 g KI ve 100 ml destilované vody, uchováme v tmavé lahvičce)

Přístroje: mikroskop

2.5.3 PRACOVNÍ POSTUP

Rozřízněte hlízu bramboru a pomocí preparační jehly seškrábněte trochu šťávy z řezné plochy čerstvě rozřezané hlízy bramboru a rozetřete ji na podložní sklíčko. Přikryjte krycím sklíčkem. Tvar škrobových zrn pozorujte pod mikroskopem. Preparát pro zvýraznění škrobových zrn probarvěte Lugolovým roztokem tak, že na jednu stranu krycího sklíčka kápnete malou kapku barviva a na druhé straně přiloženým filtračním papírem odsáváte přebytečnou vodu. Tímto způsobem dosáhnete plynulejšího probarvení škrobových zrn.

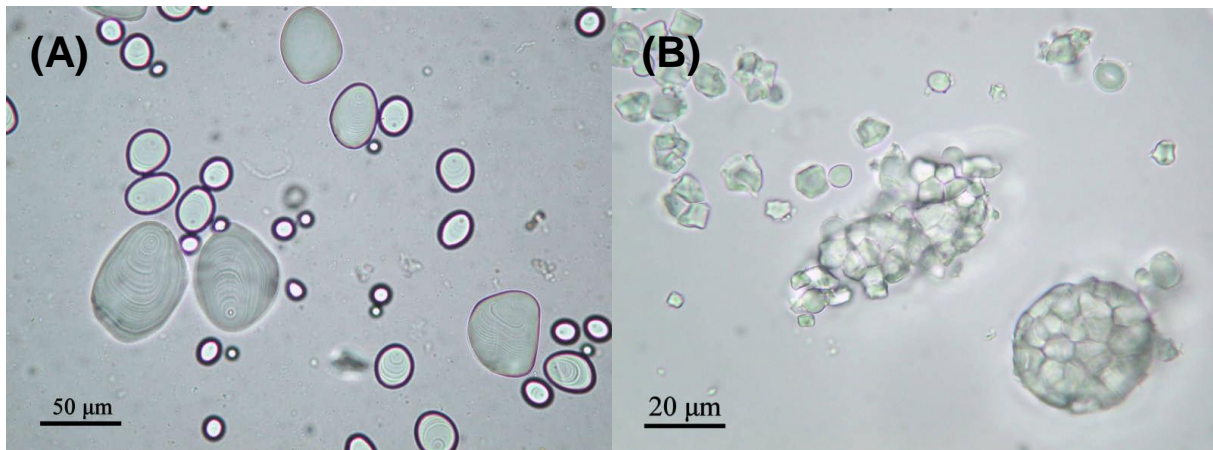
Na jiná podložní sklíčka naneste velmi malá množství pšeničného, rýžového nebo kukuřičného škrobu. Lze také použít trochu mouky či pudinkového prášku rozmíchaného ve vodě k pozorování škrobových zrn. V případě použití obilek ovsa, rýže či jiné obiloviny rozpuťte obilku a preparační jehlou seškrábněte trochu endospermu (vnitřní část obilky). Ve všech případech pozorujte při malém zvětšení. Zakreslete jednotlivé tvary zrn (Obrázek 4).

2.5.4 VYHODNOCENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016



Obrázek 4: Škrobová zrna (A) lilku bramboru a (B) ovsa setého. (převzato z : http://www.sci.muni.cz/~anatomy/cytology/html/intro_2.htm).

2.6 DŮKAZ POLYSACHARIDU REAKCÍ S JODEM

2.6.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Polysacharidy jsou tvořeny více než deseti cukernými jednotkami. Řadí se k nim například škrob a celulóza. Škrob, který je možné dokázat reakcí s jodem, je složen z amylosy a amylopektinu. Amylosa poskytuje s jodem intenzivní modré zbarvení. Podstata reakce spočívá v tom, že molekuly jodu pronikají do dutin vytvořených šroubovicí polysacharidu a ve formě klathrátu jeví změněné vlastnosti. V důsledku vzniku nevazebných interakcí volných elektronových párů agregátu $KI.I_n$ (Lugolova roztoku) s vodíky hydroxylových skupin uvnitř šroubovice amylosy škrobu dochází ke změně absorpční energie roztoku jódu a k posunu barevného spektra z fialové do modré oblasti (metachromasie).

2.6.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: Petriho misky, zkumavky, kapátko či Pasteurova pipeta

Chemikálie: Lugolův roztok, 1% roztok glukosy, 1% roztok škrobu, vyizolovaný škrob z úlohy 2.4, jogurt,

2.6.3 PRACOVNÍ POSTUP

K 1 ml 1% roztoku glukosy, škrobu a bramborového škrobu z úlohy 2.4 ve zkumavkách přikápněte kapku Lugolova roztoku. Na Petriho misky dejte vzorky jako rohlík, vločky, piškoty, jogurt, jablko a zakápněte Lugolovým roztokem. Pozorujte zbarvení a zapište do tabulky.

2.1.4 VYHODNOCENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Je-li ve vzorcích přítomen škrob, vzniká modré zbarvení. Červené zbarvení svědčí o přítomnosti glykogenu nebo kratších polysacharidových řetězců vzniklých částečným štěpením škrobu. Pozitivní reakci na škrob dává škrob z brambory, piškoty, rohlík, vločky. Roztok glukosy, jablko a jogurt dávají negativní reakci, neboť neobsahují škrob. Pozor, v případě jogurtu se může objevit pozitivní reakce u ovocného jogurtu, neboť se do něj přidává škrob na zvýšení hustoty, v bílém jogurtu by škrob být neměl.

2.7 VÝROBA GUMOVÝCH MEDVÍDKŮ

2.6.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Gumový medvídek nebo také gumoví medvídci jsou oblíbené [gumové sladkosti](#) ve tvaru [medvěda](#), které mají původ v [Německu](#), ale rychle si získaly celosvětový ohlas převážně u dětí. Gumoví medvídci se skládají z cukru (poměrně mnoho cukru, jedno balení může obsahovat až 80 kostek cukru), [hroznového cukru](#), [potravinářského barviva](#), [želatiny](#), ochucovadel, aromat a dalších složek. Medvídci nejčastěji chutnají po [ananasu](#), [pomeranči](#), [citronu](#), [jahodě](#), [malině](#) a po [jablku](#).

2.6.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, skleněná tyčinka, špachtle, lžička, pinzeta, nůž, teploměr, filtrační nálevka, odměrný válec, alobal, gáza, vanička či plech, formičky na medvídky

Chemikálie: sacharosa, kyselina vinná, kukuřičný škrob, želatina, kyselina jablečná, potravinářské barviva a ovocné aroma, červená řepa

Přístroje: elektromagnetická míchačka se zahříváním (vařič), váhy

2.6.3 PRACOVNÍ POSTUP

Izolace přírodního červeného barviva: asi 50 g červené řepy posekejte na malé kousky a přidejte 1 lžičku cukru, ponechte působit asi 30 minut. Vzniklou suspenzi protlačte přes gázu a šťávu použijte jako barvivo.

Příprava cukrového sirupu: Do 200 ml kádinky navažte 45 g sacharosy, přidejte špachtlí špetku kyseliny vinné a 20 ml vody. Promíchejte a zahřejte na 75°C. Tuto teplotu udržujte asi 30 minut. Vzniká sirupovitá látka.

Do 400 ml kádinky navažte 20 g želatiny a přidejte 30 ml vody. Ponechte 15 minut stát, než želatina nabobtná. Do druhé 200 ml kádinky navažte 55 g sacharosy, přidejte 15 ml vody a vařte tak dlouho, než roztok dosáhne teploty 115°C. Poté ihned odstavte kádinku z vařiče.

Nabobtnalou želatinu roztopte (avšak teplota nesmí přesáhnout 75°C). K teplé želatině přidejte cukrový sirup a roztok cukru. Dobře promíchejte.

Do takto připravené základní směsi přidejte 5 kapek aroma nebo ovocného sirupu. Poté přidejte trochu kyseliny jablečné a ochutnejte. Nakonec přidejte vyrobené přírodní barvivo z červené řepy nebo asi 3 kapky potravinářského barviva. Nechte směs několik minut stát a poté ji rozlévejte pomocí skleněné tyčinky či malé nálevky do formiček.

Po asi 10 hodinách medvídci ztuhnou. Pomocí pinzety je vyloupněte z formiček a ochutnejte.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

3. DŮKAZ A STANOVENÍ LIPIDŮ

Lipidy (z řeckého *lipos* = tučný) jsou heterogenní skupinou biologických látek rostlinného i živočišného původu. Jsou velmi málo rozpustné ve vodě, ochotně se však rozpouští v nepolárních rozpouštědlech jako je benzen, ether či chloroform. Zahrnují chemicky tak odlišné sloučeniny, jako jsou triacylglyceroly (tuky), oleje, vosky, vitamíny, terpeny, steroidy (cholesterol), karotenoidy. Z biologického hlediska slouží tuky jako významný zdroj energie a také plní funkci zásobní. Tuky jsou za běžných teplot pevné látky (převládají zde nasycené mastné kyseliny), oleje jsou kapaliny (převládají nenasyčené mastné kyseliny).

3.1 DŮKAZ TUKŮ V POTRAVINÁCH

3.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Tuky (lipidy) se dají rozdělit na nasycené mastné kyseliny (většinou živočišného původu), ty jsou obsažené v mase, mléce, másle, šlehačce, sýrech, vejcích, paštikách, salámech a podobně a určitou měrou přispívají i ke zvyšování cholesterolu v krvi. Oproti tomu druhé tuky – nenasyčené mastné kyseliny (většinou rostlinného původu) jsou tělu prospěšnější a jsou obsažené ve lněném oleji, rybách, avokádu, sóje, olivovém oleji, slunečnicovém a dalších rostlinných olejích.

Nepolární azobarvivo Sudan III se používá na důkazovou reakci lipidů.

3.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, filtrační papír, třecí miska s tloučkem

Chemikálie: barvivo Sudan III v ethanolu, ethanol, ocet, voda, olej, sádlo, sýr, ořechy, semínka dýně či slunečnice, kokos, mák, maso

3.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Filtrační papír nastříhejte na čtverce asi 4 x 4 cm. Vzorky vody, octa a oleje nakápněte na filtrační papír. V případě tuhých vzorků (ořechy, mák, ...) je rozmačkejte mezi listy filtračního papíru a odstraňte zbytky materiálu. Všimněte si, zda na papíře zůstala „mastná skvrna“. Takto připravené vzorky na filtračním papíru vložte na 2 minuty do roztoku barviva Sudan III. Poté papíry proplachujte v ethanolu, dokud se nevymyje přebytečné barvivo.

3.1.4 VYHODNOCENÍ

Mastná skvrna na papíře se barvivem Sudan III zbarví na červeno. Voda a ocet neobsahují tuky, proto nepozorujeme červenou skvrnu tak jako v případě ostatních vzorků (ořechy, sýr, maso, ...).

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

3.2 DŮKAZ TUKU V BUŇKÁCH KVASINEK

3.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Kvasinky jsou jednobuněčné [houbové mikroorganismy](#). Cytoplazmatická membrána je složena z fosfolipidů a proteinů. Jsou výborným pokusným objektem, neboť ve 100 g kvasinek je asi 1,3 g tuku. Obsahují lipidy strukturní (volné steroly v membráně), zásobní (sterolové estery) a funkční (deriváty fosfoglyceridů).

Pekařské droždí je živý organismus. Obsahuje miliardy mikroorganismů - kvasinek. Ty jsou viditelné jen pod mikroskopem, ale pro představu, 1 g droždí jich obsahuje cca 10 miliard. Nepolární azobarvivo Sudan III se používá na důkazovou reakci lipidů v těle kvasinek.

3.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, kapátko, krycí a podložní sklíčko

Chemikálie: barvivo Sudan III v ethanolu, kvasnice (pekařské droždí)

Přístroje: mikroskop

3.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

V malé kádince připravte mléčně zbarvenou suspenzi kvasnic. Kapku suspenze přeneste na podložní sklíčko a přidejte kapku alkoholového roztoku Sudan III. Po chvíli přikryjte krycím sklíčkem a pozorujte v mikroskopu při zvětšení asi 60krát.

3.2.4 VYHODNOCENÍ

V buňkách kvasinek se nachází červeně zbarvené kapičky – přítomnost tuku.

3.3 ŽLUKNUTÍ TUKŮ

3.3.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Žluknutí (též oxidace tuků) je proces [oxidace dvojných vazeb](#) nenasycených [mastných kyselin](#), obsažených především v [tucích](#) a jiných [lipidech](#), vzdušným [kyslíkem](#). Výsledkem tohoto procesu jsou nežádoucí produkty, zejména [aldehydy](#) a [ketony](#), které negativně mění jak zdravotní působení, tak i [chuťový](#) projev a [vůni potravin](#) obsahujících [nenasycené mastné kyseliny](#). Následkem je částečné nebo úplné znehodnocení potravin. Chemickou podstatou žluknutí je [adice molekuly](#) O₂ vzdušného kyslíku na [dvojnou vazbu](#) mastné kyseliny za vzniku [peroxidu](#), s následným štěpením uhlíkového řetězce za vzniku dvou koncových aldehydických skupin. Tekuté [oleje](#) s vysokým podílem nenasycených mastných kyselin jsou k oxidaci náchylnější než tuhé tuky. Oxidaci podporuje působení [ultrafialového záření](#) a může být také urychlena vhodnými [enzymy](#). Naopak potlačují ji tzv. [antioxidanty](#).

3.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Laboratorní materiál: zkumavky, pipeta, nůž, skleněná tyčinka, váhy, kádinka, vaříč, modrý lakmusový papírek

Chemikálie: líh (ethanol), čerstvé a žluklé staré máslo

3.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

V 5 ml ethanolu rozpustíte v jedné zkumavce 1 g čerstvého másla a v druhé zkumavce 1 g žluklého másla. Zkumavky vložte do vodní lázně a zahřívejte. Do zkumavek vložte vlhký lakmusový papírek tak, aby byl ponořený do roztoku ve zkumavce. Sledujte změnu barvy modrého lakmusového papírku.

3.3.4 VYHODNOCENÍ

U druhé zkumavky s rozpuštěným žluklým máslem pozorujeme změnu modré barvy papírku na červenou. Tučky působením tepla, světla, mikroorganismů a za přítomnosti vody a vzduchu žluknou. Nastává proces jejich oxidace a vznikají různé aldehydy, ketony a nižší karboxylové kyseliny, které způsobují změnu barvy indikátoru lakmusu.

3.4 ROZPUSTNOST TUKŮ

3.4.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Společným znakem lipidů je přítomnost velkých nepolárních uhlovodíkových struktur v molekulách, které jsou příčinou jejich hydrofobního charakteru. Jejich nerozpustnost v nepolárních rozpouštědlech vede k jejich ukládání v organismu jako zásobních látek, jsou také rozpouštědly důležitých biologických látek - vitamínů, hormonů, dále různých léčiv, barviv...

3.4.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: zkumavky, stojánek na zkumavky, pipeta

Chemikálie: aceton, benzín, diethylether, voda, jedlý olej, potravní tuk, sádlo

3.4.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do 4 označených zkumavek nalejte po 5 ml rozpouštědla (voda, aceton, benzín, diethylether) a do každé zkumavky přidejte 1 ml oleje, zazátkujte a protřepejte. Pozorujte, zda se olej rozpouští. Totéž zopakujte pro potravní tuk či sádlo.

3.4.4 VYHODNOCENÍ

Ve vodě (nepolární rozpouštědlo) se tuky a oleje nerozpouštějí vůbec a tvoří různorodou směs - emulzi. Při promíchání se pouze rozptýlí na kapičky (emulguje), potom se ale od vody opět oddělí. V polárních rozpouštědlech jako benzín či diethylether se tuky rozpouští.

3.5 STANOVENÍ VOLNÝCH MASTNÝCH KYSELIN V ROSTLINNÉM OLEJI

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

3.5.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Mastné kyseliny jsou alifatické monokarboxylové kyseliny, získané hydrolyzou přirozených lipidů. Mastné kyseliny se vyskytují hlavně jako estery v přírodních tucích a olejích, ale mohou být přítomné v neesterifikované podobě jako volné mastné kyseliny, které jsou transportní formou přítomnou v krevní plazmě. Mastné kyseliny v přírodních tucích mají zpravidla nevětvený řetězec obsahující sudý počet uhlíkových atomů, protože jsou syntetizovány z dvouuhlíkatých jednotek.

3.5.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: titrační baňka, byreta

Chemikálie: fenolftalein (1% etanolvý roztok), 0,1 M hydroxid sodný, vzorky oleje (olivový, slunečnicový, řepkový, ...)

3.5.3 PRACOVNÍ POSTUP

Stanovení obsahu volných mastných kyselin v rostlinném oleji (stanovení čísla kyselosti) proved'te následujícím způsobem:

Do titrační baňky odměřte 10 ml oleje, tento olej rozpust'ete ve 100 ml ethanolu a přidejte 5 kapek roztoku fenolftaleinu. Roztok titrujte odměrným roztokem hydroxidu draselného v ethanolu do růžového zbarvení. Zopakujte třikrát a zapište si průměrnou spotřebu činidla v ml.

3.5.4 VYHODNOCENÍ

Jaký je obsah volných mastných kyselin v analyzovaném oleji? Vyjádřete jako obsah olejové kyseliny v hmotnostních procentech.

3.6 VLASTNOSTI MÝDLA

3.6.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Mýdlo můžeme považovat za sodnou či draselnou sůl vyšších mastných kyselin – například palmitan sodný $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COONa}$, který se ve vodě rozkládá za vzniku kyseliny palmitové $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$ a hydroxidu sodného. Kyselina palmitová reaguje s chloridem vápenatým nebo hořečnatým za vzniku sraženin, které mají bílou barvu. Sodné mýdla jsou tuhá a používají se jako čistící a prací prostředky. Naopak draselné mýdla jsou mazlavá a používají se k výrobě dezinfekčních přípravků. Mýdla vznikají reakcí zvanou zmydelňování – alkalická hydrolyza esterů za vzniku příslušného alkoholu a alkalické soli mastné kyseliny.

3.6.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: Petriho miska, zkumavky, stojan na zkumavky, pipeta, struhadlo

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Chemikálie: fenolftalein (1% etanolvý roztok), ethanol, 5% roztok CaCl_2 a MgCl_2 , 20% roztok kyseliny sírové, mletý pepř, červená paprika, Jar, olej, mýdlo

3.6.3 PRACOVNÍ POSTUP

1. Asi 2 g nastrohaného mýdla rozpusťte v 1 ml ethanolu ve zkumavce. Přikápněte 2 kapky fenolftaleinu. Pozorujte zbarvení.
2. Po malých dávkách přidávejte asi 10-15 ml vody do zkumavky z úkolu č.1, zkumavku protřepávejte a sledujte barvu roztoku.
3. Obsah zkumavky rozdělte do 2 zkumavek:
 - a) do první zkumavky přidejte 1 ml 5% roztoku chloridu vápenatého nebo chloridu hořečnatého,
 - b) do druhé zkumavky přidejte 1 ml 20% roztoku kyseliny sírové.
4. Petriho misku naplňte vodou a na hladinu nasypete mletý pepř. Doprostřed hladiny ponořte růžek mýdlové kostky a pozorujte.
5. Obarvíte olej červenou paprikou. Dvě zkumavky naplňte vodou:
 - a) do první zkumavky přidejte pár kapek Jaru,
 - b) do obou zkumavek nalijte asi 2 ml obarveného oleje,
 - c) zkumavky důkladně protřepejte.

3.6.4 VYHODNOCENÍ

1. Mýdlo se v lihu nerozpouští, proto se fenolftalein nezbarví.
2. Čím více vody přiléváme, tím více se mýdlo rozpouští a roztok se zbarvuje fialově, je alkalický v důsledku přítomnosti NaOH vzniklého rozkladem mýdla. Vzniká kyselina palmitová.
 - a) Mýdlo se sráží – přítomnost bílé sraženiny, vznikají nerozpustné vápenaté nebo hořečnaté soli mastných kyselin.
 - b) Vznikají sraženiny, silná kyselina H_2SO_4 vytěsňuje z roztoku mýdla mastné kyseliny, které jsou ve vodě nerozpustné.
4. Mýdlo je složeno z dlouhých molekul, které mají dva konce: hydrofilní = „vodě přátelský“ a hydrofobní = „vodě nepřátelský“. Při rozpouštění pronikají hydrofilní konce molekul do vodní hladiny, rovnají se v ní vedle sebe, rozdělují ji a tím snižují povrchové napětí vody.
5. Olej je hydrofobní kapalina. Jar obsahuje molekuly, které mají hydrofilní a hydrofobní konec. Podle principu „stejný se rozpouští ve stejném“ pronikají hydrofobní konce molekul Jaru do oleje, kdežto hydrofilní konce vyčnívají z povrchu každé olejové kapky. Tyto hydrofilní konce jsou stejně (záporně) nabitý a navzájem se odpuzují. Nemohou se tedy opět shlukovat a vznášejí se, jelikož jsou velmi lehké, ve vodě. Taková směs kapalin se nazývá emulze.

4. STANOVENÍ A DŮKAZY VITAMÍNŮ

Vitamín (někdy také *vitamin* – podle latinského *vital* a *amine* = „životně důležité aminy“, ačkoli podle dnešních poznatků nejde o [aminy](#), název se ujal) je látka, která spolu s

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

bílkovinami, tuky a sacharidy patří k základním složkám lidské potravy. V lidském organismu mají vitamíny funkci katalyzátorů biochemických reakcí. Podílejí se na metabolismu bílkovin, tuků a cukrů. Existuje 13 základních typů vitamínů. Lidský organismus si, až na některé výjimky, nedokáže vitamíny sám vyrobit, a proto je musí získávat prostřednictvím stravy.

4.1 KVANTITATIVNÍ DŮKAZ VITAMÍNŮ

4.4.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Vitamíny dělíme na rozpustné v tucích (vitamín A, D, E, K) a rozpustné ve vodě (vitamín C, H – biotin a skupina vitamínu B – B-komplex). Komplex vitamínů B – pro člověka má význam B1, B2, B6, B12, H a PP faktor.

4.4.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: třecí miska s tloučkem, filtrační aparatura, kádinky, zkumavky, stojánek na zkumavky, odměrná baňka, struhadlo, pH papírek

Chemikálie: benzín, konc. H_2SO_4 , Fehlingovo činidlo, 30% H_2O_2 , 5 % roztok dusičnanu stříbrného, 12% HCl, $KMnO_4$, anilín, činidlo I (50ml 5,8% $NaHCO_3$ a 50 ml 4% NaOH), činidlo II (kyselina p-diazobenzensulfanová, 0,9g kyseliny sulfanilové rozpustíme v 9 ml konc. HCl a doplníme vodou do 100 ml). Potom 1,5 ml tohoto roztoku nalajeme do 50 ml odměrné baňky stojící v ledu a přidáme 1,5 ml čerstvě připraveného 5% roztoku $NaNO_3$. Dále během 1 minuty přidáme postupně za chlazení vodu po značku 50 ml. Ponecháme ještě 15 minut v ledu za občasných protřepání.

Materiál: mrkev, pomeranč, Celaskon, Spofavit (vitamínový doplněk stravy z lékárny), rybí tuk, šípky, kvasnice

4.4.3 PRACOVNÍ POSTUP

1. V mrkvi, Spofavitu a šípku dokažte vitamin A:

A) Dužninu šípku a kousek mrkve najemno rozstrouhejte a spolu s na prášek rozdrceným Spofavitem dejte zvlášť do tří zkumavek a přilijte 3 ml benzínu. Důkladně protřepejte a nechejte ustát 3 minuty. Potom benzín slijte na hodinové sklíčko a ponechejte odpařit. Pak na sklíčko přikápněte několik kapek kyseliny sírové.

B) Asi 10 kapek rybího oleje přidejte k chloroformovému roztoku chloridu antimonitého (3 ml).

2. Důkaz vitamínu C:

A) Důkaz v Celaskonu, Spofavitu.

B) Důkaz v přírodním materiálu (pomerančová šťáva). Nejprve musíte kyselinu L-askorbovou vázanou v askorbigenu uvolnit např. působením kyseliny chlorovodíkové.

a) 3 ml dusičnanu stříbrného a několik kapek amoniaku + 2 ml roztoku vit. C – zahřejte – vzniká černá sraženina

b) 2 ml Fehlingova činidla + 2 ml roztoku vit. C – zahřejte – Fehlingův roztok



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



Univerzita Palackého
v Olomouci

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

se odbarvuje, vylučuje se červený oxid měďný

- c) 1 g šípků nebo citrónu rozdrtíte v misce s pískem a přidejte po částech 25 ml 12% HCl. Zfiltrujte a takto získaný filtrát rozdělte na dvě části.
- d) K první části filtrátu ve zkumavce přidejte stejný objem 30% H₂O₂. Považte asi 3 minuty a přidejte po kapkách manganistan draselný. Současně k druhé části filtrátu přidávejte jen roztok manganistanu draselného. Sledujte obě zkumavky a pozorujte odbarvení roztoků KMnO₄ v obou zkumavkách. Vysvětlete rozdílné chování.

3. Důkaz vitamínu B₁:

Sušené pivovarské kvasnice rozmíchejte s vodou a nechejte stát 3 hodiny za občasného promíchání (50 ml vody na 5 g kvasnic). Roztok zfiltrujte a filtrát odpařte do sucha. Před reakcí zřeďte vodou (10 ml) a okyselte HCl do pH 3.

Do zkumavky dejte 1ml činidla I a 10 kapek činidla II. Přidejte 20 kapek extraktu z kvasnic. Je-li přítomen B₁, vznikne žluté zbarvení, které přechází během 2-3 minut v růžové.

4. V roztoku Spofavitu a Infadinu (rybím tuku) dokažte vitamín D:

Do zkumavek se Spofavitem či rybím tukem přidejte 5 ml koncentrované kyseliny sírové a považte 30-40 sekund. Žlutá barva se mění v rudou.

4.4.4 VYHODNOCENÍ

1A) Karoten, který se v benzínu rozpustil, se po odpaření benzínu usadí v podobě kruhů. Po přidání kyseliny sírové se zbarví modře – fialově až hnědě.

1B) Modré zbarvení roztoku dokazuje přítomnost vitamínu A. Po zmizení modrého zbarvení se roztok zbarví červeně, což dokazuje přítomnost vitamínu D.

2A,B) Kyselina L-askorbová má silné redukční účinky, ztrátou vodíku se dehydrogenuje na kyselinu L-dehydroaskorbovou. Pozn. Reakce není specifická, dává ji řada jiných látek, např. fruktosa, laktosa, pepsin aj.

3) Thiamin poskytuje při reakci s diazotovanou kyselinou sulfanilovou sloučeninu, která je růžově zbarvena vzniklým azobarvivem.

4.2 OVĚŘENÍ MNOŽSTVÍ VITAMÍNU C V OVOCI A ZELENINĚ

6.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Vitamín C (kyselina askorbová) je ve [vodě rozpustná látka](#) a [vitamín](#) nezbytný k životu a udržení tělesného zdraví. Je citlivý na [teplo](#) a vysoce citlivý na [oxidaci](#). Při tepelném zpracování potravin v nich dochází k úbytku vitamínu C. Vařením se ničí až 60% vitamínu C, sušením až 50%, šetrnější je dušení v páře. Velké ztráty způsobuje tepelná [konzervace](#). Nejšetrnější k vitamínu C je mražení.

6.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: třecí miska s tloučkem, filtrační aparatura, nálevka, zkumavky



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



Univerzita Palackého
v Olomouci

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

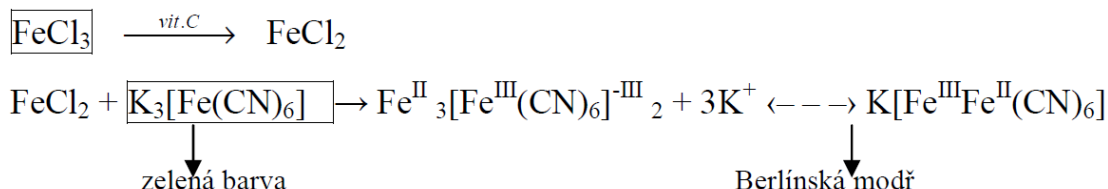
Chemikálie: 5% roztok chloridu železitého, 5% roztok hexakynoželezitanu draselného, tableta Celaskonu, vzorek ovoce či zeleniny (jablko, citron, cibule, mrkev, ...)

6.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Rozetřete asi 5 g vzorku 5 ml destilované vody v třecí misce a směs přefiltrujte do čisté zkumavky. K filtrátu přidejte 2 ml roztoku chloridu železitého a potom stejný objem roztoku hexakynoželezitanu draselného. Zaznamenejte barevné změny ve zkumavce a porovnejte barevné výsledky u použitých vzorků ovoce a zeleniny s kontrolním vzorkem (Celaskonem). Popište chemický průběh reakce.

6.1.4 VYHODNOCENÍ

Po přidání obou směsí roztoků k vitamínu C se směs zbarví temně zeleně. Časem přechází zbarvení do modrozelené (Berlínská modř). Barevné změny jsou důsledkem přítomnosti vitamínu C jako redukčního činidla.



4.3 MNOŽSTVÍ VITAMÍNU C V NÁPOJÍCH

6.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

V potravinářském průmyslu se kyselina askorbová (vitamín C) používá k omezení oxidace v potravinách. Snižuje oxidaci tuků, přidává se proto zejména do uzenin, ve kterých pomáhá udržovat červenou barvu. Množství vitamínu C lze určit titrací po odečtení z kalibrační křivky standardu.

6.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: titrační baňka, byreta, pipeta

Chemikálie: tablety Celaskonu, 0,1% roztok vitamínu C (pomerančový džus, limonáda), 6 M kyselina octová, 1% roztok škrobu, roztok jodu v KI (1% KI, 0,125% I₂)

6.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Nejprve si připravte kalibrační křivku pomocí titrace standardu Celaskonu: do 125 ml titrační baňky odpipetujte 25 ml standardu o známé koncentraci, přidejte 2 ml 6 M kyseliny octové a

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

3 ml 1% škrobu. Pomocí byrety titrujte roztokem jodu v KI až do modrého zbarvení a zaznamenejte spotřebu. Zakreslete titrační křivku.

Pro vlastní titraci pro určení kvantitativního množství vitamínu C v nápoji použijte přefiltrovaný džus, limonádu či šťávu z kompotu. Použijte postup stejný jako pro titraci Celaskonu, podle spotřeby titračního roztoku jodu v KI odečítejte příslušnou koncentraci vitamínu C.

6.1.4 VYHODNOCENÍ

Pro titraci se používá roztok jodu v KI a detekuje se pomocí reakce jodu se škrobem (do modrého zbarvení v bodě ekvivalence).

5. ANALÝZA MEDU

Med je hustá sladká a lepkavá [kapalina](#), vytvářená [včelami](#), případně i jiným [hmyzem](#) sběrem a zahušťováním sladkých šťáv – především [nektaru květů](#) (med květový) a výměšků hmyzu (mšice, [medovice](#)) živícího se sáním mízy rostlin (med medovicový). Na 1 kg medu musí jedna včela obletět přibližně milion květů. Ne nadarmo se tedy říká pilný jako včelka ☺.

Medů je několik druhů, které se liší květinami, které včely navštíví. Základní tři druhy jsou: Med květový, Med míšený, Med lesní. Med květový je přírodní koncentrát nektaru z květin rostlin, v převážné většině z rostlin léčivých. Je snadno stravitelný díky vyššímu obsahu jednoduchých cukrů - glukosy a fruktosy. Med lesní je zpravidla tmavší, což způsobují rostlinná barviva v míze dřevin. V porovnání s květovými medy obsahuje více fruktosy a dextrinů, ale hlavně větší množství minerálních látek a stopových prvků. Smíšený med se získá z opylení malin, lípy a ostružin, ale také z bylin a později kvetoucích květin. Tento med je tmavší barvy než květový med a krystalizace je pomalejší.

5.1 STANOVENÍ KYSELOSTI MEDU

5.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

pH medu je běžně v rozmezí hodnot 3,2 až 4,5. Tento relativně vysoký stupeň kyselosti zabraňuje růstu [bakterií](#) způsobujících infekci. Kyselost také závisí na druhu medu. Například med květový má všeobecně nižší pH než med lesní, neboli [medovicový](#) med.

Kyselost medu je měřena titrací zásadou. Stanovení kyselosti medu je tedy založeno na alkalimetrickém stanovení s využitím odměrného roztoku hydroxidu sodného (NaOH) titrační metodou na acidobazický indikátor fenolftalein. Spotřebované množství zásady (NaOH) v ml na neutralizaci kyselin v 1 kg medu je poté mírou obsahu volných kyselin vyjádřených jako miliekvivalent na kg (mekv/kg) medu. Jde o metodu analytické chemie kvantitativní, odměrnou (volumetrickou) z acidobazických titrací.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Legislativní požadavky na kyselost medu (v mekv/kg) dle Přílohy č. 3 k vyhlášce č. 76/2003 Sb.:

Med květový – 50,0

Med medovicový (lesní) – 50,0

Med pekařský (průmyslový) – 80,0

5.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: skleněná tyčinka, titrační baňka, byreta, pipeta, univerzální indikátorový pH papírek

Chemikálie: vzorky medu, fenolftalein (1% etanolový roztok), 0,1 M hydroxid sodný

5.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

K 10 g medu přidejte 75 ml destilované vody a roztok rozmíchejte skleněnou tyčinkou až do rozpuštění medu. pH medu ověřte pomocí univerzálního indikátorového pH papírku. Poté přidejte asi 5 kapek fenolftaleinu a za stálého míchání titrujte z byrety 0,1 M roztokem hydroxidu sodného do růžového zbarvení, které je stabilní 10 sekund. Titrace nesmí trvat déle než 1 minutu! Výslednou spotřebu NaOH odečteme na desetiny mililitru.

U tmavého medu může být růžové zbarvení velmi málo patrné, proto místo 10 g medu navažte jen 5 g (pozor – u hodnocení výsledku nutno násobit dvěma).

5.1.4 VYHODNOCENÍ

Kyselost medu vyjádřete jako množství 1 M NaOH spotřebovaného k neutralizaci volných kyselin ve 100 g medu. Spotřeba 0,1 M roztoku NaOH v ml při titraci 10 g medu udává počet ml 1 M NaOH spotřebovaných k neutralizaci kyselin ve 100 g medu.

5.2 STANOVENÍ OBSAHU PROLINU V MEDU

5.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

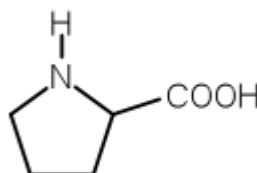
Prolin (Obrázek 5) je nejvýznamnější aminokyselinou obsaženou v medu. Obsah prolinu je důležitý pro určení vyžralosti a pravosti medu. Stanovuje se s cílem zjistit vyžralost medu a jeho případné porušení přidávkem exogenních cukrů po vytočení medu. V Německu se považují medy s obsahem prolinu nižším jak 180 mg/kg za podezřelé z porušení.

Princip stanovení: Prolin tvoří po reakci s kyselinou mravenčí s ninhydrinem barevný komplex. Po přidání 2-propanolu je měřena absorbance při vlnové délce 510 nm. Interference ostatních aminokyselin je $\leq 5\%$.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016



Obrázek 5: Prolin

5.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: pipeta, byreta, odměrný válec, odměrná zkumavka, zkumavky se zátkami, titrační baňka, lžička, magnetické míchadlo, univerzální pH papírek

Chemikálie: prolin, koncentrovaná kyselina mravenčí, 3% roztok ninhydrinu, 2-propanol, vzorky medu

Přístroje: spektrofotometr

5.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

Ze zásobního roztoku prolinu (40 mg v 50 ml destilované vody) připravte standardní roztok prolinu do 25 ml odměrné baňky (0,8 mg v 25 ml destilované vody). Do kádinky navažte přibližně 5 g medu a rozpustěte jej v 50 ml destilované vody. Roztok kvantitativně převedte do 100 ml odměrné baňky, doplňte destilovanou vodou po rysku a promíchejte.

Připravte si pět 25 ml odměrných baněk a řádně si je označte popisky. Do první 25 ml odměrné baňky odpipetujte 0,5 ml roztoku medu, do druhé 0,5 ml destilované vody a do zbylých tří baněk 0,5 ml standardního roztoku prolinu. Do všech pěti baněk přidejte 1 ml koncentrované kyseliny mravenčí a 1 ml 3% roztoku ninhydrinu. Baňky uzavřete a 15 minut s nimi intenzivně třepejte. Poté je vložte na 15 minut do vroucí lázně a nakonec na 10 minut do vodní lázně o teplotě 70°C. Po vyjmutí přidejte 5 ml 50% roztoku 2-propanolu a ihned baňku uzavřete a ponechejte chladnout. Po 45 minutách změřte jejich absorbanci při 510 nm proti slepému pokusu (baňka č. 2 pouze s vodou).

5.2.4 VYHODNOCENÍ

Obsah prolinu v analyzovaném vzorku medu (v mg prolinu na 1 kg medu) lze vypočítat následovně:

$$x = ((A_{vz} \cdot m_{st}) / (A_{st} \cdot m_{vz})) \cdot 80,$$

kde A_{vz} je absorbance vzorku medu, A_{st} je absorbance standardu prolinu, m_{st} je navážka prolinu na přípravu standardního roztoku v mg, m_{vz} je navážka medu v g a 80 je dilatační faktor.

5.3 DŮKAZ PORUŠENÍ MEDU SACHAROSOVÝM SIRUPEM

5.3.1 TEORETICKÝ ÚVOD

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Jednoduchý test na falšování medu (Obrázek 6) je pouze orientační a rozezná pouze silnější porušení medu. Princip metody spočívá v rozdílné rozpustnosti a chování se medu a porušovadla ve studené vodě. Neporušený med postupně vléváný do sklenice se studenou vodou se při průchodem vodního sloupce viditelně nerozpouští a pravidelně se skládá u dna sklenice. Čím větší podíl v medu tvoří přimísenina sacharosového sirupu, tím více dochází při vlévání takto porušeného medu do studené vody k jejímu zakalení a nepravidelným turbulencím vlivem nestejného rozpouštění medu a uměle přidané sacharosy.

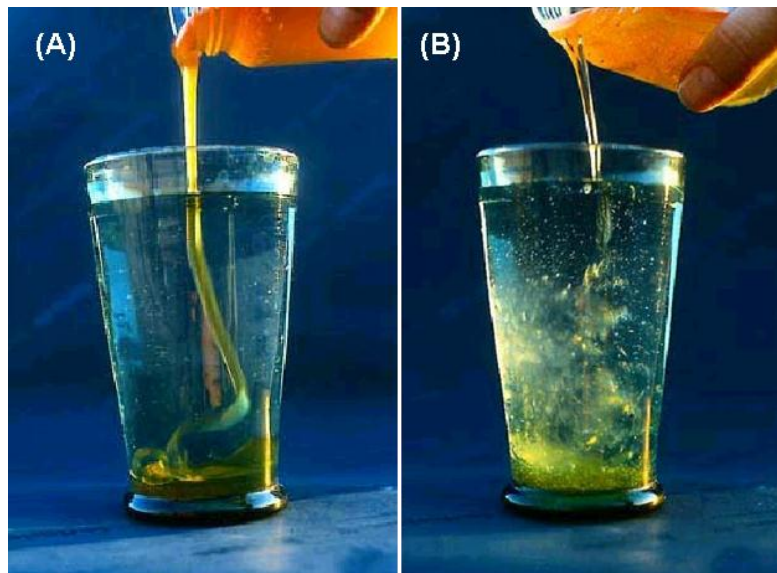
5.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky či sklenice s vodou, vzorky medu

5.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

a) čistý med proudí a skládá se bez rozpouštění b) a c) med míchaný homogenně se stejným množstvím 70% cukrového sirupu neteče tak přímo a vytváří zakalení téměř okamžitě, ale zvláště po lití většího množství nebo je-li mírně narušený vodou. Medový sirup se skládá nepravidelně na dně. d) 70% cukrový sirup, Zakalení je ještě silnější a nenastává zřetelné usazování na dně.

5.3.4 VYHODNOCENÍ



Obrázek 6: Jednoduchý test na falšování medu. (A) pravý med ve studené vodě, (B) med smíchaný se 70% cukrovým sirupem (převzato z <http://ovcsvpardubice.blog.cz/0602/o-falsovani-medu-trocha-teorie>)

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

6. ANALÝZA MLÉKA

Mléko je produkt [mléčných žláz](#) samic [savců](#). Mléko je základním zdrojem výživy hlavně pro mláďata, která z tzv. „[mleziva](#)“ získávají potřebné protilátky a vitamíny pro upevnění své [imunity](#). S mlékem se setkáváme v různých podobách. Může to být čerstvé mléko, zkyslé mléko, sušené mléko, apod. Rostlinnými náhražkami kravského mléka jsou sojové mléko, rýžové mléko, mandlové mléko...

Je zdrojem kvalitních živočišných bílkovin, jejichž obsah se odtučňováním ani při tepelných úpravách příliš nemění (spíše jejich kvalita). Poměr dvou hlavních bílkovin mléka - kaseinu a syrovátkového proteinu (laktalbuminu) v mléce je 80 : 20.

Průměrné složení kravského mléka je následující:

Voda	87 %
Lipidy	4,6 %
Bílkoviny	3,1 %
Sacharidy	4,6 %
Minerální látky	0,7 %

6.1 DŮKAZ VODY V MLÉCE

6.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Voda je hlavní složkou mléka a je v něm obsažena z 80-90% v závislosti na zdroji. Mateřské mléko obsahuje 83-90 % vody, mléko kobyly 87-91 % a mléko kravské 85-89 %.

6.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: Petriho miska, lžička

Chemikálie: mléko, bezvodý CuSO_4

6.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do Petriho misky nalejte trochu mléka a malou lžičku bezvodého CuSO_4 . Pozorujte barevnou změnu krystalků.

6.1.4 VYHODNOCENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Bílé krystalky CuSO_4 ve vodě zmodrají, neboť na sebe naváží molekuly vody a vzniká $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (pentahydrát síranu měďnatého je též znám jako modrá skalice). V bezvodém stavu tvoří bílý prášek, který přijímáním vody modrá.

6.2 IZOLACE LAKTOSY A KASEINU Z MLÉKA

6.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Laktosa (mléčný cukr) je disacharid (podobně jako řepný cukr - sacharosa) a má i stejnou kalorickou hodnotu, i když nižší glykemický index. Na rozdíl od sacharosy však není sladký a může se tak u lidí, konzumujících velké dávky mléka jako zdroj bílkovin, stát skrytým zdrojem kalorií (1 l nekysaného mléka obsahuje asi 45 g cukru, tedy přibližně 3 polévkové lžičce!). Laktosa je redukující sacharid, což lze dokázat reakcí s Fehlingovým činidlem.

Kasein jako významný zdroj vápníku je hlavní bílkovinou mléka, mezi další bílkoviny se řadí albuminy, globuliny a syrovátkové bílkoviny. Z jogurtu člověk bílkoviny vstřebává rychleji než z mléka. Kasein se sráží z mléka při hodnotě pH, která je blízká jeho izoelektrickému bodu. Důkaz kaseinu jako bílkoviny se provádí biuretovou reakcí.

6.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, skleněná tyčinka, zkumavky, držák na zkumavky, kahan, filtrační aparatura, teploměr

Chemikálie: mléko, 8% kyselina octová (ocet), 20% roztok hydroxidu sodného, 1% roztok síranu měďnatého, Fehlingovo činidlo I a II

6.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do kádinky nalejte 20 ml mléka, přidejte 5-6 kapek kyseliny octové (ocet) a zamíchejte. Zahřejte na 50°C a vzniklou bílou sraženinu zfiltrujte. Přeneste několik ml filtrátu do zkumavky a zalkalizujte přebytkem hydroxidu sodného. Přidejte po 2 ml Fehlingova činidla I a II a zahřejte.

Se vzniklou sraženinou proveďte důkaz na bílkovinu kasein – biuretová reakce. Přidejte ke sraženině 1 ml roztoku hydroxidu sodného a opatrně po kapkách roztok síranu měďnatého.

6.2.4 VYHODNOCENÍ

Při reakci filtrátu s Fehlingovým činidlem vzniká červenooranžový oxid měďný, protože laktosa je redukující sacharid.

Po přidání kyseliny octové (ocet jako její zředěný roztok) do mléka se změní pH roztoku a vysráží se bílá sraženina – volný kasein (patří mezi fosfoproteidy). Při biuretové reakci se obsah zkumavky zbarví modrofialově – důkaz přítomnosti bílkovin.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

6.3 STANOVENÍ KYSELOSTI MLÉKA**6.3.1 TEORETICKÝ ÚVOD**

Mléko obsahuje laktosu (mléčný cukr), který bakterie přítomné v mléce postupně přeměňují na kyselinu mléčnou. Jakmile se koncentrace kyseliny zvýší nad určitou hodnotu, mléko zkysne (srazí se). Kyselost mléka se udává ve stupních °D. Jeden °D odpovídá 0,1 g kyseliny mléčné v 1 litru mléka. Čerstvé mléko obsahuje méně než 18 °D a nad 40 °D mléko „tvarohovatí“.

Celkovou titrační kyselost mléka zjistíme alkalimetrickou titrací hydroxidem sodným na fenolftalein jako indikátor.

6.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: titrační baňka, byreta, pipety

Chemikálie: fenolftalein (1% etanolový roztok), heptahydrát síranu kobaltnatého, 0,1 M hydroxid sodný, vzorek mléka (čerstvé nepasterované z farmy, pasterované, krabicové, ...)

6.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do titrační baňky odpipetujte 50 ml vzorku mléka a přidejte 2 ml roztoku fenolftaleinu. Roztok titrujte z byrety odměrným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,25 M do slabě růžového zbarvení, které má srovnávací roztok (50 ml vzorku mléka s 1 ml roztoku heptahydrátu síranu kobaltnatého). Zbarvení musí vydržet po dobu 1 minuty. Zaznamenejte si spotřebu titračního činidla.

6.3.4 VYHODNOCENÍ

Kyselost mléka dle Henkla vypočtete jako číslo spotřeby titrace 0,25 M hydroxidu sodného na 50 ml vzorku:

$$SH = a \cdot 2,$$

kde **a** je spotřeba titračního činidla na 50 ml vzorku.

Kyselost mléka vyjádřenou jako látkový obsah kyselin (v mmol/l) vypočtete dle vztahu:

$$N = (a \cdot c \cdot 1000) / V_{vz},$$

kde **a** je spotřeba titračního činidla na 50 ml vzorku, **c** je koncentrace odměrného roztoku hydroxidu sodného (tedy 0,25 M) a **V_{vz}** je objem vzorku v ml použitého ke stanovení.

Kyselost mléka ve stupních °D:

stupen kyselosti mléka x°D = spotřeba (NaOH) v ml . 4,5

m = c (NaOH) . V (NaOH) . M (kyselina mléčná) . faktor zředění

6.4 STANOVENÍ VÁPNIKU V MLÉCE**6.4.1 TEORETICKÝ ÚVOD**



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



Univerzita Palackého
v Olomouci

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

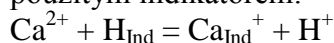
Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

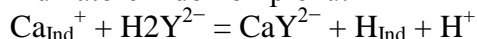
Z minerálních látek obsahuje mléko hlavně vápník (1220 mg/l), draslík (1440 mg/l), sodík (600 mg/l) a dále i hořčík a fosfor. Vápník je důležitý především pro tvorbu kostí a zubů, pro regulaci nervosvalové dráždivosti, pro správnou funkci převodního systému myokardu, pro správnou srážlivost krve a zachování vnitřního prostředí organismu. Nedostatečný příjem vápníku v seniorském věku urychluje vznik a průběh osteoporosy.

Pro stanovení vápníku v mléce lze použít komplexometrická titrace Chelatonem (metalochromním indikátorem) nebo gravimetrická metoda.

Při vlastním stanovení se nejdříve vytvoří komplex z přítomných vápenatých kationů s použitým indikátorem:



V průběhu titrace Chelaton 3 (dihydrát disodné soli EDTA) nejprve reaguje s volnými vápenatými kationty v roztoku a potom dochází k přechodu vápenatých kationtů vázaných indikátorem do komplexu:



6.4.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: titrační baňka, byreta, pipety

Chemikálie: indikátor fluorexon, 0,1 M hydroxid draselný, 0,05 M Chelaton 3, vzorek mléka (čerstvé nepasterované z farmy, pasterované, krabicové, ...)

6.4.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do titrační baňky odpipetujte 100 ml vzorku mléka s množstvím vápníku nejvýše 20 mg nebo menší množství vzorku, které doplníte na 100 ml destilovanou vodou. K takto upravenému roztoku přidejte 2 ml KOH, aby byl silně zásaditý (pH 12). Roztok promíchejte, přidejte indikátorovou směs (fluorexon) do zřetelně zeleného odstínu a titrujte odměrným roztokem Chelatonu 3 do fialově růžového zbarvení. Zaznamenejte si spotřebu titračního činidla.

6.4.4 VYHODNOCENÍ

$$c(\text{Ca}) = (c(\text{Ch 3}) \times V_t \times 10^3) / V_v$$

kde:

$c(\text{Ca})$ je látková koncentrace vápníku (mmol/l),

$c(\text{Ch 3})$ je látková koncentrace odměrného roztoku Chelatonu 3 (mol/l),

V_t je objem roztoku Chelatonu 3 spotřebovaný do konce titrace (ml),

V_v je objem vzorku vzatý k analýze (ml).

Pro přepočet látkové koncentrace na hmotnostní se používá hodnota molární hmotnosti vápníku $M(\text{Ca}) = 40,08 \text{ g/mol}$. Výsledky se uvádějí v mg vápníku/l.

6.5 STANOVENÍ VÁPŇÍKU V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH

6.5.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Vápník představuje v lidské potravě velmi významnou složku. 99% vápníku v lidském těle je obsaženo v kostech a zubech. Kromě toho se vápník napomáhá funkci srdce, svalů a nervové



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost



Univerzita Palackého
v Olomouci

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

soustavy. Denní dávka by měla činit 800-1000mg denně. Hlavním zdrojem vápníku v potravě je mléko a mléčné výrobky.

Pro stanovení Ca^{2+} iontů v mléce a mléčných výrobcích je možné využít chelatometrického stanovení. Principem chelatometrie je reakce Ca^{2+} s chelatonem III (odměrným činidlem), při níž vzniká málo disociovaný, ve vodě rozpustný komplex (vždy v molárním poměru 1:1). Vzhledem k tomu, že stálost těchto komplexů je závislá na pH, je potřeba při chelatometrických titracích udržovat určitou hodnotu pH, čehož dosáhneme použitím tlumivých roztoků (pufrů). Indikace bodu ekvivalence je prováděna vizuálně pomocí metalochromních indikátorů, které tvoří se stanovovaným kationtem slabý barevný komplex. Sledujeme barevnou změnu způsobenou vytěsněním kationtu z komplexu s indikátorem.

6.5.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: titrační aparatura, hodinové sklíčko, lžička, odměrné baňky 25 ml, titrační baňka, pipety

Chemikálie: 0,05 M chelaton III, 2M NaOH, murexid, vzorky mléčných výrobků

6.5.3 PRACOVNÍ POSTUP

Na hodinové sklíčko odvažte 10 g vzorku (jogurt, tavený sýr, pomazánkové máslo, ...). Naváženou potravinu rozpusťte v malém množství destilované vody. Roztok přelijte do 25 ml odměrné baňky a doplňte po rysku. Sestavte titrační aparaturu. Do titrační baňky odpipetujte 10 ml vzorku. Přidejte 5 ml 2M NaOH, špetku murexidu a dobře promíchejte. Do byrety nalijte roztok chelatonu III. Vzorek titrujte chelatonem, až se zbarví fialově. Odečtěte hodnotu spotřebovaného chelatonu a запиšte si ji.

6.5.4 VYHODNOCENÍ

Při chelatometrii jsou látková množství vápníku a chelatonu stejná:

$$n(\text{Ca}^{2+}) = n(\text{chelaton})$$

pro látkové množství platí $n = \frac{m}{M}$ nebo $n = c \cdot V$

m...hmotnost (navážka)

M... molární hmotnost

c... molární koncentrace

V... objem

$$\text{pro látková množství platí} \quad n(\text{Ca}^{2+}) = \frac{m(\text{Ca}^{2+})}{M(\text{Ca}^{2+})} = \frac{m(\text{Ca}^{2+})}{40,1}$$

$$n(\text{chelaton}) = c(\text{chelaton}) \cdot V(\text{chelaton}) = 0,05 \cdot V(\text{chelaton})$$

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Protože platí :

$$n(\text{Ca}^{2+}) = n(\text{chelaton})$$

$$\frac{m(\text{Ca}^{2+})}{40,1} = 0,05 \cdot V(\text{chelaton})$$

z tohoto vztahu vypočteme po dosazení objemu spotřebovaného chelatonu hmotnost vápenatých iontů v 10 ml vzorku (k titraci jsme odebrali pouze 10 ml).

Výsledek musíme vynásobit 2,5 krát, protože jsme k titraci odebírali 10 ml z 25 ml. Výsledek, který získáme, bude odpovídat hmotnosti vápníku v 10 g potraviny, které jsme analyzovali.

7. CHEMIE NÁPOJŮ A POCHUTIN

Jídlo a nápoje jsou důležitou součástí našeho každodenního života. A to jak z důvodu krytí našich vyživovacích potřeb, tak i pro naše potěšení. Hygiena a bezpečnost proto hrají nejdůležitější roli pro potravinářský průmysl. V mnoha oblastech výroby potravin, včetně pochutin a nápojů hraje analýza klíčovou roli: od sledování kvality potravin v počátečních krocích míchání a skladování až po sledování odpadních vod opouštějících výrobu.

Pochutiny, což jsou požitaviny bez výživné i energetické hodnoty, v potravinářství rozdělujeme na:

- koření (koření)
- alkaloidní (káva, čaj, kakao – obsahují alkaloidy kofein a theobromin)

7.1 STANOVENÍ KYSELIN V OVOCNÉ ŠŤÁVĚ

7.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Celková acidita – kyselost ovocných šťáv je způsobena přítomností karboxylových kyselin přirozeně obsažených v ovoci. Stanovení je založeno na neutralizaci kyselin hydroxidem sodným v přítomnosti indikátoru fenolftaleinu. Výsledek se vyjadřuje jako obsah ve vzorku nejvíce zastoupené kyseliny (bezvodé citronové kyseliny pro citrusové, bobulové ovoce a rajčata, jablečné pro peckové a jádrové ovoce, vinné pro hrozny vinné révy apod.).

7.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: titrační baňka, byreta, pipety

Chemikálie: fenolftalein (1% etanolový roztok), 0,1 M hydroxid sodný, vzorky ovocných šťáv (mošt, ovocný džus, sirup, ...)

7.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Stanovení celkového množství organických kyselin v ovocném nápoji proveďte následujícím způsobem:

Do titrační baňky odpipetujte 10 ml ovocného nápoje, ty nařeďte destilovanou vodou na objem přibližně 100 ml a přidejte 5 kapek roztoku fenolftaleinu. Roztok titrujte z byrety odměrným roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,1 M do růžového zbarvení. Zaznamenejte si spotřebu titračního činidla.

7.1.4 VYHODNOCENÍ

Jaký je obsah kyselin v analyzovaném nápoji? Vyjádřete jako obsah citrónové kyseliny v g ve 100 ml nápoje.

7.2 DŮKAZ CHININU V TONIKU

7.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Nealkoholický nápoj hořké chuti tonik vznikl pravděpodobně v roce 1825 v Indii díky britským kolonizátorům. Alkaloid chinin je ve velkém množství obsažen v kůře chinovníků, ale také v dostupnějších rostlinách rodu *Remijia*, ze které se nyní vyrábí tonikové nápoje. Detekovat ho lze v nápojích chromatografií na tenké vrstvě (nejčastěji silufol) po ozáření silufolu UV světlem, neboť v UV světle chinin fluoreskuje (Obrázek 7). Chinin se také používá jako účinné antimalarikum. Chinin (Obrázek 8) je methoxyderivát cinchoninu s chemickým vzorcem $C_{20}H_{24}N_2O_2$. Jelikož se jedná o alkaloid, má zásadité vlastnosti.

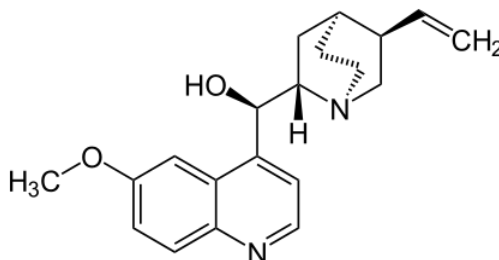


Obrázek 7: Tonik s obsahem chininu pod UV světlem, kde fluoreskuje (převzato z: http://en.wikipedia.org/wiki/Tonic_water).

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016



Obrázek 8: Chemický vzorec chininu.

7.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: chromatografická deska – plastická folie silikagel, třecí miska, kádinky, sada automatických pipet, hamiltonky, tužka, pravítko, chromatografická vana

Chemikálie: 96 % ethanol, vyvíjecí soustava: ethylacetát : methanol : amoniak (34 : 4 : 2), vzorky toniku obsahující chinin, komerční chinin

Přístroje: UV – lampa (s vlnovou délkou 254 a 366 nm), fén, vodní lázeň.

7.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

Příprava standardu: Preparát chininu (prášek či tabletová forma) navážíte na analytických vahách přímo (asi 200 mg) do připravených ependorfeček a rozpustíte v ethanolu. Pokud je povrch tablety pokryt obalem, musíte obal odstranit nebo smýt. Standardní roztok chininu přenesete do lahvičky a označíte jej datem přípravy. Skladujeme ve tmě a chladu (0-4°C).

Příprava toniku: Nápoj tonik s obsahem chininu (asi 20 ml) nalijete do odpařovací misky a necháte odpařit na vodní lázni tak, aby se objem zkoncentroval na asi 2 ml.

Chromatografie: Na chromatografické desce (silufolu) vyznačíme měkkou tužkou místa startů. Pomocí hamiltonky nanese potřebná množství vzorků zkoncentrovaného toniku (1–4 kapky) a příslušný standardní roztok chininu. Vzdálenosti mezi nanášenými vzorky nesmí být menší než 15 mm a průměr nanášených skvrn nesmí být větší jak 5 mm. V průběhu nanášení skvrny vysušujeme teplým vzduchem z fenu. Nejméně 10 minut předem před vyvíjením nalijeme do chromatografické komory takový objem vyvíjecí směsi, aby její hladina byla níže, než místa startu vzorku na chromatografické desce. Směs používáme pouze pro jedno vyvíjení. Komoru uzavřeme sklem, obsah důkladně promícháme (prostor komory se nasatí parami směsi, což napomáhá dokonalejšímu a rychlejšímu dělení). Po nasycení komory parami rozpouštědel do ní vložíme připravené chromatografické desky a provedeme vzestupné vyvíjení. Když čelo mobilní fáze (vyvíjecí směsi) dosáhne vzdálenosti asi 20 mm od horního okraje desky, desku z komory vyjmeme a čelo fáze vyznačíme měkkou tužkou. Zbytky mobilní fáze z desky odstraníme vysušením volně na vzduchu nebo proudem teplého vzduchu.

7.2.4 VYHODNOCENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Látku identifikujeme tak, že polohu skvrny vztahujeme k poloze skvrny standardu, který se s ní ztotožňuje nebo se nachází v těsné blízkosti. Chinin detekujete pomocí UV lampy při 366 nm. Zakreslíte polohy skvrn.

7.3 BARVIVA V KAKAOVÉM PRÁŠKU

7.3.1. TEORETICKÝ ÚVOD

Kakao je obvyklé označení pro semena [kakaovníku](#) (*Theobroma*) a z nich vyrobený prášek. Kakaové boby se po sklizni vyjmou z rozříznutých plodů fermentují se (2 – 7 dnů při teplotě 38-50°C), potom se usuší a nakonec se praží podobně jako kávové boby. Upražené kakaové boby se pomelou a poté lisují. Lisováním se získává žluté kakaové máslo a pevný zbytek se pomele na kakaový prášek. Kakao obsahuje tělu prospěšné látky jako flavonoidy, třísloviny a fenylalanin. Hlavní aktivní součástí kakaa je alkaloid zvaný theobromin.

7.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, špachtle, skleněná tyčinka

Chemikálie: kakaový prášek, jedlá soda, odbarvovač

7.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

Připravte roztok kakaového prášku rozmícháním 3-4 lžiček kakaa v kádince s vodou a poté rozdělte do 3 kádinek. Extrakt v první kádince ponechte jako srovnávací roztok. Do druhé kádinky přidejte na špachtli trochu sody a do třetí kádinky stejné množství odbarvovače. Skleněnou tyčinkou promíchejte obsah kádinek a pozorujte barevné změny.

7.3.4 VYHODNOCENÍ

V kádince se sodou je barva v porovnání se srovnávacím vzorkem tmavší. V třetí kádince se po přidání odbarvovače roztok odbarví. Barvu čokolády způsobují produkty pražení kakaových zrn (hnědé barviva chinony, které vznikají oxidací fenolu) – jde o neenzymatické hnědnutí v průběhu fermentace. Při reakci kakaového prášku s kyslíkem v alkalickém prostředí (soda) dochází k oxidaci rostlinných fenolů a tím k tmavnutí roztoku. Rostlinné fenoly je však možné také redukovat – a to dithionitátem sodným obsaženým v odbarvovači a tím se docílí odbarvení roztoku.

7.4 DŮKAZ KOFEINU V KÁVĚ ČI ČAJI

7.4.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Kofein je alkaloid patřící do skupiny purinových, methylových derivátů xanthinu, která zahrnuje [theobromin](#) ([kakao](#)) a [theofylin](#) (čaj). Čistý kofein je bílý hebký prášek nebo lesklé jehličky, hořké [chuti](#). [Purinový](#) derivát kofein se vyskytuje v listech, semenech a plodech alespoň 63 rostlin. Nejznámější jsou [kávová zrna](#), [kakaové boby](#), [cola ořechy](#), [čajové lístky](#) a lístky [maté](#). Nejběžnější zdroje kofeinu jsou káva, čaj a menší množství obsahuje i kakao. Méně známé zdroje kofeinu jsou např. yerba maté a guarana.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

7.4.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: kádinky, lžička, hodinové sklíčko či alobal, kahan

Chemikálie: káva nebo černý čaj

7.4.3 PRACOVNÍ POSTUP

Do kádinky nasypeme lžičku kávy nebo černého čaje a přikryjeme alobalem či hodinovým sklíčkem. Zahříváme kádinku tak dlouho, dokud se nezačnou tvořit krystalky kofeinu na spodní straně alobalu či sklíčka.

7.4.4 VYHODNOCENÍ

Kofein z kávy/čaje sublimuje a vylučuje se ve tvaru jehlicovitých krystalů. Je to pevná látka bez chuti a zápachu.

7.5 IDENTIFIKACE POTRAVINÁŘSKÝCH BARVIV

7.5.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Potravinářská barviva se přidávají do potravin pro zvýraznění jejich barevného vzhledu. Zpravidla se dělí na tři základní skupiny: přírodní barviva, syntetická barviva identická s přírodními, syntetická barviva.

Přírodní barviva jsou nejčastěji rostlinného původu a klasifikují se podle struktury, výskytu v biologických materiálech nebo důležitých vlastností (rozpuštěnosti ve vodě a v tucích). Nejčastěji používanými přírodními barvivy jsou karotenoidy, anthrachinony, flavonoidy (z nichž nejdůležitější jsou anthokyany), pyrollová barviva (k nejvýznamnějším patří hemová a chlorofylová barviva).

Syntetická barviva identická s přírodními se získávají chemickými reakcemi, ale jejich struktura je totožná se strukturou barviv přírodních (např. syntetický β -karoten).

Syntetická barviva mají zpravidla intenzivnější barvu než barviva přírodní, mají stálý odstín barvy a neovlivňují charakteristickou vůni a chuť barvené potraviny. Podle struktury rozlišujeme: azobarviva, fenylmethanová barviva, pyrazolonová barviva, nitrobarviva, xanthenová, anthrachinonová, chinolinová a inigoidní barviva. V potravinářství se často používají právě syntetická barviva především z ekonomických a praktických důvodů (levnější a stabilnější než barviva přírodní).

Tabulka: Seznam povolených syntetických barviv v ČR.

Číslo E	Název	Barva
E 102	Tartrazin	citronově žlutá
E 104	Chinolinová žlutá	žlutá

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

E 110	Žlutý SY	oranžová
E 122	Azorubin	modročervená
E 123	Amaranth	modročervená
E 124	Ponceau 4R	červená
E 127	Erythrosin	červená
E 128	Červeň 2G	modročervená
E 129	Červeň Allura AC	červená
E 131	Patentní modř	zelenomodrá
E 132	Indigotin	tmavě modrá
E 133	Brilantní modř	zelenomodrá
E 142	Zeleň S	zelená
E 151	Čerň BN	černá
E 154	Hnědý FK	hnědá
E 155	Hnědý HT	hnědá
E 180	Litholrubin BK	červená

7.5.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: TLC destička, chromatografická komora, nanášecí mikropipety, měkká tužka, pravítko

Chemikálie: standardní roztoky potravinářských barviv, ethanol, 20% methanol, vzorky potravin

7.5.3 PRACOVNÍ POSTUP

Vzorky potravin co nejvíce rozmělněte (mixérem, lisem na česnek, drcením,..) a vyluhujte v ethanolu. Na TLC destičku nakreslete tužkou 1,5 cm od dolního kraje startovací čáru. Rovnoměrně od sebe na ni naneste roztoky jednotlivých standardů potravinářských barviv rozpuštěných v ethanolu a ethanolicke výluhy vzorků. Body nanesení musí být minimálně 2 cm od okraje (potlačení „okrajových efektů“) a minimálně 1,5 cm vzájemně od sebe.

Do chromatografické komory připravte mobilní fázi (20% methanol), jehož hladina by měla být maximálně ve výšce 1 cm. Vložte připravenou TLC destičku a nechte vyvíjet chromatogram. TLC destičku vyjměte v okamžiku, kdy čelo rozpouštědla dosáhne vzdálenosti cca 1 cm od horního okraje. Tužkou označte čelo rozpouštědla a TLC destičku vysušte. Zaznamenejte středy (těžiště) barevných skvrn. Změřte vzdálenosti skvrn od startu (a) a vzdálenost čela od startu (b). Vypočteme hodnoty R_f . Porovnáním hodnot R_f barviv ve vzorku a standardů provedeme identifikaci.

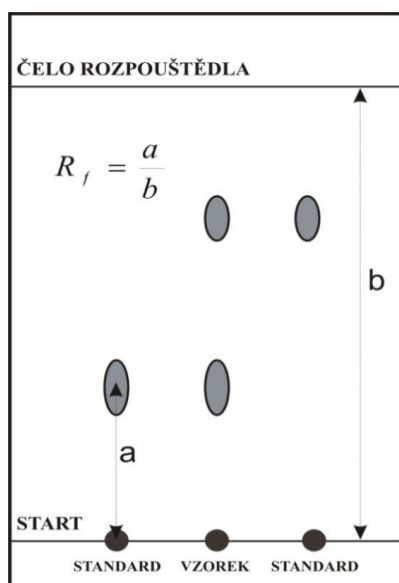
7.5.4 VYHODNOCENÍ

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Identifikační konstantou v plošné chromatografii je tzv. R_f - hodnota (poměr vzdálenosti těžiště skvrny od „startu“ a vzdálenosti „čela rozpouštědla“ od startu - viz Obr.9).



Obrázek 9: Vzorový chromatogram.

8. ENZYMY V POTRAVINÁCH

Přítomnost enzymů (bílkoviny s katalytickou aktivitou) v denní stravě má pro zachování lidského zdraví naprosto zásadní význam. Lidská společnost využívá některé enzymy odnepaměti v rámci starověkých biotechnologií, jako je výroba kvašených nápojů, pečiva apod. Dlouhá léta se v potravinářství využívají proteolytické rostlinné enzymy k tenderizaci masa (papain z listů papájovníku) a živočišné enzymy v mlékařském průmyslu (chymosin z telecích žaludů ke srážení kaseinů). Výroba a spotřeba enzymů každým rokem roste o 10-15%. Mezi nejvýznamnější průmyslově významné enzymy patří proteasy, amylasy, celulasy, lipasy, pektolytické a lignolytické enzymy, které jsou produkovány zejména řadou plísní, ale i bakterií a kvasinek.

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

8.1 OVOCNÉ PROTEASY

8.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Proteasa je skupina [enzymů](#), které štěpí [proteiny](#) (bílkoviny). Patří do třídy hydrolas. [Hydrolyzuje peptidové vazby](#) aminokyselin, pomocí kterých [aminokyseliny](#) drží pohromadě. Proteasy katalyzují hydrolýzu proteinů na peptidy a oligopeptidů na aminokyseliny. Pro stanovení proteasové aktivity lze využít různé substráty jako kasein, želatinu, peptidy, albuminy.

8.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: Petriho miska, nůž, kádinky, vaříč, párátko

Chemikálie: jablko, citron, kiwi, čerstvý ananas, želatina, šunkový salám (Vysočina)

8.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Kolečka salámu položte na Petriho misku a na něj položte plátek citronu, jablka, kiwi či ananasu. Ponechte 1 den a poté pozorujte strukturu salámu pod jednotlivými druhy ovoce. Vyzkoušejte, jak silnou stopu zanechá škrábnutí párátkem na místech salámu pod ovocem. Dále připravte asi 150 ml želatiny a nalijte ji do tří kádinek a nechejte přes noc ztuhnout. Na každou z kádinek položte plátek ovoce a nechte půl dne působit. Pozorujte strukturu želatiny pod jednotlivými druhy ovoce.

8.1.4 VYHODNOCENÍ

Kiwi a ananas obsahují velké množství proteas. Ty štěpí bílkoviny přítomné v masě nebo želatině na kratší řetězce. Po působení enzymu můžeme pozorovat „rozbřednutí“ bílkovinné hmoty – želatina se roztéká.

8.2 ŠTĚPENÍ SACHAROSY INVERTASOU Z KVASNIC

8.2.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Sacharosa v běžné řeči označována jako [řepný cukr](#), [třtinový](#) cukr nebo jen [cukr](#), je nejběžnější [disacharid](#). Skládá se z jedné [molekuly glukosy](#) a jedné molekuly [fruktosy](#). V čistém stavu je sacharóza bílá [krystalická látka](#) sladké chuti. Uplatnění nachází především v [potravinářství](#), kde se používá jako [sladidlo](#). [Hydrolýzou](#) sacharosy vzniká ekvimolární směs [glukosy](#) a [fruktosy](#), tzv. [invertní cukr](#). Hydrolýza může probíhat chemicky v kyselém prostředí nebo enzymaticky v neutrálním prostředí za přítomnosti [enzymu invertasy](#) (sacharasy).

8.2.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: zkumavky, stojánek na zkumavky, špachtle, kádinky, kahan, mrazák

Chemikálie: 5% roztok CuSO₄, 10% roztok NaOH, sacharosa (cukr), droždí či kvasnice

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

8.2.3 PRACOVNÍ POSTUP

Jednu lžičku sacharosy rozpustíte ve 100 ml vody. Do 4 zkumavek nalijte po 5 ml rozpuštěné sacharosy a přidejte na špičku nože sušené droždí nebo pekařské kvasnice a zamíchejte. Do první zkumavky nalijte 10 ml 5% roztoku CuSO_4 , druhou zkumavku dejte na 3 minuty vařit (nad kahanem či v hrnci), třetí zkumavku umístěte do mrazáku a čtvrtou dejte do kádinky naplněné teplou vodou z vodovodu.

Do páté (kontrola 1) zkumavky nalijte pouze 5 ml roztoku sacharosy. Do šesté (kontrola 2) nalijte pouze 5 ml vody a rozmíchejte v ní sušené droždí nebo pekařské kvasnice.

Všech 6 zkumavek ponechte stát 30 minut a poté proveďte důkaz na přítomnost redukujících sacharidů (Fehlingova zkouška).

Ke všem vzorkům přidejte 2 ml 10% roztoku NaOH , zamíchejte a přidejte 1 ml 5% roztoku CuSO_4 . Dejte vařit na 10 minut do horké vodní lázně nebo zahřívejte zkumavky nad kahanem. Pozorujte barevné změny. Rozhodněte, kdy došlo k hydrolyze sacharosy.

8.2.4 VYHODNOCENÍ

Kvasinky z droždí (kvasnic) štěpí neredukující sacharosu pomocí enzymu invertasy (sacharosy) na redukující monosacharidy glukosu a fruktosu. Rozštěpení se projeví pozitivní Fehlingovou zkouškou. Účinnost enzymu je ovlivňována teplotou. Povařením či přítomností iontů těžkých kovů (CuSO_4) denaturuje bílkovinná složka enzymu a tím se stává nefunkčním. V chladu probíhají reakce velmi pomalu. Ve všech těchto případech pozorujeme po Fehlingova zkoušce menší množství redukujících sacharidů. Naopak v teplé vodě pracují kvasinky optimálně a Fehlingova reakce dává červenooranžové zbarvení.

8.3 ENZYM VE SLINÁCH

8.3.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Žvýkáte po každém jídle? Jak ukazují reklamy, je nutné udržovat pH v ústech mírně zásadité, a to nejen kvůli nebezpečí zubního kazu. Ve slinách obsažen enzym amylasa, který štěpí škroby přijaté v potravě na jednodušší cukry a napomáhá tak trávení, funguje právě jen při zásaditém pH. Amylasy produkovaná [slinnými žlázami](#) se nazývá Ptyalin.

8.3.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: zkumavky, stojánek na zkumavky, kádinky, pipeta

Chemikálie: škrob, sliny, jodisol, jedlá soda

8.3.3 PRACOVNÍ POSTUP

Nasbírejte asi 1 ml slin a zřeďte je 20 ml chladné převařené vody.



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

Do hrnečku nalijte trochu studené vody a přidejte kávovou lžičku škrobu. Směs dobře promíchejte, pak přilijte vroucí vodu (aby celkový objem byl asi 250 ml) a stále zahřívejte a míchejte, dokud nebude roztok čirý. Tak získáte tzv. škrobový maz.

Do další nádobky si připravte 1 ml jodisolu a zřeďte jej 15 ml vody.

Nakonec rozpustíte půl čajové lžičky hydrogenuhličitanu sodného (jedlé sody) v deseti lžičkách vody.

Připravte si 3 zkumavky a očísľujte je. Do každé nalijte 5 ml připraveného škrobového mazu. Do první přidejte pět kapek octa, do druhé pět kapek vody a do třetí pět kapek roztoku jedlé sody. Obsah všech zkumavek promíchejte. Do každé přidejte deset kapek rozředěných slin. Po deseti minutách přidejte do každé zkumavky dvě kapky roztoku jodisolu a směs promíchejte. Pozorujte zbarvení.

8.3.4 VYHODNOCENÍ

Rozdílným zbarvením obsahu zkumavek můžeme dokázat, jaké pH v ústech je optimální pro správnou funkci amylasy. První zkumavka má díky přidanému octu kyselé pH, po přidání jodu se objeví výrazně modré zbarvení. To znamená, že amylasa nedokázala za daných podmínek škrob rozložit. Ve druhé zkumavce je pH neutrální. To amylase také úplně nesevďčí, přesto už je schopna škrob štěpit. Jde jí to ale pomalu a ve zkumavce stále zbývá dost škrobu na vyvolání alespoň světle modrého zbarvení. Ve třetí zkumavce je pH mírně zásadité, což amylase zcela vyhovuje. Enzym tudíž škrob rozloží na jednodušší cukry a po přidání jodu se modré zbarvení neobjeví. Tudíž nejlepší pH v ústech pro štěpení škrobů je mírně zásadité.

9. STANOVENÍ LÉČIV

Léčivo je léčivá látka, směs léčivých látek nebo léčivý přípravek. Zákon o léčivech (č. 378/2007 Sb.) definuje léčivé látky a léčivé přípravky, pro které pak používá souhrnný pojem léčiva. Léčiva se rozdělují do skupin podle mechanismu účinku (antibiotika, antivirotika, antimikotika, antipirotika...) Dělí se též na širokospektrá a úzkospektrá, dle spektra účinku.

Toxikologická analýza je důležitou součástí diagnostických postupů potřebných k získání informace o akutní nebo chronické expozici léčivem vyšetřované osoby. V mnoha toxikologických laboratořích je pro záchyt a identifikaci extrahovaných látek stále využívána metoda tenkovrstvé chromatografie (TLC). K potvrzení nálezu na TLC se k citlivější identifikaci dnes také používá spojení plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS).

9.1 IDENTIFIKACE LÉČIV POMOCÍ TENKOVRSTEVNÉ CHROMATOGRRAFIE

9.1.1 TEORETICKÝ ÚVOD

Tenkovrstevná chromatografie je vhodnou analytickou metodou pro stanovení léčiv v tabletách a tělních tekutinách. Tenkovrstvá chromatografie (TLC) je v toxikologii často využívanou

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

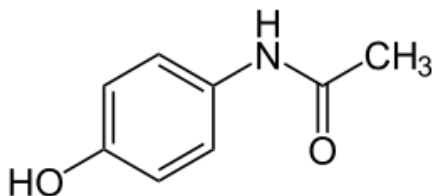
Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

metodou, a to především z důvodu její časové nenáročnosti a nízkých nákladů na vybavení (v porovnání s ostatními chromatografickými metodami). TLC je založena na rozdělení látek (analytů), a to podle míry jejich interakce s mobilní a stacionární fází (stacionární fází je nejčastěji vrstva SiO_2). Pomocí TLC je možno rychle a účinně rozseparovat látky vyskytující se ve vzorcích z různých odvětví (např. toxikologické vzorky). Následná detekce je prováděna pomocí UV lampy nebo postřikem vhodným detekčním činidlem. Přítomnost daného analytu je možno potvrdit pomocí tzv. retenčního faktoru (R_f), což je hodnota určující poměr vzdálenosti, kterou urazí skvrna stanovované látky ke vzdálenosti, kterou urazí čelo rozpouštědla.

Mezi nejčastěji užívané účinné látky patří paracetamol. Paracetamol je účinnou látkou působící proti bolesti a zvýšené tělesné teplotě. Z důvodu jeho snadné dostupnosti je často používán za účelem smrtelné intoxikace. Předávkování paracetamolem vede k akutnímu selhání jater. Protijedem (antidotem) pro tuto látku je N-acetylcystein, který musí být pacientovi podán v případě, kdy je po čtyřech hodinách předávkování hladina paracetamolu v séru vyšší než 200 mg/l.

Nejznámějším léčivem obsahující paracetamol je Paralen. Dalšími léčivy mající tuto účinnou látku jsou např. Panadol a Coldrex. Chemická struktura paracetamolu je znázorněna na Obr. 10.



Obrázek 10: Chemická struktura paracetamolu (N-acetyl-p-aminofenol).

9.1.2 EXPERIMENTÁLNÍ VYBAVENÍ

Laboratorní materiál: TLC destička, chromatografická vana s krycím sklem, třecí miska, pipety, kádinky, Erlenmayerovy baňky, porcelánová odpařovací miska, vakuová sušárna, dělicí nálevka, rozprašovač (fixírka), nanášecí mikropipety, měkká tužka, pravítko

Chemikálie: mobilní fáze (ethylacetát- methanol- koncentrovaný amoniak 32:4:2), methanol, dusičnan bizmutitý, 3% vodný roztok KI, standardy paracetamolu, kofeinu, roztok jodu v chloroformu

9.1.3 PRACOVNÍ POSTUP

Tabletu (Paralen, Coldrex, Panadol) důkladně rozetřete v třecí misce, přesypte do kádinky a přidejte 5 ml methanolu. Do chromatografické vany nalijte čerstvě připravenou mobilní fázi (ethylacetát:methanol:koncentrovaný amoniak - 32:4:2), přikryjte krycím sklem a nechte minimálně 15 min nasytit chromatografickou komoru parami mobilní fáze.

Na TLC destičku nakreslete tužkou 1,5 cm od dolního kraje startovací čáru. Rovnoměrně od sebe na ni naneste roztoky standardů (paracetamolu a kofeinu) rozpuštěných v methanolu a

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

připravené vzorky (Paralen, Panadol, Coldrex). Body nanesení musí být minimálně 2 cm od okraje (potlačení „okrajových efektů“) a minimálně 1,5 cm vzájemně od sebe. Do chromatografické komory vložte připravenou TLC destičku a nechte vzestupně vyvíjet chromatogram. TLC destičku vyjměte v okamžiku, kdy čelo rozpouštědla dosáhne vzdálenosti 1 cm od horního okraje. Tužkou označte čelo rozpouštědla a TLC destičku vysušte.

V průběhu vyvíjení chromatogramu připravte Dragendorffovo činidlo. Rozpusťte na špičku špachtle dusičnanu bizmutitého v co nejmenším nadbytku 3% vodného roztoku KI. Nejprve vzniká tmavá sraženina jodidu bizmutitého, která se v nadbytku jodidu rozpouští na pomerančově zbarvený terajodobizmutitan. TLC destičku postříkejte Dragendorffovým činidlem a potom jodem rozpuštěným v chloroformu.

Pozitivní reakcí jsou hnědé skvrny na žlutém pozadí. Zaznamenejte středy (těžiště) barevných skvrn. Změřte vzdálenosti skvrn od startu (a) a vzdálenost čela od startu (b). Vypočteme hodnoty R_f . Porovnáním hodnot R_f alkaloidů ve vzorku a standardů provedeme identifikaci.

9.1.4 VYHODNOCENÍ

Identifikační konstantou v plošné chromatografii je tzv. R_f - hodnota (poměr vzdálenosti těžiště skvrny od „startu“ a vzdálenosti „čela rozpouštědla“ od startu - viz Obr.9).



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Vzdělávání středoškolských pedagogů a studentů středních škol jako nástroj ke zvyšování kvality výuky přírodovědných předmětů

CZ.1.07/1.1.00/14.0016

POUŽITÁ LITERATURA, ODKAZY

Beneš P. a kol. (1993) Základy chemie 2: pro 2. stupeň základní školy, nižší ročníky víceletých gymnázií a střední školy. Praha, Fortuna

Ganajová M. a kol. (2001) Chemické pokusy každodenného života z organické chemie, Metodické centrum Prešov

Ganajová M. Chémia nás živí: Bielkoviny v bežnom živote, Sacharidy v bežnom živote, Tuky v bežnom živote. Dostupné z: <http://kekule.science.upjs.sk/chemia.distanco/index.html>

Macenaurova J. Chemické pokusy – hravě i doma. Dostupné z: <http://www.chempokusy.webzdarma.cz>

Peč P. (2004) Laboratorní cvičení z biochemie. Palackého univerzita, Přírodovědecký fakulta

Šulcová R. a Böhmová H. (2007) Pokusy z chemie i praktického života a experimenty s mikrovlnou troubou. Karlova univerzita, Přírodovědecká fakulta

Turková Iveta (2008) Diplomová práce: Domácí pokusy, Masarykova univerzita, Pedagogická fakulta

Zajoncová Ludmila (2004) Praktická cvičení z klinické biochemie pro biochemiky. Palackého univerzita, Přírodovědecká fakulta

<http://chemiegjo.webzdarma.cz>

<http://www.chempok.wz.cz>

http://kalch.upce.cz/add_on/navody/analpotr/uloha01.pdf

<http://cs.wikipedia.org/>

<http://www.wikiskripta.eu/>