	Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50270.1 – Stanovení obsahu karvonu	Vydání	1
		Revize	1

STANOVENÍ OBSAHU KARVONU

1 Účel a rozsah

Postup je určen pro stanovení obsahu karvonu v kmínové silici.

2 Princip

Na známé množství kmínové silice se působí přebytkem ethanolického roztoku hydroxylamin hydrochloridu. Dojde k uvolnění kyseliny chlorovodíkové, která se stanoví alkalimetrickou titrací.

3 Chemikálie

Používají se chemikálie analytické čistoty, pokud není uvedeno jinak.

1 Destilovaná nebo deionizovaná voda.

2 Ethanol, $\approx 96\%$, denaturovaný.

3 Ethanol, $c(\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}) \approx 90\%$ (V/V).

Příprava: Smíchá se 270 ml ethanolu (2) a 18 ml vody (1).

4 Dimethylová žluť, 0,2% roztok v 90% ethanolu.

Příprava: 0,2 g dimethylové žluti se rozpustí ve 100 ml ethanolu (3).

5 Hydroxid draselný, odměrný ethanolický roztok $c(\text{KOH}) = 0,5 \text{ mol/l}$.


Příprava: 31,0 g hydroxidu draselného se rozpustí ve 20 ml vody (1) a v 1000ml odměrné baňce se po vytemperování doplní ethanol (2) po značku. Roztok se připravuje nejméně 5 dnů předem a před použitím se dekantuje do hnědé skleněné láhve, která se uzavře pryžovou zátkou. Stanoví se faktor odměrného roztoku podle kap.5.3.

6 Hydroxylamin hydrochlorid.

Příprava: 17,5 g hydroxylamin hydrochloridu se rozpustí v 225 ml roztoku ethanolu (3) a přidá se 1 ml ethanolického roztoku dimethylové žluti (4). Dále se přidá tolik hydroxidu draselného (5), až se roztok zbarví žlutě (asi 1,25 ml). V 250 ml odměrné baňce se poté doplní roztokem ethanolu (3) po značku.

7 Chlorid vápenatý, roztok, $c(\text{CaCl}_2) = 20\%$.

Příprava: 20 g chloridu vápenatého bezvodého se rozpustí v 80 ml vody (1). K přípravě roztoku lze použít i chlorid vápenatý hexahydrát. V tom případě se naváží 39,45 g hexahydrátu chloridu vápenatého a rozpustí se v 60,55 ml vody.

	Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50270.1 – Stanovení obsahu karvonu	Vydání	1
		Revize	1

8 Methyloranž, indikátor, 0,1% roztok.

Příprava: 0,1 g methyloranže se rozpustí a doplní ve 100ml odměrné baňce po značku vodou (1).

9 Kyselina šťavelová, dihydrát, roztok, $c(\text{C}_2\text{H}_2\text{O}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}) = 0,25 \text{ mol/l}$.

Příprava: 31,518 g kyseliny šťavelové se rozpustí a doplní v 1000ml odměrné baňce po značku vodou (1).

4 Přístroje a pomůcky

- 1 Analytické váhy s přesností 0,0001 g.
- 2 Vodní lázeň s regulací teploty.
- 3 Skleněná byreta, 5 ml, 25 ml.
- 4 Automatická pipeta.

5 Postup

5.1 Příprava zkušebního vzorku

Příprava kmínové silice je popsána v postupu 50260.1 – Stanovení obsahu silic.

5.2 Vlastní titrační stanovení


Do varné baňky o objemu 100 ml se naváží asi 0,5 g silice s přesností 0,0001 g. Přidá se 5 ml roztoku hydroxylamin hydrochloridu (6) a baňka se vloží do vodní lázně o teplotě (75 – 80) °C. Uvolněná kyselina chlorovodíková se neutralizuje titrací odměrným ethanolickým roztokem hydroxidu draselného (5). Roztok hydroxidu draselného se přidává pomalu zamírného promíchávání obsahu baňky, dokud červená barva roztoku nepřejde ve žlutou. Potom se opět zahřívá ve vodní lázni a následně opět neutralizuje po kapkách odměrným roztokem hydroxidu draselného (5). Postupuje se tak dlouho, až po dalším zahřívání roztoku je žluté zbarvení stále nejméně 5 min. Celková doba titrace je asi 30 min.

Poznámky

- 1 *První titrace se bere pouze jako orientační stanovení. Do baňky se pak přidá ještě další 1 ml roztoku hydroxidu draselného (5) tak, aby žluté zbarvení bylo trvalé a roztok se použije pro srovnání při dalších titracích.*

5.3 Stanovení faktoru odměrného roztoku hydroxidu draselného

Do 250ml titrační baňky se pipetuje 20 ml roztoku kyseliny šťavelové (9), tj. množství, které odpovídá spotřebě 20 ml odměrného roztoku hydroxidu draselného (5), přidají se 2 kapky roztoku methyloranže (8) a titruje se roztokem hydroxidu draselného (5) do spotřeby asi o 2 ml nižší než je teoretická spotřeba (tzn. 18 ml). Potom se přidá 10 ml roztoku chloridu

 Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský	Národní referenční laboratoř	Strana	3
	Jednotné pracovní postupy – testování odrůd 50270.1 – Stanovení obsahu karvonu	Vydání	1
		Revize	1

vápenatého (7), předem zneutralizovaného na methylovanž do žluta a dotitruje se do mléčně žlutého zabarvení. První stanovení se považuje za orientační. Při druhé titraci se titruje hydroxidem draselným (5) až do jeho spotřeby nižší asi o 0,2 ml než byla při orientačním stanovení. Pak se přidá 10 ml chloridu vápenatého (7) a dotitruje se stejným způsobem jako v předešlém případě. Faktor odměrného roztoku hydroxidu sodného se vypočítá podle vztahu

$$f = \frac{V_{teoret}}{V}$$

kde V_{teoret} je teoretický objem odměrného roztoku hydroxidu draselného (5) potřebný k titraci roztoku kyseliny šťavelové (9) v ml,

V je skutečný objem odměrného roztoku hydroxidu draselného (5) spotřebovaného při titraci v ml.

Poznámky

2 *Roztok hydroxidu draselného (2) je použitelný 2 měsíce. Faktor se stanovuje před každým použitím.*

6 Výpočet a vyjádření výsledků

Obsah karvonu v kmínové silici X se vyjadřuje v % a vypočítá se podle vztahu

$$X = \frac{V \times f \times k}{m} \times 100$$

kde V je spotřeba odměrného roztoku hydroxidu draselného (5) v ml,

f faktor odměrného roztoku hydroxidu draselného (5),

k 0,0757 – množství karvonu v g, které je ekvivalentní 1 ml 0,5 mol/l hydroxidu draselného,

m hmotnost navážky kmínové silice v g.

7 Literatura

1 Novotný, F.: JPP Metodiky chemických rozborů pro hodnocení kvality odrůd III, ÚKZÚZ, Brno, 2006