



Šolski center Celje
Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo

DOLOČANJE CIANOVODIKOVE KISLINE V ŽGANIH PIJAČAH

Raziskovalna naloga

Avtorici: Ana ARH in Alma BILAJAC, 4. letnik

Mentorica: Irena DROFENIK, univ. dipl. kem.

Celje, marec 2014



Šolski center Celje
Srednja šola za kemijo, elektrotehniko in računalništvo

DOLOČANJE CIANOVODIKOVE KISLINE V ŽGANIH PIJAČAH

Raziskovalna naloga

Avtorici: Ana ARH in Alma BILAJAC, 4. letnik

Mentorica: Irena DROFENIK, univ. dipl. kem.

Celje, marec 2014

KAZALO VSEBINE

1	POVZETEK.....	6
2	ABSTRACT.....	6
3	UVOD.....	7
4	ŽGANJEKUHA	8
4.1	Postopek priprave žganja	8
4.1.1	Priprava sadja.....	9
4.1.2	Alkoholno vrenje	10
4.1.3	Destilacija.....	10
4.1.4	Zorenje in napake žganja.....	12
5	AMIGDALIN.....	13
5.1	Razpad amigdalina.....	15
6	CIANOVODIKOVA KISLINA.....	15
6.1	Uporaba cianovodikove kisline.....	16
6.2	Zastrupitev s cianidi	17
7	SPEKTROFOTOMETRIJA.....	19
8	EMPIRIČNI DEL.....	22
8.1	Inventar.....	22
8.2	Kemikalije.....	23
8.3	Delo.....	23
8.3.1	Priprava pufra	23
8.3.2	Priprava 1%-raztopine kloramina T	24
8.3.3	Priprava 3%-raztopine dimedona v 30%-piridinu	24
8.3.4	Priprava standardnih raztopin	25
8.3.5	Priprava vzorcev	26
8.3.6	Merjenje absorbance.....	26
8.4	Meritve in račun	27
9	KOMENTAR.....	31
10	ZAHVALA	32
11	VIRI in LITERATURA.....	33
12	PRILOGE.....	35

KAZALO SLIK

Slika 1: Prikaz destilacije v preteklosti	8
Slika 2: Koščičasto sadje	9
Slika 3: Zmleto sadje - drozga	9
Slika 4: Destilacijski kotel ali ALEMBIK.....	11
Slika 5: Skica sestavnih delov alembika	12
Slika 6: Razredčevanje alkohola	12
Slika 7: Naravni izvor amigdalina (levo - koščica marelice in desno - mandelj).....	13
Slika 8: Steklenička vitamina B17	14
Slika 9: Prikaz kemijske sestave amigdalina.....	14
Slika 10: Razpad amigdalina	15
Slika 11: Molekula cianida	15
Slika 12: Tabletke natrijevega cianida	16
Slika 13: Prikaz možnosti zastrupitev s cianidi in dinamika cianida v človekovem telesu	18
Slika 14: Valovne dolžine posamezne svetlobe	19
Slika 15: Princip delovanja spektrofotometra	19
Slika 16: Del uporabljenega inventarja.....	22
Slika 17: Priprava pufra (levo - tehtanje kemikalij, desno - merjenje pH vrednosti)	24
Slika 18: Priprava 3-% raztopine dimedona v 30-% piridinu	24
Slika 19: Standardne raztopine na začetku	25
Slika 20: Standardne raztopine po 40 minutah	25
Slika 21: Raztopine vzorcev	26
Slika 22: Spektrofotometer SHIMADZU UV – 1201.....	27

KAZALO TABEL, GRAFOV in DIAGRAMOV

Tabela 1: Fizikalne lastnosti amigdalina	13
Tabela 2: R in S stavki za uporabljene kemikalije	23
Tabela 3: Meritve absorbance standardnih raztopin	27
Tabela 4: Meritve absorbcije vzorcev.....	28
Tabela 5: Meritve vzorcev	29
Graf 1: Graf odvisnosti absorbance od koncentracije HCN.....	28
Diagram 1: Koncentracije HCN v žganih pijačah	30

1 POVZETEK

Že marsikje smo slišali, da ne smemo pretiravati s surovimi jedrci mareljc, pa tudi z mandljimi. Vsebovali naj bi določeno količino amigdalina (snov, iz katere v našem prebavnem sistemu nastaja cianovodikova kislina), zaradi česar je uživanje prevelike količine marelčnih jedrc in mandljev lahko tudi smrtno nevarno.

V naši raziskovalni nalogi smo se vprašali, ali tudi žgane pijače vsebujejo cianovodikovo kislino ter koliko in ali bi lahko uživanje prevelikih količin žganih pijač iz koščičastega sadja povzročalo zastrupitve ali celo smrt.

V nalogi smo ugotavljali koncentracijo cianovodikove kislino v določenih vrstah žganih pijač. Na podlagi vzorcev smo ugotovili, da je te v sami sestavi žganih pijač zelo malo. Tolikšna koncentracija ob zmernem pa tudi ob prekomernem pitju alkohola ne bi povzročala resnih težav.

2 ABSTRACT

We have already heard that exaggerating with rough kernels of apricots is not advisable, as well as almonds. It is believed that contain a certain amount of amygdaline (substance which generated hydrocyanic acid in our digestive system). Eating excessive amounts of apricot kernels and almonds can be life – threatening.

In our research project, we are dealing with the facts whether spirits contain hydrocyanic acid, and how and if consumption of the excessive quantities of spirits in stone fruit can cause poisoning or even death.

In the study we determined the concentration of hydrocyanic acid certain types of spirits. On the basis of samples, we found that this is already composed of spirits but not a lot such concentrations when consuming alcohol generally should not cause serious problems.

3 UVOD

Žgana pijača oziroma žganje imenujemo skupino alkoholnih pijač, ki jih pridobivajo z vrenjem in nato destiliranjem (žganjekuha). Žganje iz koščičastega sadja, zaradi celotnega postopka, v katerem so vključene tudi strte koščice, vsebuje posledično tudi nekaj amigdalina, ki se v našem prebavnem sistemu s pomočjo encimov pretvarja v cianovodikovo kislino. Cianovodikova kislina je kljub svoji strupenosti uporabna v industriji, kjer bolj kot zdravje šteje zaslužek. Njene soli se uporablajo na primer za ekstrakcijo plemenitih kovin (zlata, srebra) iz rudnin, pri obdelavi jekel ... V vsakem primeru moramo biti pri ravnanju z njo izjemno pazljivi.

Pri nastajanju te raziskovalne naloge smo upoštevali vsa navodila za varno delo ter uporabljali zaščitna sredstva, saj so vse uporabljene kemikalije zelo strupene.

Že pred nalogo sva si ob prebiranju literature zadali hipotezo, ki je bila vodilo skozi celotno raziskovalno naložbo.

Žganje iz koščičastega sadja vsebuje cianovodikovo kislino.

Za to nalogo in hipotezo smo se odločili, ker smo v zadnjih časih marsikje slišali, da mandlji vsebujejo cianovodikovo kislino. Iz te trditve je prišla ideja, da bi raziskovali vsebnost cianovodikove kislino v žganih pijačah iz koščičastega sadja, ki vsebujejo delež koščic, te pa naj bi prav tako kot mandlji vsebovale cianovodikovo kislino.

4 ŽGANJEKUHA

Žganjekuha je postopek pridobivanje alkoholnih pijač z destilacijo alkoholno – prevretih rastlinskih pridelkov.

Izmed trojice alkoholnih pijač: piva, vina in žganja naj bi bilo žganje po nastanku na zadnjem mestu. Primitivno obliko destilacije so poznali že Babilonci in Mezopotamci v drugem tisočletju pr. n. št. Velike civilizacije so že izredno zgodaj odkrile način pripravljanja alkoholnih pijač. Na Kitajskem so že v 8. stol. pr. n. št. pripravljali alkoholne napitke iz riža. Prvi naj bi na moderni način žganje pridobivali Arabci, Egipčani pa naj bi v istem času naredili prvo pravo destilacijsko napravo. Na Slovenskem so prvo tovrstno tovarno žganja in likerjev ustanovili na Ptaju leta 1873, ki se je imenovala Hutter & Elsbacher.^[1]



Slika 1: Prikaz destilacije v preteklosti

4.1 Postopek priprave žganja

Če bi se sami lotili celotne priprave žganja, nam po vsej verjetnosti v prvem poizkusu ne bi uspelo. Celoten postopek je dolgotrajen, zapleten, potrebno se ga je natancno držati in upoštevati vsa pravila in ukrepe. Zato sva uporabili domača žganja lastnih virov, kontaktirali pa sva tudi s kmetijami, ki se ukvarjajo s pridelavo žganih pijač in tudi od njih dobili vzorce.

4.1.1 Priprava sadja



Slika 2: Koščičasto sadje

Kakovost žganja je odvisna od vonljivih snovi, ki jih predestilirajo z drugimi. Vendar pa vse snovi nimajo prijetnega vonja, zato morajo biti pri pripravi sadnih žganj zelo pazljivi.^[2]

Vse se začne z odbiro sadja, ki mora biti zrelo, zdravo in čisto. Kadar izdelujejo žganje iz pečkastega sadja le – tega zmeljejo s sadnim mlinom, medtem ko koščičastega samo stlačijo.^[2]

Pri izdelavi žganja iz koščičastega sadja morajo biti pozorni. Koščice sadja namreč vsebujejo amigdalini, ki tem žganjem daje značilen vonj po grenkih mandljih. Iz amigdalina se pri razpadu v človeškem prebavnem sistemu tvori tudi cianovodikova kislina, ki je lahko v večjih količinah strupena. Zakon zato določa, da je lahko v sestavi drozge do 10 % koščic.^[2]



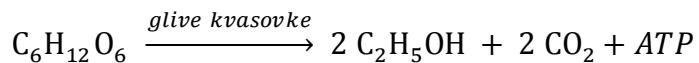
Slika 3: Zmleto sadje - drozga

Zmletemu sadju (drozga) nato dodajo encime, kvasovke ter kislino (fosforna ali žveplova) in ga pustijo vreti v nepredušno zaprtih posodah.

4.1.2 Alkoholno vrenje

Alkoholno vrenje ali **alkoholna fermentacija** je biološki proces, pri katerem se sladkorji (glukoza, fruktoza) pretvorijo v energijo (ATP – adenozin trifosfat), pri čemer nastajata alkohol (etanol) in plin (ogljikov dioksid).

Poenostavljena enačba alkoholnega vrenja:



Za kakovost žganja je alkoholno vrenje zelo pomembno. Uspešno alkoholno vrenje, ki se čim prej začne in konča, omogoča največji izkoristek alkohola ter nastanek najmanj nezaželenih snovi. Takšno vrenje traja približno 4 tedne. Pred fermentacijo je priporočljivo, da sadni drozgi določijo vsebnost sladkorja, saj lahko tako izračunajo alkoholno stopnjo po končanem vretju drozge.^[4]

Ker je fermentacija anaerobni proces, morajo pri celotnem postopku preprečiti dostop zraka. V drozgi so namreč kislinske bakterije, ki bi ob prisotnosti zraka alkohol pretvorile v ocetno kislino, ta pa pri destilaciji hlapi in preide v destilat. Posledica takšnega postopka bi bilo kislo žganje.^[2]

4.1.3 Destilacija

Destilacija (iz latinske besede "*destillare*", ki pomeni "*kapljati ali curljati*") je ločitev tekočin s pomočjo uparjanja in kondenzacije. Temelji na razlikah v temperaturi vrelišč, pri čemer se komponenta z nižjim vreliščem hitreje upari in se tako loči od tiste komponente z višjo temperaturo vrelišča. Kot rezultat dobimo destilat, v katerem je višji delež komponente z nižjo temperaturo vrelišča.^[1]

Najpreprostejši primer destilacije se pojavi prav pri žganjekuhi. Gre za princip ločevanja alkohola iz fermentiranega sadja.

Po končani fermentaciji sadno drozgo v čim krajšem času predestilirajo. Če bi jo pustili stati, obstaja možnost, da bi se zaradi bakterij skisala ali celo splesnela.

Takšno plesnivo drozgo za nadaljnjo obdelavo ni mogoče uporabiti, saj takšno žganje ne bi bilo več primerno za uživanje. Destilacija pri žganjekuhi poteka v za to posebej namenjenih posodah, **alembikih** oz. destilacijskih kotlih.^[3]

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah



Slika 4: Destilacijski kotel ali ALEMBIK

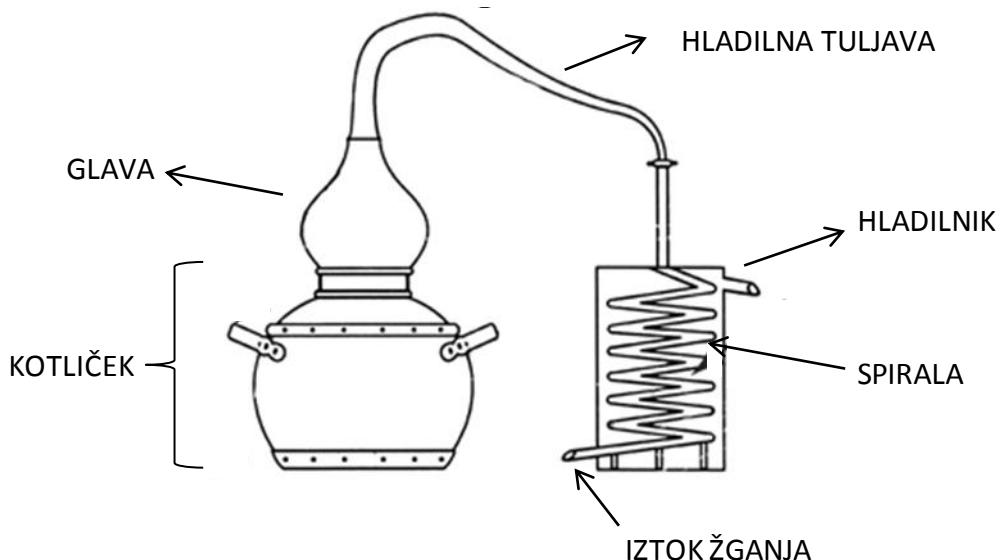
Destilacijo lahko razdelimo na tri dele:

- **glava,**
- **srce,**
- **rep.**

Ko tekočina v destilatorju doseže 64,7 °C, prične najprej izparevati nezaželen metanol, ki predstavlja glavo. Dobljen metanol zavrzemo, saj je človeku strupen. Ko se v nadalnjem temperatura dvigne na 78,5 °C, nastopi srce. Ta del destilacije je zaželen.^[3]

V tem temperaturnem območju morajo destilat držati čim dlje, da dobijo največ etanola, ki je glavna sestavina žganih pijač. Ko etanola prične primanjkovati, začno izparevati višji alkoholi. Ti predstavljajo rep destilacije, ki pa ga moramo zavreči. Višji alkoholi namreč ne pripomorejo h kvaliteti pijače. Celoten postopek destilacije je zahteven proces, pri katerem morajo biti izvajalci previdni in se držati vseh pravil in ukrepov.^[3]

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah



Slika 5: Skica sestavnih delov alembika

Po končani destilaciji, morajo destilatu izmeriti vsebnost alkohola. Če je ta previsoka, destilat razredčijo z vodo. Vodo vedno dodajajo v destilat in ne obratno, pri čemer morata imeti oba enako temperaturo. Po dodajanju vode destilatu še enkrat izmerijo vsebnost alkohola.



Slika 6: Razredčevanje alkohola

4.1.4 Zorenje in napake žganja

Po potrebnem razredčevanju in destilaciji je žganje surovega in nezaokroženega okusa, zato ga je potrebno starati. Žganje se stara v steklenih posodah ali lesenih sodih najmanj dva meseca. Velja pravilo, da starejše, kot je žganje, boljše je.^[2]

Med samim postopkom izdelave žganja pa lahko pride do raznoraznih napak. Posledice so različni priokusi v žganju. Na primer:

- **pekoč in oster okus**— prepozno odvzemanje zadnjega dela destilata (okus po patoki),
- **okus po cvetu** — prepozno odvzemanje prvega toka,
- **okus po plesni** — plesnivo ali gnilo sadje, plesniva posoda, slabo zaprta posoda,
- **okus po kislem** — zaradi ocetne kisline v drozgi,

- **okus in vonj po žveplu,**
- **motnost** — pri redčenju s trdo vodo, zaradi stika z višjimi alkoholi,
- **okus in vonj po koščicah** — v žganju je preveč cianovodikove kisline.

Napaka v žganju zaradi prevelike količine cianovodikove kisline je okus in vonj po koščicah. Nastane zaradi preveč zdrobljenih ali zmletih koščic v drozgi (10 % dovoljeno). Po Uredbi Sveta Evrope je v žganjih najvišja dovoljena vsebnost cianovodikove kisline 10 g/hl (izračunano na 100 vol.% alkohola). Takšno napako lahko odpravijo s srebrovim nitratom, nastalo spojino pa odstranijo s filtriranjem. Dobljeno žganje razredčijo in ponovno destilirajo.^[2]

5 AMIGDALIN

Amigdalin je poimenovan po grški besedi za mandlje: amygdale. Je glukozid (cianohidrin), ki je bil prvotno izoliran iz grenkih mandljev in kasneje iz koščic marelic. Najdemo ga lahko v skoraj 1200 vrstah sadja in zelenjave. Poznamo ga tudi v drugačni obliki pod imenom laetril oz. vitamin B17.^[5]



Slika 7: Naravni izvor amigdalina (levo - koščica marelice in desno - mandelj)

V spodnji tabeli so prikazane fizikalne lastnosti amigdalina.^[6]

Tabela 1: Fizikalne lastnosti amigdalina

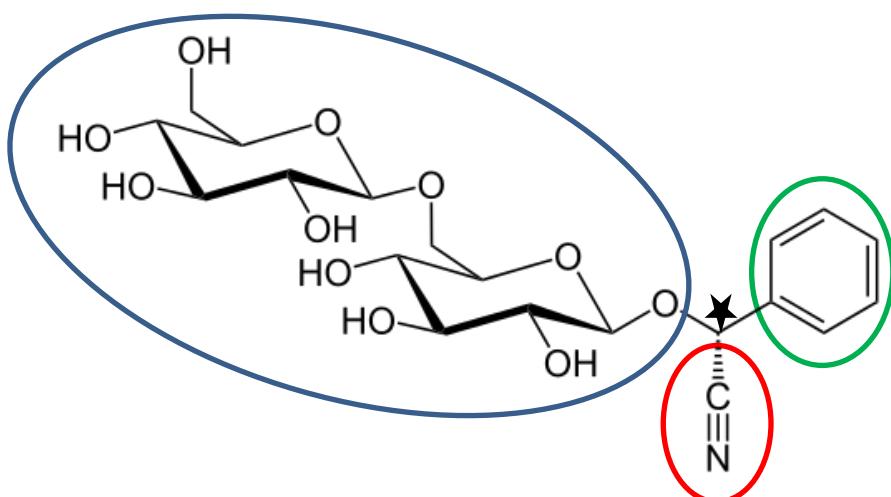
LASTNOST	VREDNOST
kemijska formula	C ₂₀ H ₂₇ NO ₁₁
molska masa	457,43 g / mol
gostota	1,6 g / cm ³
vrelišče	743,3 °C

Določanje cianovodikove kislina v žganih pijačah

Laetril (vitamin B17) so v preteklosti zaradi domnevne zdravilnosti uporabljali tudi kot zdravilo proti raku, a so ga zaradi kroničnih zastrupitev s cianidi pri pacientih ovrgli, danes pa se lahko dobi na zahodu, a zgolj na recept. Verjeli so namreč, da naj bi sproščena cianovodikova kislina iz laetrlila uničila rakave celice, ki imajo več encima za razgradnjo te snovi kot pa zdrave celice.^[7]



Slika 8: Steklenička vitamina B17



Slika 9: Prikaz kemijske sestave amigdalina

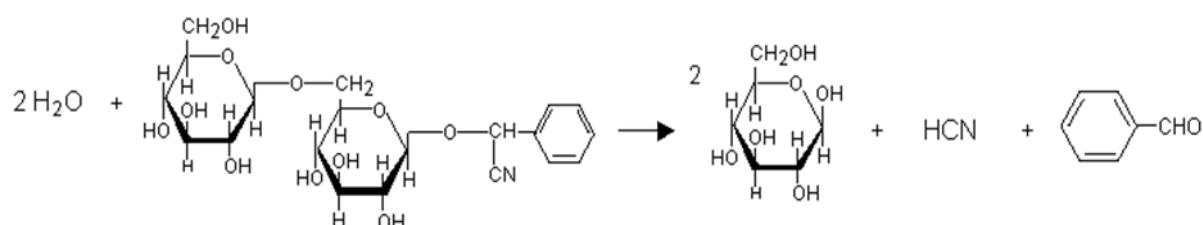
Na sliki je s strukturno formulo prikazana kemijska sestava amigdalina. Z modro barvo sta obkroženi dve molekuli glukoze, ki se med seboj povezujeta z α - 1,4 – glikozidno vezjo. Z rdečo barvo je označena cianidna skupina, ki povezuje ogljikov atom preko trojne vezi z dušikovim atomom. Z zeleno barvo pa je označen benzen.

Zaradi kiralnega centra na benzilni skupi (označen z zvezdico) obstajata dve konfiguraciji amigdalina. Naravni amigdalini ima α -konfiguracijo, kar pomeni, da je cianidna skupina obrnjena navzdol. Pri rahlo bazičnih pogojih, se pojavi epimera amigdalina, ki jo imenujemo neoamigdalini.^[6]

5.1 Razpad amigdalina

V človekovem prebavnem sistemu je mnogo encimov, bakterij, ki pomagajo razgraditi zaužito hrano do takšne mere, da jo telo lahko absorbira in porabi za nadaljnjo presnovo.

Iz zaužite hrane, ki vsebuje amigdalin, se s pomočjo encima β -glukozidaze, topote, mineralnih kislin in vode sprosti cianovodikova kislina. V prebavilih sicer ni na voljo obilo encima, ga pa zato vsebujejo semena. Biokemična pretvorba najprej počasi poteče v kislem želodčnem okolju, nato pa hitreje v alkalnem črevesju. Zaradi takšne časovne razlike v razgradnji se lahko znaki zastrupitve s cianidi pokažejo z zamudo.^[5]



Slika 10: Razpad amigdalina

Amigdalin ob stiku z vodo razpade na dve molekuli glukoze, cianovodikovo kislino in benzaldehid, kar prikazuje zgornja shema razpada.

6 CIANOVIDIKOVA KISLINA

Vodikov cianid je linearna molekula s trojno vezjo med atomom ogljika in dušika. Raztopino v vodi imenujemo cianovodikova kislina, ki je zelo hlapna tekočina in strupena.



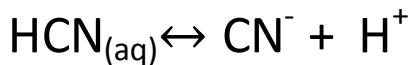
Slika 11: Molekula cianida

Pruska kislina, drugo ime za najbolj strupeno sintetično spojino (do odkritja živčnih bojnih strupov), oziroma cianovodikova kislina, je anorganska, brezbarvna, izredno strupena spojina, z vreliščem tik nad sobno temperaturo ($25,6^{\circ}\text{C}$).^[8]

Z vodo se meša v vseh razmerjih, deloma tudi disociira. Njena konstanta disociacije (pK_a) znaša 9,31, kar pomeni, da je šibka kislina.^[8]

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Vodikov cianid v vodi razpade na cianidne in vodikove ione.

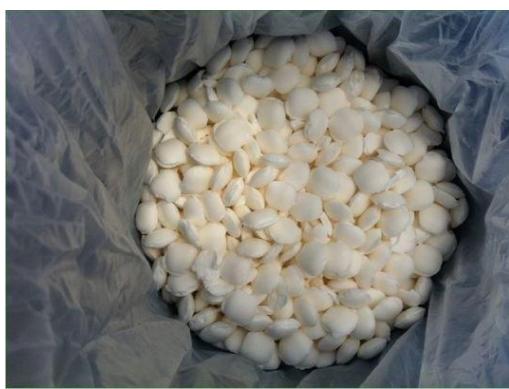


6.1 Uporaba cianovodikove kisline

V današnjem času velike korporacije stremijo večinoma k zasluzu. Tako je tudi v industriji, kjer proizvajajo in uporabljajo določene snovi, kemikalije, ki so za nas strupena, a kljub vsemu prinašajo denar.

Enako je pri cianovodikovi kislini in cianidih, ki jih kljub strupenosti uporabljajo v industriji. Cianidi se uporabljajo za ekstrakcijo plemenitih kovin (zlato, srebro ...) iz rudnin zato, ker cianidni ioni s svojo sestavo pomaknejo reakcije na stran produktov do te mere, da postanejo za industrijo interesantni. Plemenite kovine se na Zemlji ne pojavljajo v velikih količinah kot samorodne, temveč jih je večina v zmeseh z drugimi rudninami.^[9]

Natrijev cianid – **NaCN** – se uporablja pri obdelavi jekla. Zaradi termične neobstojnosti med postopkom razpade, pri čemer se tvori atomarni dušik, ki se zlahka prerine do luknjic v strukturi jekla in jih zapolni. Jeklo obdelano po takšnem postopku ima zaradi večje zasedenosti v kristalni strukturi večjo trdoto in se uporablja za zaščitne plošče, bojne oklepnike.^[9]



Slika 12: Tabletke natrijevega cianida

Vodikov cianid – **HCN** – se je v uporabljal kot surovina za sintezo akrilonitrila, a se danes ta postopek umika. Njegova najbolj sporna uporaba je bila po vsej verjetnosti v plinskih celicah koncentracijskih taborišč. Kakor večinastrupov, izdelanih sprva v vojaške namene, si je tudi

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

HNC po vojni našel zaposlitev v biocidnih dejavnostih. V ladjedelništvu so ga uporabljali za čiščenje oblog morskih alg z ladijskih trupov, v kmetijstvu pa kot fungicid za odstranjevanje škodljivcev s kulturnih rastlin.^[9]

6.2 Zastrupitev s cianidi

Cianidi spadajo zaradi svoje izredne toksičnosti med zelo nevarne kemijske spojine. Srednja smrtna koncentracija (LD_{50}) znaša:

- **intravenozno – 1,1 mg/kg**
 - **dermalno – 100 mg/kg**
 - **oralno – med 100 in 200 mg/kg** za natrijev in kalijev cianid
- } vodikov cianid

Tako kot jih najdemo v naravi, se pojavljajo tudi zaradi človekovega vpliva. Najdemo jih v vlažnem zraku kot produkte nepopolnega sežiga spojin z vsebujočim dušikom (cigaretni dim).

Poznamo dva načina zastrupitev s cianidi.

- **AKUTNA ZASTRUPITEV**

Je nevarnejša oblika zastrupitve, pri kateri smo v nekem trenutku izpostavljeni veliki količini cianidov. Ti se vsrkajo v telo preko želodčno – črevesnega predela ter se z lahkoto razpršijo po telesu in hitro povzročijo zastoj v dihanju.^[7]

Znaki zastrupitve so omotičnost, glavobol, bruhanje, pijanost, dihalne motnje, krči, ohromelost, nezavest in v najslabšem primeru tudi smrt, ki lahko nastopi zelo hitro po zaužitju. Protistrupi so nitriti, tiosulfat, aminofenol, ki so lahko koristni le v zdravniških rokah.^[7]

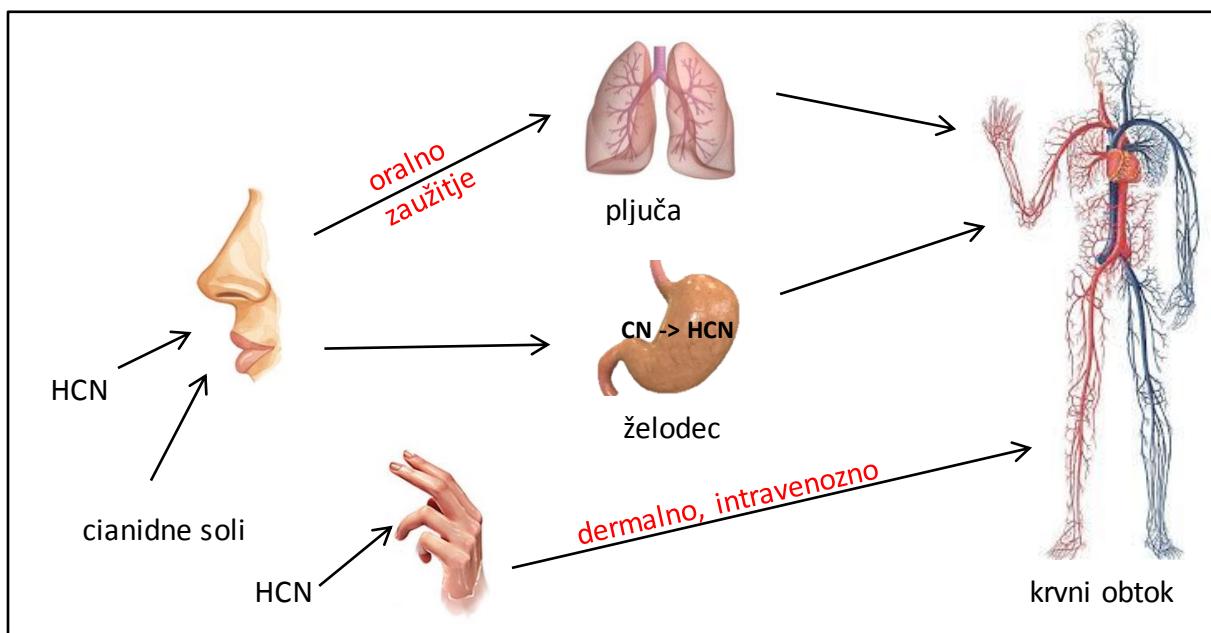
- **KRONIČNA ZASTRUPITEV**

Kronična zastrupitev nastopi kadar, smo majhnim količinam cianidov izpostavljeni dlje časa. Glavni bolezenski znaki so zvečana raven tiocianata v krvi, golša, ščitnični rak, poškodbe na očesnem živcu, slepota, neusklenost gibov, mišična prenapetost, slaboumnost in miselna počasnost. pride lahko tudi do poškodb na živčni ovojnici in drugih živčnih bolezni, prav tako do hudih sprememb v krvni sestavi. Koliko je potrebno za strupen učinek, je odvisno od

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

množine amigdalina in encima β -glukozidaze, časa jemanja, stopnje semenske razmehčanosti ter posameznikove sposobnosti razgraditi amigdalini in razstrupiti cianidi.^[7]

S cianidi se lahko zastrupimo na več načinov, kot nam prikazuje spodnja shema. Najbolj nevarna sta vdihovanje cianovodikovih hlapov in uživanje cianidnih soli, ki se z lakoostjo absorbirajo iz prebavnega sistema. Pri zastrupitvi zaradi uživanja cianidnih soli pride do visokih koncentracij cianida v jetrih. Pri obeh načinih zasledimo visoke koncentracije cianida v eritrocitih, srcu, pljučah in možganih. Cianidi se lako absorbirajo tudi skozi našo kožo, a je možnost zastrupitve v tem primeru manjša.

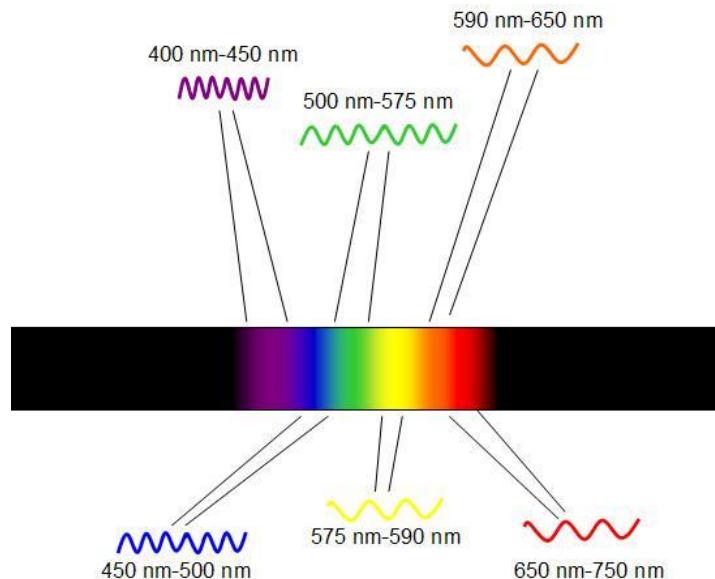


Slika 13: Prikaz možnosti zastrupitev s cianidi in dinamika cianida v človekovem telesu

Mehanizem toksičnosti cianidov temelji na zaviranju celičnega dihanja. Ko se v prebavnem sistemu sprostijo cianidni ioni in preidejo v krvni obtok, se vežejo na železov ion (Fe^{3+}), ki je pomemben pri prenosu kisika v celice. Ker se cianidni ion veže močneje na železov ion kot kisik, s tem prekine transport elektronov v notranjo membrano mitohondrija.^[9]

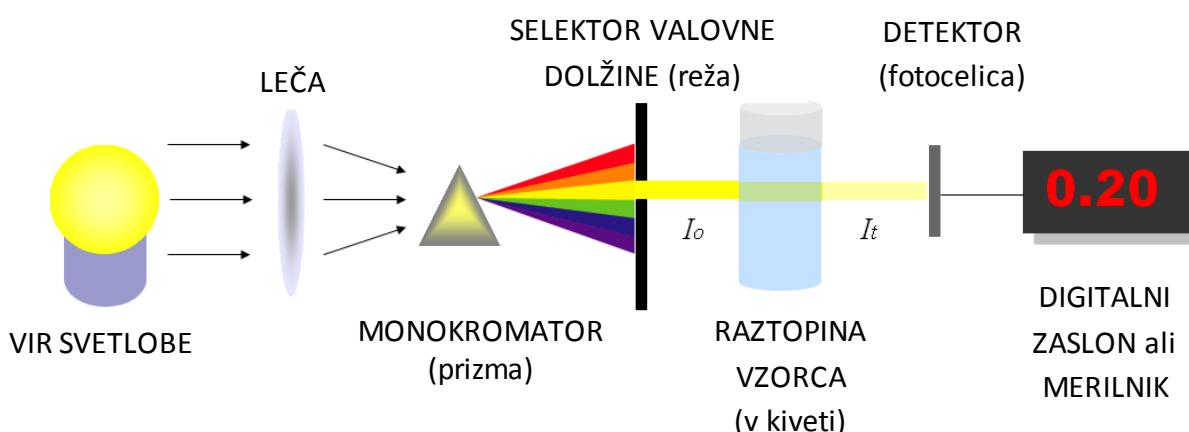
7 SPEKTOFOTOMETRIJA

Spektrofotometrija je področje molekulske absorcijske spektrometrije, pri kateri skozi raztopino analiznega vzorca spuščamo svetlobo izbrane valovne dolžine.



Slika 14: Valovne dolžine posamezne svetlobe

Glede na spektralno območje, v katerem merimo, obstaja spektrofotometrija v ultravijoličnem, vidnem in infrardečem delu elektromagnetnega spektra. Bistveni sestavni del spektrofotometra, je monokromator, ki od svetlobe svetila prepušča zelo ozek pas valovnih dolžin.

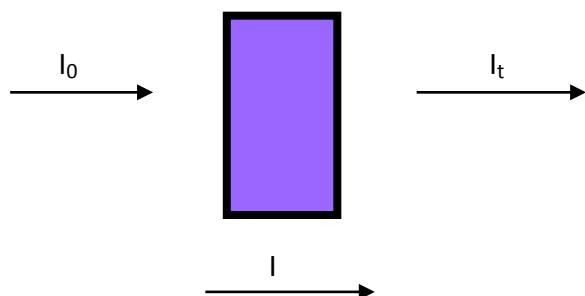


Slika 15: Princip delovanja spektrofotometra

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Spektrofotometrija je analizna metoda, pri kateri določamo koncentracijo obarvane raztopine na osnovi absorbirane in prepuščene svetlobe določene valovne dolžine. Metodo uporabljam za določevanje vsebnosti elementov in spojin (npr. Cu, Fe, P, S), v prehrambeni industriji, farmacevtski industriji in ekologiji.

Absorpcija svetlobe v raztopini



Monokromatska svetloba (svetloba ene valovne dolžine) intenzitete I_0 gre skozi kiveto, napolnjeno z obarvano prozorno raztopino, pri čemer se na steni kivete delno odbije, v raztopini delno absorbira, večji del pa je raztopina prepusti I_t .

Definicija prepustnosti – transmitanca (T):

$$T = \frac{I_t}{I_0}$$

T—delež prepuščene svetlobe

Definicija absorbance – A (optična gostota, ekstinkcija - E):

Absorbanca pomeni slabitev gostote svetlobnega toka zaradi absorpcije in sipanja.

Zveza med T in A:

$$A = -\log T = -\log \left(\frac{I_t}{I_0} \right)$$

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Beer-Lambertov zakon

Podaja zvezo med množino absorbirane svetlobe in koncentracijo. Za razredčene raztopine velja, da je absorbanca prenosorazmerna koncentraciji vzorca.

$$A = a \cdot l \cdot \gamma \quad \text{ali} \quad A = \varepsilon \cdot c$$

a—absorbitivnost ($1/(cm\ g/L)$)

l — širina kivete (cm)

ε —molska absorbbitivnost ($1/(cm\ g/L)$)

c—koncentracija vzorca (mol/L)

Da se izognemo računanju po Beer-Lambertovem zakonu, uporabljammo metodo umeritvene krivulje, saj je odvistnost absorbance (A) od koncentracije (c) linearja. [11]

Spektrofotometer je naprava s katero merimo absorpcijo svetlobe. Sestavljen je iz izvora svetlobe, monokromatorja, kivete in detektorja. Merimo tako, da primerjamo količino prepuščene svetlobe skozi raztopino vzorca in referenčne raztopine (slepi vzorec) v določenem spektralnem območju. Spektrofotometrične meritve absorpcije izvajamo pri valovni dolžini absorpcijskega maksimuma. V tej točki je spremembra absorbance na enoto koncentracije največja. [11]

8 EMPIRIČNI DEL

Začetna hipoteza je trdila, da žgane pijače iz koščičastega sadja vsebujejo cianovodikovo kislino. Namen naše raziskovalne naloge je torej bil, določitev cianovodikove kisline v določenih vzorcih žganih pijač in s tem podpreti ali ovreči našo hipotezo.

Nalogo smo izvajali s spektrofotometrično analizo.

8.1 Inventar

Celoten inventar, ki smo ga potrebovali za izvedbo raziskovalne naloge, je bil:

- spektrofotometer SHIMADZU UV – 1201,
- steklene kivete s premerom 10 mm,
- merilni valj 50 mL, 10 mL 2x,
- polnilna pipeta 1 mL,
- nastavek za pipetiranje,
- merilna pipeta 2 mL,
- čaša 600 mL, 250 mL in 50 mL 2x,
- merilna bučka 500 mL, 100 mL, 50 mL 6x,
- analizna tehnicka,
- precizna tehnicka,
- steklena palčka.

Pri delu smo uporabljali obvezno zaščito (haljo, očala, rokavice), saj so bile skoraj vse uporabljeni kemikaliji zelo strupene.



Slika 16: Del uporabljenega inventarja

8.2 Kemikalije

Pri delu smo, kot smo omenjali že prej, uporabljali zelo strupene kemikalije, zaradi česar smo morali delati previdno in po vseh pravilih, ki se jih morajo držati kemiki. Uporabljene kemikalije in njihovi R (risk) ter S (safety) stavki so predstavljeni v spodnji tabeli.

Tabela 2: R in S stavki za uporabljene kemikalije

kemikalija	formula	R	S
5,5-dimetil 1,3-diketocikloheksan (dimedon)	C ₈ H ₁₂ N	/	/
piridin	C ₅ H ₅ N	11-20/21/22	26-28
kloramin T trihidrat	C ₇ H ₇ CINNaO ₂ ·3H ₂ O	22-31-34-42	7-22-26-36/37/39-45
natrijev hidrogenfosfat dihidrat	Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	/	/
kalijev dihidrogenfosfat	KH ₂ PO ₄	36/38-35-22	24/25-45-36/37/39-26
standardna raztopina cianida	HCN	20/21/22-51/53	36/37-61

8.3 Delo

Pred začetkom dela si pripravimo delovni prostor, ki mora biti čist, urejen in zaščitimo sami sebe (zaščitna halja, rokavice, očala, speti lasje). Pripravimo si tudi vse potrebne pripomočke in kemikalije ter izračunamo potrebne količine snovi, ki jih potrebujemo za nadaljnje delo.

8.3.1 Priprava pufra

Nekaj dni pred začetkom analize si pripravimo pufer, ki mora počivati. Na analizni tehtnici zatehtamo 5,25 g Na₂HPO₄ · 2H₂O in 0,5215 g KH₂PO₄. Kemikaliji raztopimo v destilirani vodi, prelijemo v 500 mL meritno bučko in dobro premešamo. Pred uporabo pufra izmerimo še pH, ki mora znašati 7,6.

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah



Slika 17: Priprava pufra (levo - tehtanje kemikalij, desno - merjenje pH vrednosti)

8.3.2 Priprava 1%-raztopine kloramina T

Za pripravo te raztopine na precizni tehtnici v čaši zatehtamo 0,5 g kloramina T. Raztopimo ga v destilirani vodi, raztopino prelijemo v 50 mL merilno bučko, dopolnimo do oznake ter dobro premešamo.

8.3.3 Priprava 3%-raztopine dimedona v 30%-piridinu

Pripravimo si 3%-raztopino dimedona v 30%-piridinu. Na precizni tehtnici zatehtamo 3 g dimedona, ki ga raztopimo v 30 g piridina. Raztopini dodamo destilirano vodo do 100 g in prelijemo v 100 mL merilno bučko.



Slika 18: Priprava 3%-raztopine dimedona v 30%-piridinu

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

8.3.4 Priprava standardnih raztopin

Pripravimo si raztopino cianida (delovna raztopina), ki ima koncentracijo $1 \text{ mL} = 10 \text{ mikrogramov CN}^-$. Od matične raztopine s pipeto odmerimo 1 mL raztopine in jo prelijemo v 100 mL meritno bučko ter dopolnimo z destilirano vodo do oznake. V meritni valj z meritno pipeto odpipetiramo 0,1 mL delovne raztopine in dopolnimo z destilirano vodo do 36 mL. Prelijemo v 50 mL meritno bučko in s polnilno pipeto dodamo 1 mL 1%-raztopine kloramina T, premešamo in pustimo, da reagira 1 minuto. Nato po vrsti dodamo 10 mL fosfatnega pufra in 3 mL dimedon-piridina.

Dobro premešamo in pustimo stati najmanj 40 min, da se razvije močna vijolična barva. Postopek ponovimo še z 0 mL, 0,5 mL, 1,0 mL, 1,5 mL in 2,0 mL delovne raztopine, da dobimo 5 standardnih raztopin, ki ustrezajo 0, 1, 5, 10, 15, 20 $\mu\text{g HCN}$. Po 40 minutah prelijemo standardne raztopine v kivete, te pa vstavimo v spektrofotometer. Absorbanco odčitamo med 40. in 55. minuto po dodatku reagentov pri valovni dolžini 580 nm.



Slika 19: Standardne raztopine na začetku



Slika 20: Standardne raztopine po 40 minutah

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

8.3.5 Priprava vzorcev

Priprava vzorcev poteka na isti način kot priprava standardov. Izbrali smo si šest vzorcev žganja, od tega štiri vzorce iz koščičastega sadja in sicer breskovo, višnjevo, kutinovo, hruškovo in dve različni vrsti slivovega žganja.

V 100,0 mL meritni valj odmerimo 36,0 mL breskovega žganja, prelijemo v 100,0 mL bučko dodamo 1,0 mL 1-% raztopine kloramina T in pustimo 1 minuto, da reagira, odmerimo 10,0 mL fosfatnega pufra in 3,0 mL dimedon-piridina v meritnem valju in prelijemo v bučko. Zmešamo in počakamo 40 minut, da se raztopina obarva. Enak postopek naredimo za vsa žganja.



Slika 21: Raztopine vzorcev

8.3.6 Merjenje absorbance

Spektrofotometer SHIMADZU UV – 1201 vključimo pol ure pred začetkom merjenja, da se segreje.

Po 40 minutah reagiranja kemikalij, ko se nam raztopine obarvajo z močno vijolično barvo, začnemo z merjenjem. Preden prelijemo raztopine standardov v kivete, le te speremo z destilirano vodo in s posameznimi standardi, da so rezultati natančni. Spektrofotometer moramo pred prvim merjenjem nastaviti. Nastavimo možnost merjenje absorbance, valovno dolžino na 580 nm in izberemo število kivet, ki jih bomo merili. Spektrofotometer nastavimo na ničlišče z raztopino, ki vsebuje 0 mL cianovodikove kisline, vsebuje pa vse druge kemikalije (slepa proba). Umerimo ga s tipko AVTO ZERO in pojavi se nam ničelna vrednost.

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Pri merjenju moramo biti pozorni na to, da poteka žarek pravokotno na nosilec, zato ne sme biti obrušenih delov kivete. Paziti moramo tudi, da v kiveti ni zračnih mehurčkov, ki bi prikazali napačne rezultate.

V pet kivet nalijemo standardne raztopine od 1 do 2 mL cianovodikove kisline in izmerimo njihovo absorbanco. Kivete v nosilcu za kivete razporedimo po vrstnem redu (od 0 do 2 mL HCN). S tipko START na LCD zaslonu sprožimo meritve. Rezultati meritve se nam prikažejo v tabeli na zaslonu.

Meritve ponovimo vsaj trikrat, zapišemo si rezultate in narišemo graf odvisnosti ekstinkcije (optične gostote) oziroma absorbance od koncentracije HCN.

Postopek je enak za merjenje absorbance vzorcev.



Slika 22: Spektrofotometer SHIMADZU UV – 1201

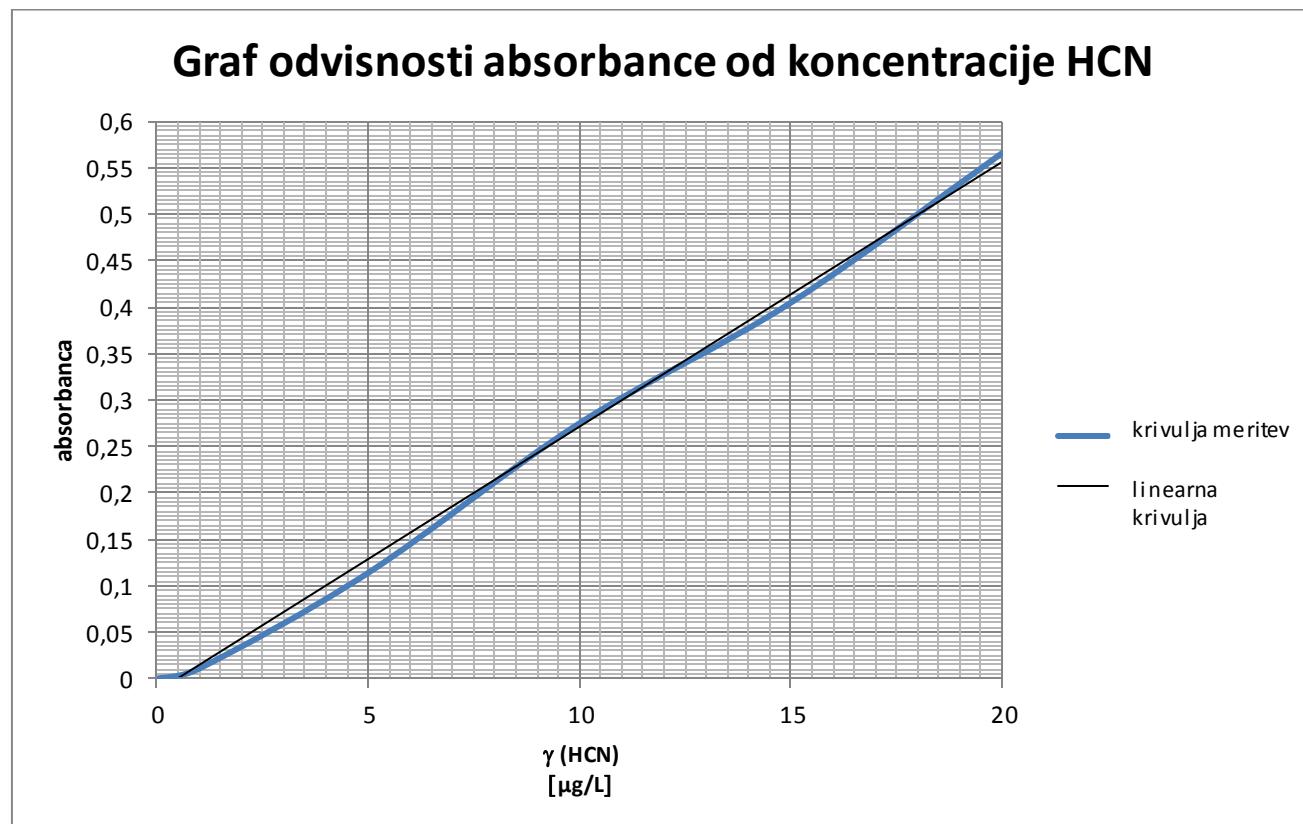
8.4 Meritve in račun

Tabela 3: Meritve absorbance standardnih raztopin

γ (HCN) [$\mu\text{g/L}$]	Absorbanca			
	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečna vrednost
0	0,000	0,000	0,000	0,000
1	0,012	0,011	0,011	0,0113
5	0,119	0,116	0,113	0,116
10	0,283	0,279	0,274	0,278
15	0,418	0,412	0,403	0,411
20	0,590	0,570	0,562	0,574

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Na podlagi vseh meritev standardnih raztopin smo narisali graf.



Graf 1: Graf odvisnosti absorbance od koncentracije HCN

Tabela 4: Meritve absorbcije vzorcev

Vrsta žganja	Absorbanca			
	1. meritev	2. meritev	3. meritev	povprečna vrednost
BRESKEV	0,003	0,003	0,003	0,003
SLIVA 1	0,013	0,014	0,013	0,0133
SLIVA 2	0,018	0,018	0,018	0,018
VIŠNJA	0,000	0,000	0,000	0,000
HRUŠKA	0,000	0,000	0,000	0,000
KUTINA	0,000	0,000	0,000	0,000

Iz grafa odčitamo vrednosti absorbcije za posamezen vzorec žgane pijače. Ker smo pri delu za vzorec uporabili 36 mL žganja, smo pri nadalnjem računanju koncentracij cianovodikove kisline preračunali vsebnost na 10 mL.

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Tabela 5: Meritve vzorcev

Vrsta žganja	Absorbanca	Koncentracija v 36 mL vzorca [µg/L]	Koncentracija v 10 mL vzorca [µg/L]
BRESKEV	0,003	0,2	0,056
SLIVOVKA 1	0,0133	1,2	0,333
SLIVOVKA 2	0,018	1,6	0,416
KUTINA	0,000	0,000	0,000
HRUŠKA	0,000	0,000	0,000
VIŠNJA	0,000	0,000	0,000

$$D = \frac{\text{konz. v } 36 \text{ mL} \cdot 10 \text{ mL}}{36 \text{ mL}}$$

Primer izračuna koncentracije v 10 mL vzorca za slivovko 1.

$$D = \frac{1,2 \text{ µg/L} \cdot 10 \text{ mL}}{36 \text{ mL}} = 0,333 \text{ µg/L}$$

Izračun koncentracije cianovodikove kisline v vzorcih.

D – vrednost cianovodikove kisline, odčitana z grafa in izražena v mikrogramih (preračunana na 10 mL vzorca)

Delimo s 1000, ker računamo na 1000 mL vzorca, kadar vzamemo 10 mL vzorca. Ravno zato preračunamo količine iz 36 mL vzorca na 10 mL vzorca.

$$\text{HCN v mg/L} = \frac{D \cdot 100}{1000} = \text{ozioroma} \frac{D}{10}$$

- **BRESKOVO ŽGANJE**

$$\text{HCN v } \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{0,056 \text{ µg/L} \cdot 100}{1000} = 0,0056 \text{ mg/L}$$

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

- **SLIVOVKA 1**

$$\text{HCN v } \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{0,333 \mu\text{g/L} \cdot 100}{1000} = 0,0333 \text{ mg/L}$$

- **SLIVOVKA 2**

$$\text{HCN v } \frac{\text{mg}}{\text{L}} = \frac{0,416 \mu\text{g/L} \cdot 100}{1000} = 0,0416 \text{ mg/L}$$

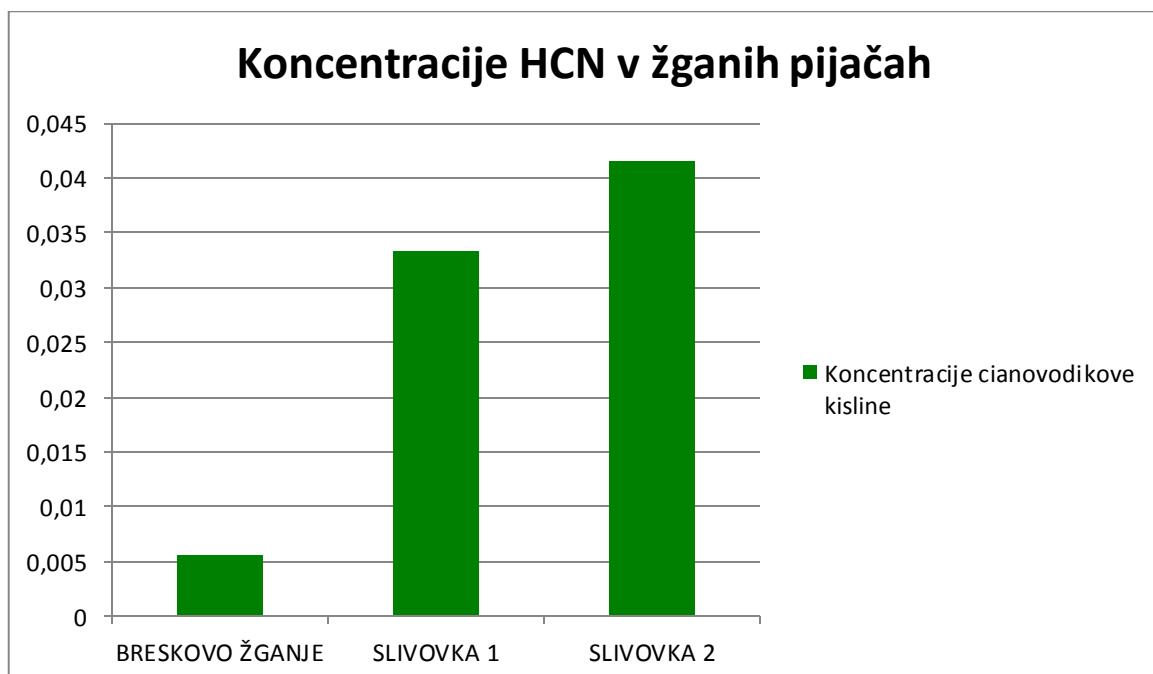


Diagram 1: Koncentracije HCN v žganih pijačah

Opomba: Poleg vseh ostalih žganj smo žeeli opraviti meritve tudi na mareličnem žganju, a je prišlo do težav pri transportu in žganja nismo dobili pravi čas.

9 KOMENTAR

Namen raziskovalne naloge je bil ugotoviti, ali določene žgane pijače vsebujejo cianovodikovo kislino. To trditev smo postavili tudi kot začetno hipotezo.

Z merjenjem absorbcijskih maksimumov, najprej standardnim raztopin in kasneje še raztopinam vzorcev, smo delno potrdili našo začetno hipotezo. Rezultati so pokazali, da vsa žganja iz koščičastega sadja, razen višnjevega, vsebujejo določeno koncentracijo cianovodikove kisline, žganja iz drugega sadja pa ne. Je pa res, da smo pričakovali drugačne rezultate. Predpostavljeni smo, da bo v breskovem žganju več cianovodikove kisline, saj so koščice večje kot pri slivah, a rezultati so pokazali drugače. Možna odgovora sta ta, da so koščice breskev v primerjavi s sadjem manjše kot koščice sliv in, da pri mletju sadja koščice breskev manj razpadajo zaradi dodatnega ovoja, medtem ko koščice sliv lažje popokajo.

Čeprav kutine in hruške nimajo koščic, imajo pečke, ki naj bi prav tako vsebovale amigdalin. A ker so v primerjavi s sadeži zelo majhne, tudi koncentracije cianovodikove kisline v žganju iz tega sadja nismo pričakovali.

Kljub delu z strupenimi kemikalijami smo delo opravljali po vseh pravilih, uporabljali smo določeno zaščito in se tako zavarovali pred kakršno koli zastrupitvijo s cianidi.

10 ZAHVALA

Na začetku so nama rekli, da najine raziskovalne naloge ne bo mogoče opraviti zaradi kemikalij in vseh drugih stvari. Prav posebno se zahvaljujeva najini mentorici ge. Ireni Drofenik, ki nama je stala ob strani od vsega začetka. Zahvaljujeva se tudi ge. Valentini Hrastnik, ki je lektorirala nalogu in ge. Klavdiji Špur Jereb, ki je lektorirala povzetek v angleščini.

Uspelo nama ne bi tudi brez pomoči osebja iz Zavoda za zdravstvo Celje, ki so nama prijazno ponudili pomoč pri nabavi kemikalij.

Zahvaljujeva se tudi g. Aleksandru Bagarju s kmetije Pri Bagiju, ki nama je poslal domače breskovo žganje.

11 VIRI in LITERATURA

- [1] <http://mediterranea.gostorego.com/zgodovina-destilacije> (10. 3. 2014)
- [2] http://www.kmetijskizavod-ng.si/priponke/Predavanja/Kako_do_dobrega_zganja.pdf
(10. 3. 2014)
- [3] <http://mediterranea.gostorego.com/osnove-destilacije> (10. 3. 2014)
- [4] http://www.pomurec.com/vsebina/20559/Domaca_zganjekuha:_Destilacija (10. 3. 2014)
- [5] http://vsi-zdravi.org/pome_mbna-hranila-2/vitamini/vitamin-skupine-b/727-z-vitaminom-b17-nad-raka.html (10. 3. 2014)
- [6] <http://en.wikipedia.org/wiki/Amygdalin> (10. 3. 2014)
- [7] <http://www.pomurske-lekarne.si/si/index.cfm?id=1530> (10. 3. 2014)
- [8] http://sl.wikipedia.org/wiki/Cianovodikova_kislina (10. 3. 2014)
- [9] <http://www.kemija.org/index.php/kemija-mainmenu-38/24-kemijacat/224-smrtonosni-mandlji-a-cianovodikova-kislina> (10. 3. 2014)
- [10] http://abra.fkkt.uni-lj.si/pihlar/AA2003_04/cianid.pdf (10. 3. 2014)
- [11] Jelka Sodja Božič, VAJE IZ INSTRUMENTALNE ANALIZE, Trzin: Izolit, 1998.

VIRI SLIK

Slika 123:

- http://www.kmetijskizavodng.si/priponke/Predavanja/Kako_do_dobrega_zganja.pdf
(10. 3. 2014)

Slika 2: <http://svezina.tus.si/?redirect=http://svezina.tus.si/izdelki/koscicasto-sadje/>
(10. 3. 2014)

Slika 3: http://www.pomurec.com/vsebina/20517/Domaca_zganjekuha:Mletje_sadja
(10. 3. 2014)

Določanje cianovodikove kisline v žganih pijačah

Slika 4, 5: <https://jan-okowita.pl/product-pl-581-alembik-mauretanski-miedziany-30-litrow-1021.html> (10. 3. 2014)

Slika 6: http://www.kmetijskizavod-n.si/priponke/Predavanja/Kako_do_dobrega_zganja.pdf (10. 3. 2014)

Slika 7: <http://www.kmhem.net/archives/o1/amyg达尔in/> (10. 3. 2014)

Slika 8: http://www.credencegroup.co.uk/osc/product_info.php?products_id=31 (10. 3. 2014)

Slika 9: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Amygdalin_structure.svg (10. 3. 2014)

Slika 10: <http://www.inchem.org/documents/cicads/cicads/cicad61.htm> (10. 3. 2014)

Slika 11: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Hydrogen-cyanide-2D.png> (10. 3. 2014)

Slika 12: http://chemeua003.en.ec21.com/Sodium_Cyanide_NaCN_Industrial_Chemicals--6662944_6773101.html (10. 3. 2014)

Slika 13: http://abra.fkkt.uni-lj.si/pihlar/AA2003_04/cianid.pdf (10. 3. 2014)

Slika 14, 15: <http://student.pfmb.unimb.si/~lgrabusnik/elektronska.html> (10. 3. 2014)

Slika 16 – 22 : lastni arhiv

12 PRILOGE

K raziskovalni nalogi prilagamo tudi varnostne liste za uporabljene kemikalije.