

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
Τμήμα Επιστήμης Ζωικής Παραγωγής
Εργαστήριο Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΣΚΗΣΕΙΣ ΟΡΓΑΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ
Β' Εξάμηνο

Δρ Κουλοχέρη Σοφία, Ε.ΔΙ.Π.

ΦΥΛΛΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Αθήνα 2023

Περιεχόμενα

ΠΕΙΡΑΜΑ 1Α	1
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ 1Β, 1Γ, 1Δ	4
ΠΕΙΡΑΜΑ 2Α	7
ΠΕΙΡΑΜΑ 2Β	9
ΠΕΙΡΑΜΑ 3	13
ΠΕΙΡΑΜΑ 4Α	16
ΠΕΙΡΑΜΑ 4Β	21
ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ 5Α, 5Β, 5Γ, 5Δ	24

Υλικά

- Διαχωριστική Χοάνη
- Ζυγός
- Στήριγμα & Κρίκος
- σταγονομετρική πιπέττα
- Ποτήρι ζέσεως
- Κωνική φιάλη (50 mL)
- Ογκομετρικοί κύλινδροι 25mL, 10mL.

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Οξικός αιθυλεστέρας
- Διάλυμα Na_2CO_3 1N
- Διάλυμα HCl 1N
- Μίγμα: βενζοϊκού οξέος, NaCl
Διβενζόουλ

Πειραματική Διαδικασία:

1. Ζυγίστε 1,5g του μίγματος ενώσεων (βενζοϊκό οξύ, διβενζόουλ, μικρή ποσότητα NaCl)
2. Διαλύστε το μίγμα των ενώσεων σε 15 mL οξικού αιθυλεστέρα σε μία κωνική φιάλη των 50 mL.
3. Προσθέστε 10 mL H_2O και αναδέψτε καλά
3. Μεταφέρετε το περιεχόμενο της κωνικής στην εκχυλιστική χοάνη.
4. Προσθέστε 7 mL διαλύματος Na_2CO_3 1N.
5. Ανακινήστε έντονα την εκχυλιστική χοάνη **κάνοντας περιοδικά απαέρωση**.
6. Αφήστε τις φάσεις να διαχωριστούν πλήρως
7. Μετά το τέλος της εκχύλισης στην υδατική φάση ελέγξτε το pH.
8. Διαχωρίστε την οργανική από την υδατική φάση – Απορρίψτε την οργανική φάση που περιέχει τη διβενζόουλ.
9. Συλλέξτε την υδατική φάση (περιέχει το $\text{C}_6\text{H}_5\text{COONa}$ και NaCl) και προσθέστε HCl 1N (οξίνιση)
10. Ελέγξτε το pH ($\text{pH} < 7$)
11. Πραγματοποιήστε Διήθηση με πτυχωτό ηθμό.
12. Αφήστε το στερεό $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$ στον ηθμό ώστε σιγά-σιγά να απομακρυνθεί το νερό που περιέχει.
13. Ζυγίστε το $\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$

ΕΡΓΑΣΙΑ

1. Τι θα συνέβαινε στην περίπτωση που στο μίγμα υπήρχε και σαλικυλικό οξύ;
2. Οι διαλύτες αιθανόλη και μεθανόλη αναμιγνύονται με το νερό; (δικαιολογήστε).

ΠΕΙΡΑΜΑ 1Β

Υλικά

- ζυγός
- στήριγμα
- κρίκος
- ιγδίο πορσελάνης
- ογκομετρικός κύλινδρος 25 mL
- ογκομετρική φιάλη 100 mL
- Χωνί

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Ακετόνη, Aceton
- Μίγμα ζωοτροφών: αλεσμένα φύλλα Στέβιας και αλεσμένος καρπός σόγιας
- ποτήρι ζέσεως
- σταγονομετρική πιπέττα
- διηθητικό χαρτί

Πειραματική Διαδικασία

1. Ζυγίστε 1,5 g ζωοτροφής.
(μίγμα αποξηραμένων φύλλων στέβιας και αλεσμένης σόγιας)
2. Μεταφέρετε το μίγμα σε ιγδίο (γουδί).
3. Λειοτριβήστε το μίγμα και εκχυλίστε τις χρωστικές με 25 mL ακετόνης
4. Διηθήστε και παραλάβετε το διήθημα σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL.
5. Επαναλαμβάνετε την εκχύλιση με επιπλέον 25 mL ακετόνης.
6. Διηθήστε και παραλάβετε το διήθημα στην ίδια ογκομετρική ογκομετρική φιάλη.
7. Συμπληρώστε με ακετόνη την ογκομετρική φιάλη μέχρι τη χαραγή.

ΠΕΙΡΑΜΑ 1Γ

Υλικά

- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Κωνική φιάλη των 50 mL
- Μαγνήτης ανάδευσης
- Ιγδίο
- διηθητικό χαρτί
- ποτήρι ζέσεως
- Χωνί
- σταγονομετρική πιπέττα.

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- τριμμένο καρότο
- ξύσμα φλούδας πορτοκαλιού
- ακετόνη
- εξάνιο

Πειραματική διαδικασία

1. Ζυγίστε 1 g αρχικού μίγμα (50% τριμμένο καρότο και 50% ξύσμα φλούδας πορτοκαλιού)
2. Μεταφέρετε το μίγμα σε ιγδίο
3. Λειοτριβήστε το μίγμα

4. Μεταφέρετε σε ποτήρι ζέσεως και υπό ανάδευση εκχυλίστε τις χρωστικές με 25 mL μίγμα ακετόνης:εξανίου 1:1
5. Διηθήστε και παραλάβετε το διήθημα.
6. Εξατμίστε τον διαλύτη και παραλάβετε το εκχύλισμα

ΠΕΙΡΑΜΑ 1Δ

Υλικά

- Μαγνητικός αναδευτήρας
- Σφαιρική φιάλη των 50 mL
- Μαγνήτης ανάδευσης

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Χυμός ντομάτας
- Οξικός αιθυλεστέρας

Πειραματική διαδικασία

1. Σε σφαιρική φιάλη μεταφέρετε 5g χυμού ντομάτας και προσθέτετε 10 mL οξικού αιθυλεστέρα.
2. Αναδέψτε το μίγμα για 30 min.
3. Συλλέξτε το εκχύλισμα

Πειραματική Διαδικασία

1. Ανοίξτε το φασματοφωτόμετρο.
2. Επιλέξτε μήκος κύματος στο φωτόμετρο, $\lambda_{1\max}=430$ nm (χλωροφύλλη Α).
2. Τοποθετήστε το τυφλό δείγμα στην κυψελίδα (ακετόνη).
3. Μηδενίστε το φωτόμετρο (Θέτετε την τιμή της Απορρόφησης (A) στο 0).
4. Φωτομετρήστε (μετρήστε A) το διήθημα στα $\lambda_{1\max} = 430$ nm.
5. Επιλέξτε μήκος κύματος στο φωτόμετρο, $\lambda_{2\max}= 455$ nm (χλωροφύλλη β).
6. Μηδενίστε το φωτόμετρο με το τυφλό δείγμα.
7. Φωτομετρήστε (μετρήστε A) το διήθημα στα $\lambda_{2\max} = 455$ nm.

λ_{\max}	A	B	Γ	Δ

ΕΡΓΑΣΙΑ

Συγκεντρώστε τα αποτελέσματα όλων των εργαστηριακών ομάδων και κατατάξτε τα δείγματά σας με αύξουσα σειρά ως προς την περιεκτικότητα σε στέβια.

Υλικά

- Πιπέτα 100-1000 mL
- ποτήρι ζέσεως
- ογκομετρικές φιάλες (5 mL)
- Κυψελίδες

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Ακετόνη
- Εξάνιο
- Πρότυπο διάλυμα β-καροτενίου σε Ακετόνη:εξάνιο 1:1 (C=40 μg/mL).

Πειραματική Διαδικασία

Πριν την εργαστηριακή άσκηση

Να γίνουν οι υπολογισμοί για την παρασκευή διαλυμάτων β-καροτενίου σε Ακετόνη:εξάνιο 1:1 τελικού όγκου **5mL** και συγκέντρωσης: 2μg/mL, 4μg/mL, 6μg/mL και 8 μg/mL. Το αρχικό διαθέσιμο διάλυμα έχει συγκέντρωση 40μg/mL.

Κατά την εργαστηριακή άσκηση

1. Ανάψτε το φασματοφωτόμετρο. Αφήστε να ζεσταθεί για 15 λεπτά.
2. Επιλέξτε το μήκος μέγιστης απορρόφησης ($\lambda_{\max}=461 \text{ nm}$) του β-καροτενίου όπως προκύπτει από το φάσμα απορρόφησης.
3. Προετοιμάστε τα πρότυπα διαλύματα β-καροτενίου σε ακετόνη τελικού όγκου 5 mL. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων β-καροτενίου σε ακετόνη πρέπει να είναι: 2 $\mu\text{g/mL}$, 4 $\mu\text{g/mL}$, 6 $\mu\text{g/mL}$ και 8 $\mu\text{g/mL}$.
4. Ξεπλύνετε τις κυψελίδες με Ακετόνη:εξάνιο 1:1 καλά. Προσοχή στη χρήση των κυψελίδων! Είναι ιδιαίτερα ακριβές!!!
5. Τοποθετήστε αρχικά σε μία κυψελίδα μόνο Ακετόνη:εξάνιο 1:1 (τυφλό) και μηδενίστε το όργανο.
6. Τοποθετήστε τα διαλύματα που παρασκευάσατε στις κυψελίδες.
7. Βεβαιωθείτε ότι η διαφανής πλευρά της κυψελίδας είναι καθαρή. Καθαρίστε τη κυψελίδα με χαρτί. Προσοχή μην χαράξετε την κυψελίδα κατά τον καθαρισμό της.
8. Μετρήστε τις απορροφήσεις των προτύπων διαλυμάτων και καταγράψετε.
9. Σε κενή κυψελίδα μεταφέρετε το προς προσδιορισμό διάλυμα (εκχύλισμα καρότου) και φωτομετρείστε.
10. Καταγράψτε τις μετρήσεις

ΕΡΓΑΣΙΑ

1. Σχεδιάστε την πρότυπη καμπύλη στο EXCEL (εξίσωση της ευθείας και r)
2. Υπολογίστε τη συγκέντρωση του άγνωστου διαλύματος από την εξίσωση της ευθείας.

Υλικά

- Πλάκες χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας
- Θάλαμοι ανάπτυξης
- Τριχοειδείς σωλήνες
- Μολύβι, χάρακας.

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Εκχύλισμα β καροτενίου
- Μίγματα διαλυτών κυκλοεξανίου τολουολίου
- Εκχύλισμα Τομάτας
- Εκχύλισμα Πορτοκάλι - Σαγκουίνι

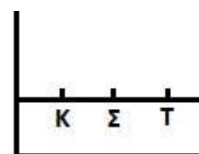
Πειραματική διαδικασία

1. Προετοιμάστε τους θαλάμους ανάπτυξης προσθέτοντας 5 mL από τα ακόλουθα συστήματα διαλυτών με αναλογίες Τολουόλιο/Κυκλοεξανίου:

Τολουόλιο	Κυκλοεξάνιο
0	10
1	9
2	8
4	6

Τολουόλιο	Κυκλοεξάνιο
5	5
6	4
8	2
10	0

2. Σημειώστε με ένα μολύβι στη πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας (T.L.C.) τη γραμμή εκκίνησης (0,5 cm από το κάτω μέρος) την οποία στη συνέχεια χωρίστε σε τέσσερα ίσα μέρη και σημειώστε τα αρχικά κάθε εκχυλίσματος: α. Καρότου, β. χυμού Σαγκουίνι γ. Τομάτας



3. Με ένα τριχοειδή σωλήνα μεταφέρετε μια σταγόνα από κάθε εκχύλισμα στις αντίστοιχες επισημασμένες θέσεις του πλακιδίου (T.L.C.)
4. Τοποθετείστε το πλακίδιο στο θάλαμο και αναπτύξτε το χρωματογράφημα.
5. Σημειώστε με μολύβι το μέτωπο του διαλύτη και τις παρατηρούμενες κηλίδες.
6. Συγκεντρώστε τα χρωματογραφήματα και φωτοτυπήστε τα.

ΕΡΓΑΣΙΑ

1. Επιλέξτε το καταλληλότερο σύστημα διαλυτών ανάπτυξης.

Για τον διαλύτη αυτό

2. Καταγράψτε τον αριθμό των συστατικών των δειγμάτων.
3. Υπολογίστε τα R_f των ουσιών.
4. Από το συγκεκριμένο χρωματογράφημα έχετε τη δυνατότητα να ανιχνεύσετε την παρουσία λυκοπενίου και καροτενίου στα εκχυλίσματα. Ποια είναι τα συμπεράσματά σας;
5. Εξηγήστε τη διαφορά που παρουσιάζουν τα R_f των έγχρωμων κηλίδων **στα διαφορετικά συστήματα διαλυτών ανάπτυξης.**

Υλικά

- 2 Ποτήρια Ζέσεως των 50 mL
- Σταγονομετρικά
- 2 Προχοΐδες των 50 mL
- Στήριγματα για τις προχοΐδες
- Πεχάμετρο
- Μαγνητικός Αναδευτήρας

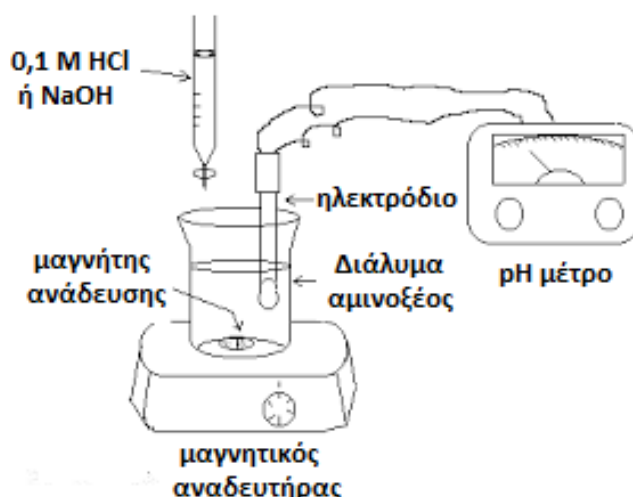
Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Διάλυμα αμινοξέος 0,1 M
- Διάλυμα NaOH 0,1 M
- Διάλυμα HCl 0,1 M

Πειραματική διαδικασία

A. Όγκομέτρηση με HCl

1. Σε ποτήρι ζέσεως των 100 mL προσθέστε με σιφώνιο 10 mL διαλύματος του αμινοξέος 0,1M και 10 mL απιονισμένου νερού.
2. Ξεπλύνετε την προχοΐδα με διάλυμα HCl (τρεις φορές).
3. Καταγράψτε το pH του διαλύματος του αμινοξέος
4. Γεμίστε την προχοΐδα με διάλυμα HCl 0,1 M
(Βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της προχοΐδας είναι γεμάτο με διάλυμα HCl και προσέξτε τον μηνίσκο).
5. Τοποθετήστε το ποτήρι που περιέχει το διάλυμα αμινοξέος κάτω από την προχοΐδα.
6. Βυθίστε το ηλεκτρόδιο στο διάλυμα του αμινοξέος και καταγράψτε το pH.
7. Προσθέστε υπό ανάδευση 1 mL διαλύματος HCl, και καταγράψτε το pH του διαλύματος. Επαναλαμβάνετε την προσθήκη 1mL διαλύματος HCl και την παράλληλη καταγραφή, μέχρι το pH του διαλύματος γίνει 1,5.



B. Όγκομέτρηση με NaOH

1. Ξεπλύνετε την προχοΐδα με διάλυμα NaOH (τρεις φορές).
2. Γεμίστε την προχοΐδα με διάλυμα NaOH (βεβαιωθείτε ότι το ρύγχος της προχοΐδας είναι γεμάτο με διάλυμα NaOH και προσέξτε τον μηνίσκο).
3. Τοποθετήστε το ποτήρι που περιέχει το διάλυμα αμινοξέος κάτω από την προχοΐδα.

ΕΡΓΑΣΙΑ

1. Σχεδιάστε την καμπύλη τιτλοδότησης στο EXCEL (γραφική παράσταση του pH του διαλύματος έναντι του όγκου της βάσης που προστέθηκε στο αμινοξύ).
2. Από την καμπύλη τιτλοδότησης καθορίστε:
 - το pKa της καρβοξυλικής ομάδας
 - το pKa αμινομάδας
 - το ισοηλεκτρικό σημείο (pI).

Συγκρίνετε τις τιμές αυτές με τις τιμές τις βιβλιογραφίας και αποφασίστε σε ποιο αμινοξύ μπορεί να αντιστοιχεί.

Υλικά

- 6 δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Διάλυματα αμινοξέων και πρωτεϊνικών δειγμάτων
- Αντιδραστήριο Νινυδρίνης (Αιθανολικό 1%)

Πειραματική διαδικασία

1. Τοποθετείστε 1 mL δείγματος το σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα

ΔΕΙΓΜΑΤΑ: Αιθανόλη, Γλυκίνη, Προλίνη, Ασπράδι Αυγού, Πρωτεΐνη Σόγιας και Γάλα

2. Προσθέστε περίπου 0,5 ml (5 σταγόνες) αντιδραστηρίου Νινυδρίνης στο δείγμα.

3. Τοποθετείστε το δοκιμαστικός σωλήνας πάνω από το υδατόλουτρο για 3-5 λεπτά

Συμπληρώστε τον παρακάτω πίνακα:

ΔΕΙΓΜΑ	ΤΥΦΛΟ	Γλυκίνη	Προλίνη	Ασπράδι Αυγού	Πρωτεΐνη Σόγιας	Γάλα
ΧΡΟΝΟΣ						
ΘΕΡΜΟΚΡΑΣΙΑ						
ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ						

ΣΧΟΛΙΑΣΜΟΣ

Υλικά

- δοκιμαστικοί σωλήνες
- Σταγονομετρικά
- Στήριγμα για δοκιμ. σωλήνες
- Υδατόλουτρο

Διαλύτες/Διαλύματα/Πρώτες ύλες

- Διάλυματα σακχάρων
- Αντιδραστήριο **Seliwanoff**
- Αντιδραστήριο **Barfoerd**
- Αντιδραστήριο **ΙΩΔΙΟΥ**
- Αντιδραστήριο **Benedict**

Αντίδραση Seliwanoffs

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2 mL (10 σταγόνες) αντιδραστηρίου **Seliwanoffs** σε κάθε σωλήνα.
4. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες στο υδατόλουτρο (ζέον) για 1 λεπτό
5. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος

Αντίδραση Benedict

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2 mL (10 σταγόνες) αντιδραστηρίου **Benedict** σε κάθε σωλήνα.
4. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες σε υδατόλουτρο (ζέον) για 3-5 λεπτά
5. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος

Αντίδραση Barfoerd

1. Τοποθετείστε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείστε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2–3 σταγόνες αντιδραστηρίου **Barfoed** σε κάθε σωλήνα.
4. Τοποθετείστε τους δοκιμαστικούς σωλήνες στο υδατόλουτρο (ζέον) για 1-2 λεπτά
5. Παρατηρείστε το σχηματισμό ιζήματος

Αντίδραση ΙΩΔΙΟΥ

1. Τοποθετείτε 1 ml δείγματος σε καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
2. Τοποθετείτε 1 ml αποσταγμένου νερού σε άλλο καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα
3. Προσθέστε 2–3 σταγόνες διαλύματος **ιωδίου** σε κάθε σωλήνα και αναδεύστε καλά.
4. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

Υλικά: 8 σειρές από 5 καθαρούς, στεγνούς δοκιμαστικούς σωλήνες.

ΓΝΩΣΤΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΣΑΚΧΑΡΩΝ: γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο

ΑΓΝΩΣΤΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ ΣΑΚΧΑΡΩΝ A, B, C, D, και E που μπορεί να περιέχουν γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο

1. Σε 4 σειρές δοκιμαστικών σωλήνων τοποθετείτε 1 mL διαλύματος από τα σάκχαρα:
 - γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο
2. Σε 4 σειρές δοκιμαστικών σωλήνων τοποθετείτε 1 mL διαλύματος από τα σάκχαρα:
 - A, B, C, D, και E που μπορεί να περιέχουν γλυκόζη, φρουκτόζη, σακχαρόζη, μαλτόζη και άμυλο
3. Σε κάθε σειρά πραγματοποιείτε μία από τις αντιδράσεις: **Seliwanoffs, Benedict, Barfoed και ιωδίου**
4. Παρατηρείστε το χρωματισμό του διαλύματος/σηματισμό ιζήματος.

Εργασία. Συμπληρώστε τον πίνακα και αντιστοιχείστε τα A,B,C,D,E με τα σάκχαρα: Γλυκόζη, Φρουκτόζη, Σακχαρόζη, Μαλτόζη και Άμυλο

	Seliwanoff	Benedict	Barfoed	Ιωδίου
Γλυκόζη				
Φρουκτόζη				
Σακχαρόζη				
Μαλτόζη				
Άμυλο				
	Seliwanoff	Benedict	Barfoed	Ιωδίου
A				
B				
C				
D				
E				

