

2. Domácí experimenty*

2.1. Důkazy přírodních látek

(popsána je laboratorní varianta, příslušné náhradní chemikálie a pomůcky pro domácí provedení jsou uvedeny kurzívou v závorce)

1. Důkaz škrobu

Zadání: Prozkoumejte obsah škrobu ve vybraných potravinách a materiálech z domácnosti na základě jodoškrobové reakce. Rozdělte potraviny do skupin z hlediska výsledku barevné reakce.

Chemikálie: Lugolův roztok (1 g KI a 0,35 g jodu rozpusťte asi v 30 cm³ vody a doplňte roztok na 100 cm³. *(Domácí alternativa: jodová tinktura z lékárny)*)

potraviny: vzorky pečiva a mouky, tavený sýr, pomazánkové máslo, kečup, brambory, majonéza, kostka cukru, mléko, tableta Paralenu, točený salám, vařená rýže, ovesné vločky, kukuřičné lupínky, Solamyl.

další materiál: krém na ruce, zubní pasta, lepidlo Herkules nebo jiné lepidlo na papír, tekutý pudr, kosmetický pudr z pudřenky, škrobenka na prádlo, kancelářský papír

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku *(malé nádobky: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...)*

Postup:

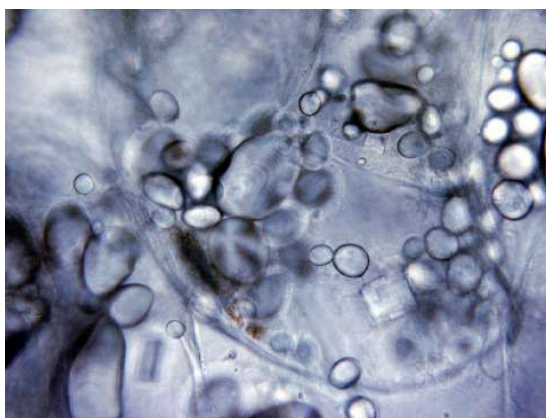
Na vzorek suroviny kápněte roztok jodu a sledujte změnu zbarvení. Jako srovnávací vzorek použijte kostku cukru. Pokud se změna zbarvení neobjeví, zvlhčete vzorek kapkou vody a znovu přikápněte roztok jodu.

Důkazem přítomnosti škrobu je vznik temného modrofialového zbarvení.

Všechny druhy barevných změn zaznamenejte, použité vzorky rozdělte na ty, které škrob obsahují, na ty, které neobsahují (nedochází k barevné změně), a na ostatní (jiná barevná změna).

Řešení:

Škrob je polysacharid tvořený spojením mnoha glukosových jednotek. Skládá se ze dvou složek – šroubovice amylosy a větveného amylopektinu.



Zrnka škrobu pod mikroskopem

* Na námětech a modifikaci těchto experimentů pracovala Mgr. Hana Böhmová v rámci přípravy své disertační práce v r. 2006-2007.

Důkaz škrobu v potravinách a dalších materiálech je založen na reakci jodu s amylosou. Reakce se projevuje vznikem tmavého, modročerného zbarvení. Škrob, jako zásobní látka rostlin, se objevuje především v zásobních orgánech rostlin a výrobcích z nich – v semenech, mouce a pečivu, také v hlízách a kořenech (brambory), v pudru a kuchyňském škrobu. V dalších výrobcích se škrob objevuje jako zahušťovadlo či plnidlo přidávané výrobcí – například v pomazánkovém másle, lékových tabletách, kečupu a majonéze, nekvalitních uzeninách či v kancelářském papíru.

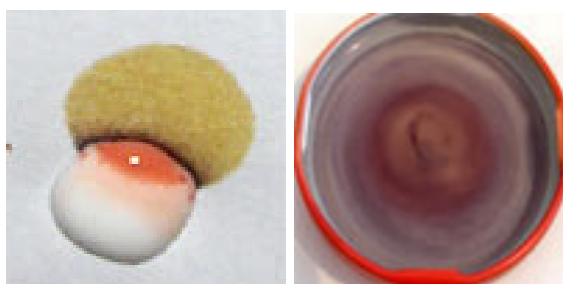


Negativní důkaz škrobu – cukr, mléko, Rama, sůl



Pozitivní důkaz škrobu – bábovka, mouka, pomazánkové máslo, rýže

Tzv. „rozpustný škrob“ ve škrobence na prádlo, některých pudincích nebo v lepidle Herkules dává při reakci s jodem pouze růžové zbarvení. V těchto výrobcích se totiž nevyskytuje škrob, ale produkty jeho hydrolýzy, tedy kratší řetězce glukosových jednotek, zvané dextryny. Jsou lépe rozpustné ve vodě než samotný škrob a používají se jako lepidla.



Důkaz dextrinu – lepidlo Herkules a puding

2. Důkaz redukujících sacharidů

Zadání: Na základě Fehlingovy zkoušky porovnejte obsah redukujících sacharidů ve vybraných potravinách. Vyhledejte názvy sacharidů, které se v daných potravinách vyskytují.

Chemikálie: pentahydrát síranu měďnatého - 5% roztok (5% roztok modré skalice), hydroxid sodný - 10% roztok (10% roztok uhličitanu sodného – prací sody)

potraviny: mléko, „citronka“, datle nebo rozinky, med, banán, cibule, oslazená voda, droždí, vařené fazole či rýže

Pomůcky: 4 zkumavky ve stojánku (průhledné nádoby), nůž a prkénko (případně třecí miska s tloučkem), 3 skleněné tyčinky (špejle), malé kádinky (hrnečky, mističky), rychlovarná konvice nebo kahan, velká kádinka na 500 ml (doma: široký hrnek), univerzální indikátorové papírky

Postup:

Do každé kádinky nakrájejte přibližně stejné množství vybrané potraviny na maličké kousky (měkké rozmačkejte, případně rozdrťte v třecí misce), zalijte 50 cm³ horké vody a nechte louhovat 10 minut (mléko a citronku samozřejmě louhovat netřeba).

Do každé zkumavky odlijte vždy 7 cm³ „výluhu“ z dané suroviny (**označte si, co kde je!**), přidejte vždy 2 cm³ 10% roztoku NaOH, zamíchejte a v případě použití kyselé suroviny (ovoce, citronka) ověřte pH papírkem, zda je vzniklý roztok dostatečně zásaditý (modré zbarvení papírku) – v opačném případě přidejte další množství hydroxidu.

V rychlovarné konvici uvařte 300 cm³ vody, vroucí vodu nalijte do velké kádinky a do této lázně vložte zkumavky s reakční směsí tak, aby vroucí voda nenatekla dovnitř. Do každé zkumavky přidejte 1 cm³ 5% roztoku CuSO₄ a zamíchejte (vzniká modrá sraženina). Po 5 – 10 minutách v horké lázni pozorujte barevné změny v jednotlivých zkumavkách, zaznamenejte je do tabulky.

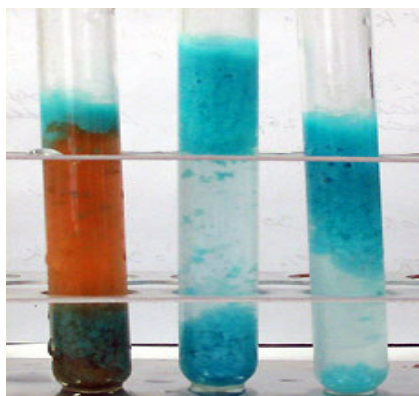
(V laboratoři lze vroucí lázeň nahradit zahříváním zkumavky v plameni kahanu.)

(V domácím provedení je možné do výluhu z potravin přidávat práškový uhličitan sodný a krystalek modré skalice – a zamíchat – namísto přidávání roztoků).

Důkazem přítomnosti redukujících sacharidů je vznik červenooranžové (méně často i žluté či nahnědlé) sraženiny oxidu měďného. Vyberte z použitých potravin ty, které obsahují redukující sacharidy. V literatuře vyhledejte názvy redukujících sacharidů v těchto surovinách.

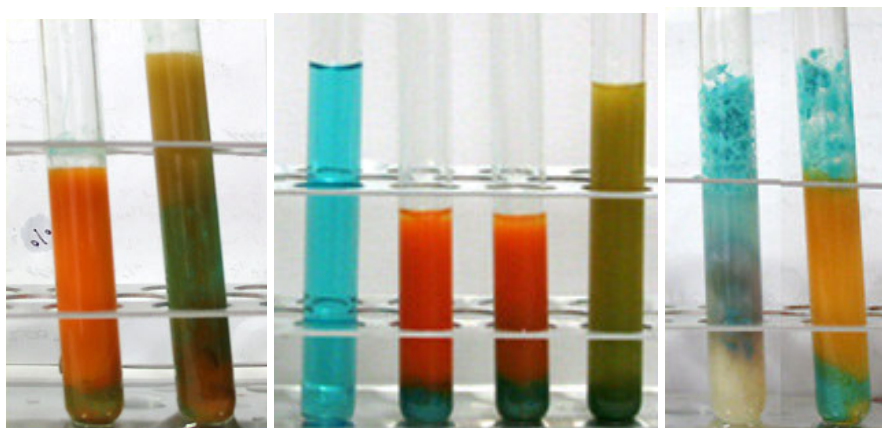
Řešení:

Všechny monosacharidy a disacharidy, které mají volný poloacetalový hydroxyl, mají redukční vlastnosti a jsou schopny redukovat měď z oxidačního čísla II (v síranu měďnatém) na oxidační číslo I (v oxidu měďném).



Důkaz redukujících sacharidů:
pozitivní – glukosa, negativní – sacharosa, škrob

V ovoci a medu se vyskytují především monosacharidy glukosa a fruktosa. V mléce je obsažen redukující disacharid laktosa. Sacharosa (tj. běžný kuchyňský cukr) nemá redukční vlastnosti. Droždí, rýže, fazole ani „citronka“ neobsahují dostatečné množství redukujících sacharidů, takže ke vzniku červené sraženiny nedochází. U droždí, mléka a fazolí ovšem pozorujeme vznik fialového zbarvení – důkaz přítomnosti bílkovin.



Med, rozinky, „citronka“, jablko, cibule, datle, mléko, banán

3. Důkaz bílkovin

Zadání: Biuretovou reakcí dokažte rozpustné bílkoviny ve vzorcích potravin.

Chemikálie: pentahydrát síranu měďnatého - 5% roztok (5% roztok modré skalice), hydroxid sodný - 10% roztok (10% roztok uhličitanu sodného – prací sody), ethanol (Alpa)

potraviny: mléko, tavený sýr, tvaroh, pšeničná mouka, vaječný bílek, fazole nebo hrách, sojové mléko, bílá čokoláda

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (malé nádobky: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...), skleněná tyčinka (špejle), nůž, kádinka (hrneček,

kelímek od jogurtu), případně třecí miska s tloučkem (*palička na maso*) a filtrační papír (*kávový filtr*)

Postup:

Pokud není vzorek potravin tekutý, nakrájejte (roztlučte) ho nadrobno a vylouhujte v malém množství horké vody. 7 cm³ vzorku nebo výluhu slijte do zkumavky, přidejte 2 cm³ 10% roztoku NaOH, zamíchejte a v případě použití kyselé suroviny ověřte pH papírkem, zda je vzniklý roztok dostatečně zásaditý (modré zbarvení papírku) – v opačném případě přidejte další množství hydroxidu. Přilijte 1 cm³ 5% roztoku CuSO₄ a zamíchejte (*vzniká modrá sraženina*). Po 5 minutách pozorujte barevné změny. Pozitivním důkazem přítomnosti bílkoviny je fialové či růžové zbarvení roztoku (přetrvávající přítomnost modré sraženiny hydroxidu měďnatého nevadí). Barevné změny zapište do tabulky a rozhodněte o přítomnosti bílkovin.

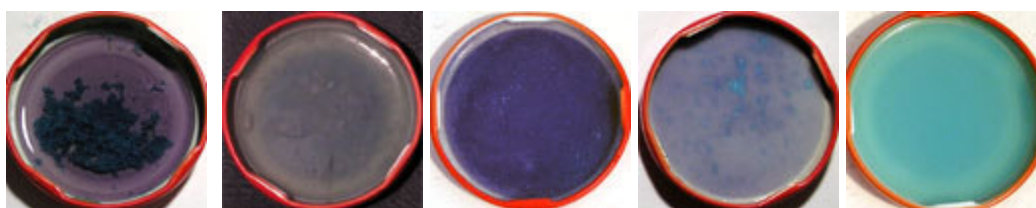
Speciální postup pro důkaz lepku v mouce:

Lžičku mouky zalijte v kádince větším množstvím ethanolu (vznikne řídká kaše). Několik minut protřepávejte nebo míchejte, poté nechte usadit (nebo přefiltrujte) a v tekutině dokazujte bílkovinu postupem popsáním výše.

(V domácím provedení je možné do výluhu z potravin přidávat práškový uhličitán sodný a krystalek modré skalice – a zamíchat – namísto přidávání roztoků).

Řešení:

Principem biuretové reakce – důkazu přítomnosti rozpustných bílkovin – je tvorba růžově až fialově zbarvených komplexů měďnatých iontů s rozpustnými bílkovinami v zásaditém prostředí. Ligandem, účastnícím se koordinační vazby, jsou dusíkové atomy vždy dvou sousedících peptidových vazeb v molekule bílkoviny.



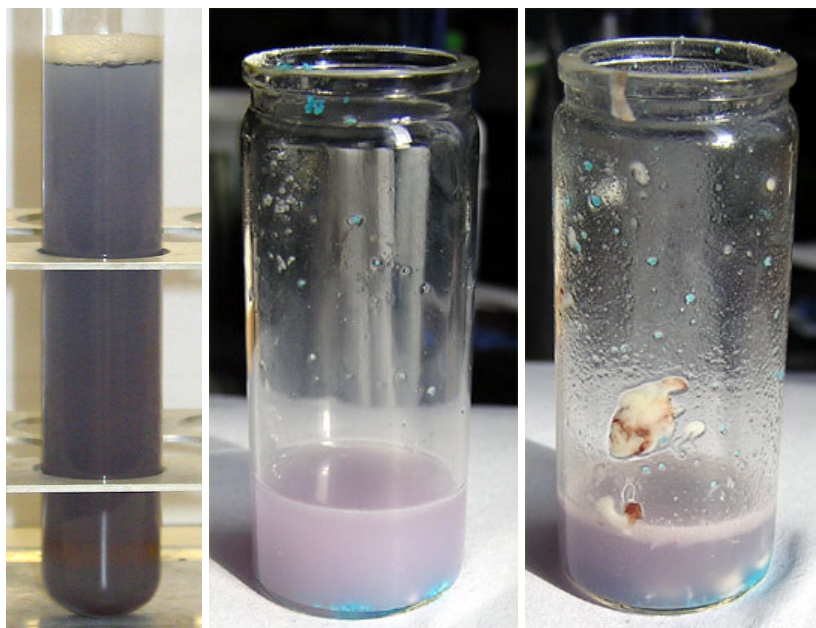
Pozitivní biuretová reakce – bílek, fazole, kasein (mléčná bílkovina), mléko poslední v řadě – negativní biuretová reakce (mléko zbavené kaseinu)



Sojové maso

Sýr tofu

Kuřecí játra – výluh



Sušené droždí

Extrakt z mouky

Bílá nutella

2.2. Pokusy s rostlinnými barvivy

(popsána je laboratorní varianta, příslušné náhradní chemikálie a pomůcky pro domácí provedení jsou uvedeny kurzívou v závorce)

4. Červená rostlinná barviva jako indikátory pH

Zadání: Rozdělte červená barviva v následujících surovinách do dvou skupin podle jejich reakce na změnu pH. Vyhledejte vzorce jednotlivých použitých barviv a posuďte, zda strukturní podobnost odpovídá vašemu rozdělení. Vyhledejte název skupiny barviv, která reagují na změnu pH, a název skupiny barviv, která na změnu kyselosti nereagují.

Chemikálie: kyselina sírová - 5% roztok (*ocet*), hydroxid sodný - 5% roztok (*5% roztok uhličitanu sodného – prací sody*)

některé z následujících surovin (názvy barviv uvedeny v závorce):

ovocný čaj (kyanidin), kečup či rajčatová šťáva (lykopen), šťáva z červené papriky nebo extrakt ze sušené papriky (kapsanthin), borůvky (delfinidin), černý rybíz (delfinidin), červené hrozny (peonidin), ostružiny (delfinidin), bezinky (delfinidin) (vždy šťáva či výluh z ovoce), šťáva z červeného melounu (lykopen), výluh z čerstvých šípků (beta karoten), výluh z červené cibule (kyanidin), výluh ze slupek dříví (pelargonidin), ibiškový čaj (pelargonidin)

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (*tři malé nádoby: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...*), skleněná tyčinka (*špejle*), nůž na pokrájení suroviny, kádinka (*hrneček*)

Postup:

Z každé suroviny, kterou použijete, vylouhujte červené barvivo – kečup stačí zředit, ovocné čaje vylouhovat, ovoce a zeleninu pokrájejte na malé kousky a zalijte malým množstvím horké vody, případně můžete rozmělnit surovinu s malým množstvím vody v třecí misce.

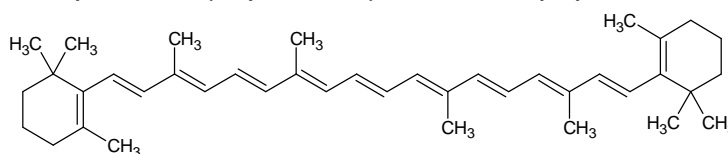
Do tří zkumavek nalijte postupně: 3 cm³ roztoku NaOH do první, 3 cm³ vody do druhé a 3 cm³ roztoku H₂SO₄ do třetí. Pak do každé zkumavky přidejte 2–3 cm³ vylouhovaného červeného barviva z příslušné suroviny, zamíchejte a sledujte změnu barvy v závislosti na pH. Barevné změny zapište do tabulky. Zkumavky vylijte a vypláchněte. Totéž proveďte i s dalšími červenými barvivy, která máte k dispozici.

Řešení:

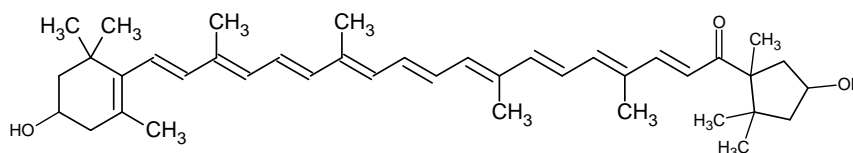
Použité suroviny obsahují dva druhy červených barviv – karotenoidy a anthokyany.

Karotenoidy:

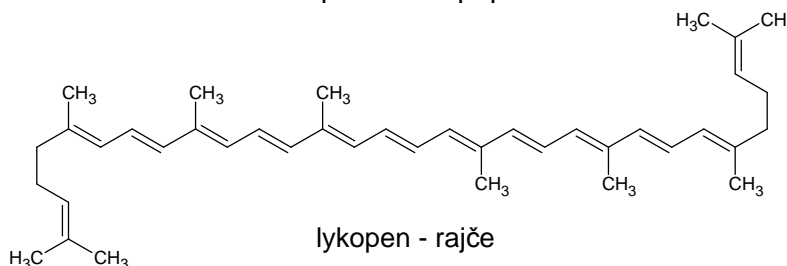
- lykopen (*lycopene*) – šípky, rajská jablka, růžový grep
- beta karoten (*beta carotene*) – šípky, mrkve, jeřabiny
- kapsanthin (*capsanthin*) – červená paprika



beta karoten - šípky



kapsanthin - paprika



lykopen - rajče

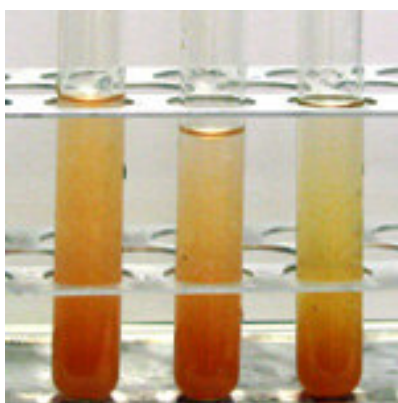
U barviv z červenooranžového ovoce a zeleniny – karotenoidů – nepozorujeme s rostoucím pH zřetelný barevný přechod, v zásadité oblasti se u některých surovin objevuje jemné zežloutnutí způsobené přítomností flavonů.



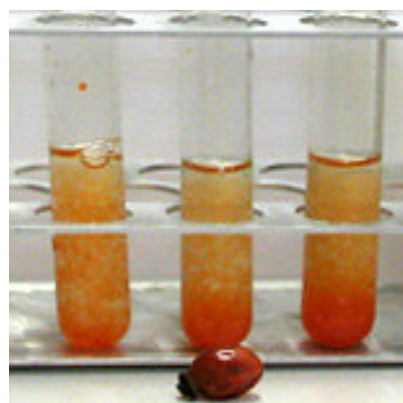
Rajčatová šťáva
(ocet – voda – roztok prací sody)



Mletá paprika
(5% H_2SO_4 , voda, 5% NaOH)



Kečup
(ocet – voda – roztok prací sody)

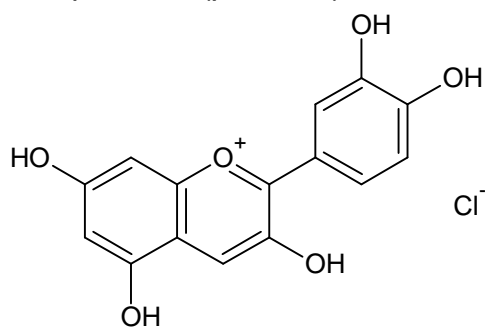


Čerstvé šípky
(5% H_2SO_4 , voda, 5% NaOH)

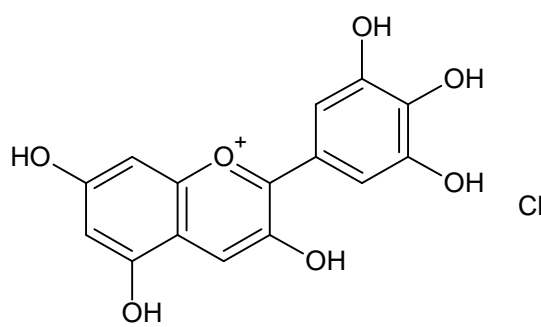
Anthokyany:

Jsou tvořeny cukernou složkou (glukosa...) a necukernou složkou (tzv. anthokyanidin), což může být například:

- kyanidin (*cyanidin*) – růže, třešně a další červené ovoce
- delphinidin (*delphinidin*) – černý rybíz, borůvky, ibišek
- pelargonidin (*pelargonidin*) – muškáty, dřívíšťalky
- peonidin (*peonidin*) – červené víno



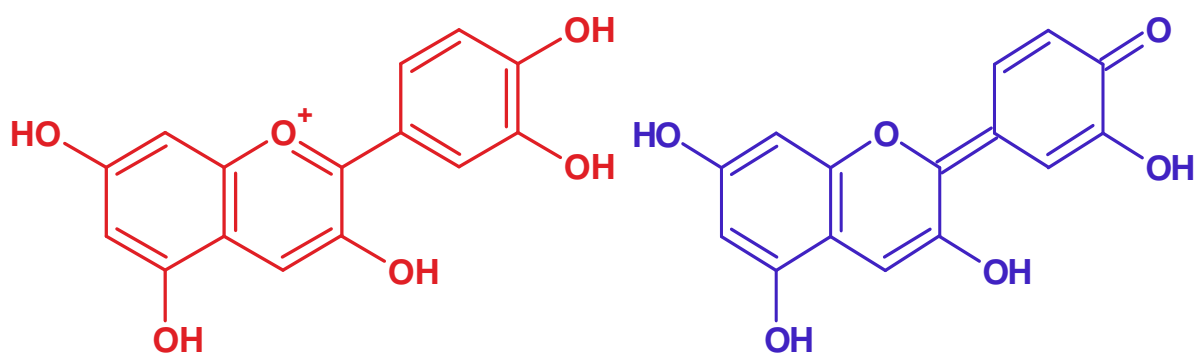
kyanidin



delfinidin

V zásaditém prostředí mění barvu do modré/zelené, lze je tedy použít jako acidobazické indikátory. Tento jev je způsoben tím, že protonizovaná (s H^+ , v kyselém prostředí) a deprotonizovaná (bez H^+ , v zásaditém prostředí) forma příslušného anthokyanidinu se odlišují barevně. Systém konjugovaných dvojných vazeb, do něhož se zapojují i volné elektronové páry OH skupin, umožňuje, že odstranění jednoho vodíkového kationtu z molekuly barviva vyvolá posuny v rozložení elektronů a změny jejich energetických hladin. Tím se změní i vlnová délka světla pohlcovaného barvivem – tedy jeho barva.

Naopak u jednoduchých sloučenin – například u kyseliny octové – k takové změně nedochází, její forma protonizovaná (kyselina octová) i deprotonizovaná (octanový anion) mají stejnou barvu.



Protonizovaná (červená) a deprotonizovaná (modrá) forma barviva kyanidinu



Červené víno
(ocet – voda – roztok prací sody)



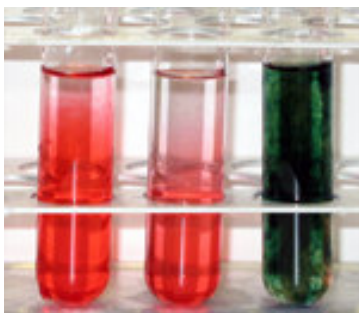
Bezinky (ocet – voda – roztok prací sody)
fialové zbarvení v poslední nádobce
je způsobeno znečištěním ostružinou



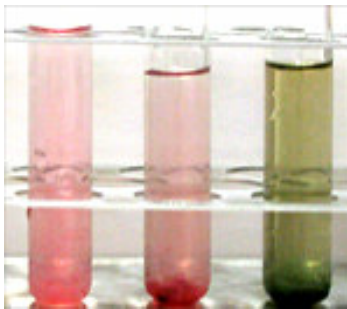
Borůvky
(ocet – voda – roztok prací sody)



Slupky ze šalotky (červené cibule)
(ocet – voda – roztok prací sody)



Ovocný čaj
(ocet – voda – roztok
prací sody)



Rybízová marmeláda
(ocet – voda – roztok
prací sody)



Ptačí zob
(ocet – voda – roztok
prací sody)

5. Indikátor z červeného zelí

Zadání: Porovnejte barvenou škálu zelného indikátoru s barevnou škálou univerzálních indikátorových papírků. Využijte extrakt z červeného zelí jako indikátor při zjišťování pH různých roztoků.

Chemikálie: kyselina sírová - 5% roztok (ocet), hydroxid sodný - 5% roztok (5% roztok uhličitanu sodného – prací sody), vývar z nakrájeného syrového červeného zelí

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (tři malé nádobky: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...), skleněná tyčinka (špejle), univerzální indikátorové papírky, filtrační (novinový) papír, nůžky, velká Petriho miska (mělká miska či talíř)

Postup:

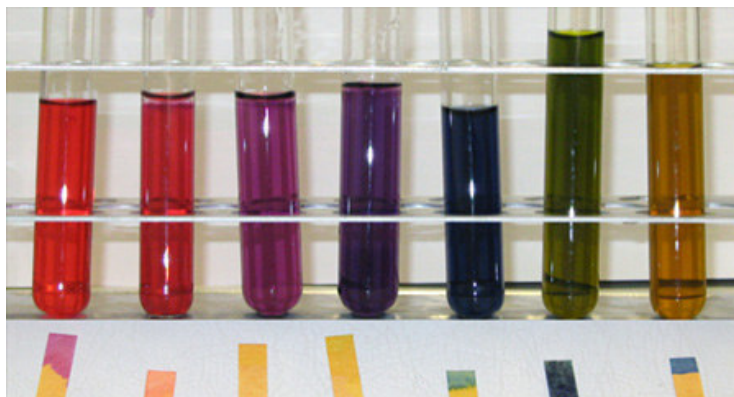
Do velké zkumavky nalijte 10 cm³ 5% kyseliny sírové, přidejte 2 cm³ vývaru z červeného zelí (aby zbarvení bylo intenzivní), poznamenejte si do tabulky barvu zelného indikátoru a pH změřené indikátorovým papírkem. Kapátkem přidávejte po kapkách 5% roztok hydroxidu sodného, míchejte a každou změnu barvy si zapište společně s pH změřeným indikátorovým papírkem. Roztok hydroxidu sodného přidávejte, dokud není pH silně zásadité. Vzniklou barevnou škálu zelného indikátoru porovnejte s barevnou škálou univerzálních indikátorových papírků.

Vývar z červeného zelí použijte ke zjištění kyselosti roztoků vyskytujících se v domácnosti (ocet, minerální vody, mycí a úklidové prostředky, potraviny, kosmetika...); pH odhadněte podle vámi vytvořené barevné škály.

Vývar z červeného zelí nalijte do větší Petriho misky, nechte v něm louhovat 6 úzkých proužků filtračního papíru. Obarvené proužky usušte rozložené na čistém papíře a použijte jako „zelné indikátorové papírky“ ke zjištění kyselosti různých roztoků vyskytujících se v domácnosti (viz předchozí odstavec). Porovnejte použití zelných „papírků“ a „vývaru“ z hlediska zjišťování kyselosti roztoků.

Řešení:

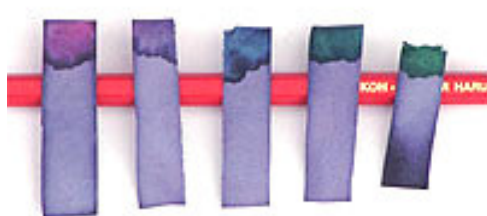
Barevná škála „zelného indikátoru“ v závislosti na pH je následující:



Barevná škála „zelného indikátoru“ v závislosti na pH

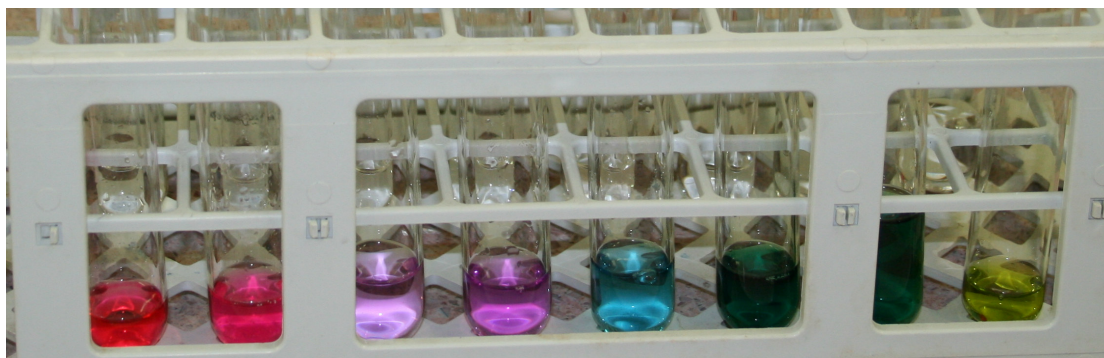
Škála se některými barvami podobá škále univerzálního indikátorového papírku, ale posloupnost barev je jiná. Tento experiment názorně ukazuje, že dva indikátory mohou vytvářet stejné zbarvení (například tmavě modré) v prostředích o naprosto odlišné kyselosti (silně zásadité u univerzálního indikátoru, slabě zásadité u zelného indikátoru). Je tedy vždy nutné znát škálu použitého indikátoru.

Papírky používáme při měření pH z praktických důvodů – měření je rychlé a roztok se měřením téměř neznečistí (což může být významné v další analýze). Jde ovšem pouze o měření orientační.



Barevné odstíny „zelných indikátorových papírků“

Odstíny nejsou tak jasné a intenzivní, jako kdybychom použili přímo výluh. Přesto jsou dostatečně zřetelné k orientačnímu určení pH.



Barevná škála zelného indikátoru

6. Indikátorová barviva v květech rostlin

Zadání: Vyzkoušejte využití květních barviv jako acidobazických indikátorů. Pozorujte barevné změny květů v závislosti na pH a porovnejte je s barevnými změnami doprovázejícími zrání a vývoj květů/plodů v přírodě.

Chemikálie: kyselina sírová - 5% roztok (*ocet*), hydroxid sodný - 5% roztok (*5% roztok uhličitanu sodného – prací sody*), ethanol (*Alpa*)

květy vhodných rostlin na přípravu indikátoru: růže (růžová nebo červená barva), růžový hrachor, ostrožka východní, plamének (fialová barva) – vždy asi hrst květů

květy vhodných rostlin na sledování barevných změn: jakékoli růžové, modré či fialové květy (jabloň, šípková růže, zahradní růže, šeřík, violka, hluchavka, rozrazil „bouřka“, pomněnka, plicník, hadinec...) – vždy 3 květy

Převzaté obrázky:



1. růže svrasklá



2. hrachor



3. ostrožka východní



4. plamének

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku a 3 malé Petriho misky (*tři malé nádobky: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...*), skleněná tyčinka (*špejle*), nůž, kádinka (*hrneček, kelímeček od jogurtu*), třecí miska s tloučkem

Postup:

Vyberte si vhodnou rostlinu na přípravu indikátoru, hrst květů pokrájejte nožem (rozstříhejte) na malé kousky a v třecí misce rozmělněte s dvěma lžicemi vody (v kelímku od jogurtu rozmačkejte špejlí nebo vařečkou). Nechte louhovat alespoň 30 minut, dokud se voda neobarví. Pozor: experiment může probíhat dobře, i když je samotný výluh zbarven pouze nepatrně, například u hrachoru či růže.

Do tří zkumavek nalijte postupně: 3 cm³ roztoku NaOH do první, 3 cm³ vody do druhé, 3 cm³ roztoku H₂SO₄ do třetí. Pak do každé zkumavky přidejte 2–3 cm³ vylouhovaného barviva z květů, zamíchejte a sledujte změnu barvy v závislosti na pH. Barevné změny zapište do tabulky. Pokud nejsou barevné změny patrné, nedošlo k vylouhování barviva. Nakrájejte znovu hrst suroviny a rozetřete ji v třecí misce s ethanolom namísto vody. Ethanolový extrakt přidejte do roztoku hydroxidu, do vody a do zředěné kyseliny a pozorujte barevné změny.

Vyberte si vhodnou rostlinu ke sledování barevných změn. Do tří Petriho misek nalijte postupně 2% roztok NaOH, vodu a 5% roztok H₂SO₄. Do každé misky vložte jeden květ vybrané rostliny, tyčinkou ho ponořte do roztoku. Po 5 až 10 minutách sledujte barevné změny. V přírodě pozorujte barevné změny plicníku, hadince nebo pomněnky, případně barevné změny plodů borůvky, v závislosti na stáří květu/plodu.

Řešení:

Barevné změny květů i vylouhovaných barviv odpovídají barevným změnám anthokyanů z prvního experimentu: červená v kyselém prostředí, modrá až zelená v zásaditém. Současně dochází k poškození rostlinné tkáně (projevuje se hnědnutím).



Hrachor lesní
(ocet – voda – roztok prací sody)

Ostrožka východní
(ocet – voda – roztok prací sody)



Růže svrasklá
(ocet – voda – roztok prací sody)



Hrachor
(roztok prací sody – přirozená barva)



Růže šípková
(ocet – přirozená barva – roztok prací sody)



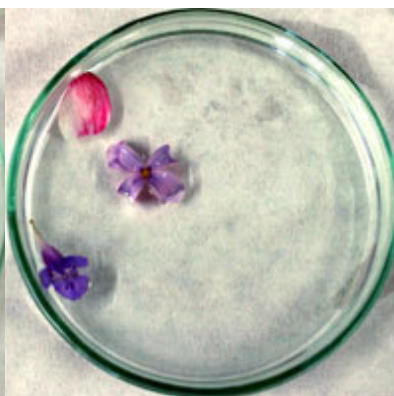
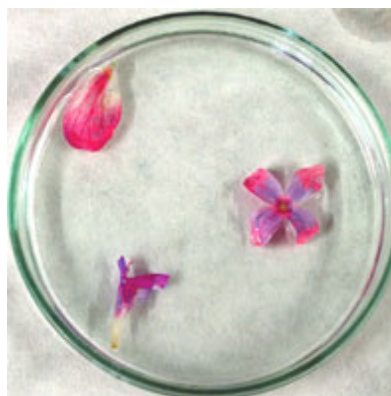
Suchá růže
(5% H_2SO_4 , voda,
5% NaOH)



Orchidej
(5% H_2SO_4 , voda,
5% NaOH)



Kůra svídy krvavé
(5% H_2SO_4 , voda,
5% NaOH)



Barevné změny šeříku, popence a jabloňového květu v kyselém, neutrálním a zásaditém prostředí

Obdobné barevné změny můžeme u rostlin z čeledi brutnákovitých (pomněnka, hadinec, plicník) pozorovat v souvislosti s vývojem květu. Čím je květ starší, tím zásaditější pH v buňkách a modřejší barva. Růžové květy plicníku či hadince signalizují hmyzu, že dosud nejsou dospělé. I dozrávání plodů bývá doprovázeno změnou barvy.

Převzaté obrázky:



5. Pomněnka



6. Hadinec



7. Plicník

Seznam převzatých obrázků:

1. <http://tccswcd.vaswcd.org/images/rose-flower2.jpg>
2. http://home.wanadoo.nl/meclorp/aardaker_1.jpg
3. <http://flora.nikde.cz/view.php?cislocianku=2005022501>
4. <http://www.pipers-place.com/SS/FG/pic00085.jpg>
5. <http://www.ruhr-uni-bochum.de/boga/html/Plumonaria.officinalis.ho1.jpg>
6. www.floradecanarias.com/myosotis_latifolia.html
7. www.lucianabartolini.net/pagina_fiori-1.htm

7. Barviva lišejníků jako indikátory kyselosti

Zadání: Pozorujte barevné změny barviv v lišejníkových stélkách při reakci s hydroxidem sodným. Vyhledejte název lišejníku, z něhož se získává acidobazický indikátor lakmus. (Reakci je možno provádět i přímo v terénu.)

Chemikálie: hydroxid sodný - 5% roztok (5% roztok uhličitanu sodného – *prací sody*), vzorky žlutě zbarvených lišejníků ze zdí či stromů (*Xanthoria* – terčovník, *Caloplaca* – krásnice), vzorky šedě zbarvených lišejníků ze zdí či stromů (terčovka bublinatá, misnička zední, terčovník zední...)

Pomůcky: skleněná tyčinka (*špejle*), Petriho miska (*talířek*)

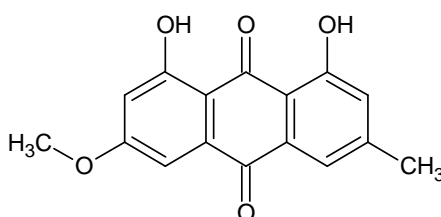
Postup:

Na stélku žlutě zbarveného lišejníku položenou na Petriho misce kápněte tyčinkou 5% roztok hydroxidu sodného. Sledujte barevnou změnu – je-li zbarvení příliš intenzivní, zředte je kapkou vody a určete vzniklou barvu. Vyzkoušejte barevné změny i v případech jinak (např. šedě) zbarvených lišejníků.

Řešení:

Některé charakteristické látky obsažené v lišejnících mění barvu v zásaditém prostředí. Botanici těchto barevných reakcí využívají k rozlišování různých druhů lišejníků pomocí reakce s hydroxidem draselným (tzv. „K-test“ podle používané chemikálie – KOH, hydroxidu draselného). Parietin v terčovníku zedním, jednom z nejběžnějších žlutě zbarvených lišejníků, se v zásaditém prostředí mění do intenzivní purpurové barvy.

Obdobná barevná reakce nastává například i u žluté krásnice.



Parietin



Terčovník zední po potření hydroxidem

Některé šedě zbarvené lišejníky (například terčovka bublinatá) poskytují žluté zbarvení v zásaditém prostředí. Barevných změn lišejníků se využívá prakticky i mimo botaniku – běžný acidobazický indikátor lakmus se získával z lišejníku *Rocella tinctoria*.

8. Reakce přírodních fenolů

Zadání: Pozorujte reakce přírodních fenolických látek s hydroxidovými a železitými ionty a rozdělte použité vzorky do tří skupin podle typu barevných změn.

Chemikálie: chlorid železitý - 5% roztok (*5% roztok zelené skalice – síranu železnatého – zoxidovaný na vzduchu do oranžové barvy*), hydroxid sodný - 5% roztok (*5% roztok prací sody – uhličitanu sodného*)

rostlinný materiál (připravené výluhy): citronová kůra, bobule ptačího zobu, ovocný čaj, černý čaj, žaludy, duběnky, cibule, cibulové slupky, kůra svídy krvavé, vlašské ořechy, mandarinková kůra

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (*víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...*), 2 kapátka

Postup:

Z každého výluhu odlijte vždy 5 cm³ do zkumavky, poznamenejte si barvy. Poté ke každému výluhu přidejte 1 - 3 kapky roztoku chloridu železitého, promíchejte a poznamenejte si změnu barev. Zkumavky vylijte a vypláchněte.

Opět nalijte vždy po 5 cm³ vzorků výluhů do zkumavek. Do každé zkumavky přidejte 5 kapek roztoku hydroxidu sodného, promíchejte a poznamenejte si změnu barvy.

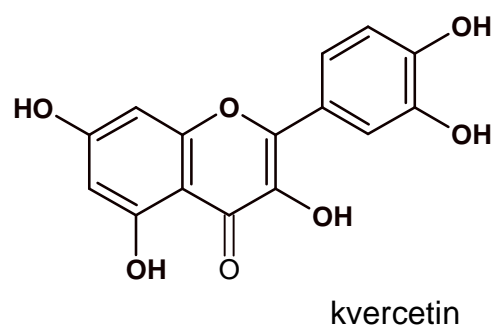
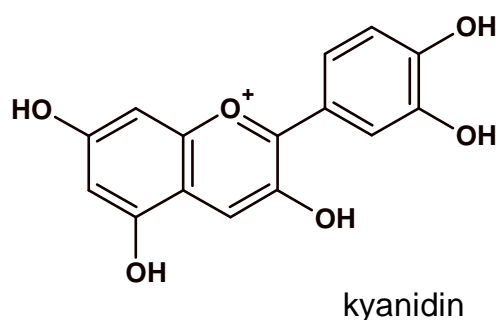
Svá pozorování sepište do tabulky.

Rozdělte barviva v použitých surovinách do tří skupin na základě podobnosti barevných změn. Podle informací z internetu či literatury přiřaďte jednotlivým skupinám barviv názvy – třísloviny (taniny), anthokyaniny (anthokyaniny), flavony.

Řešení:

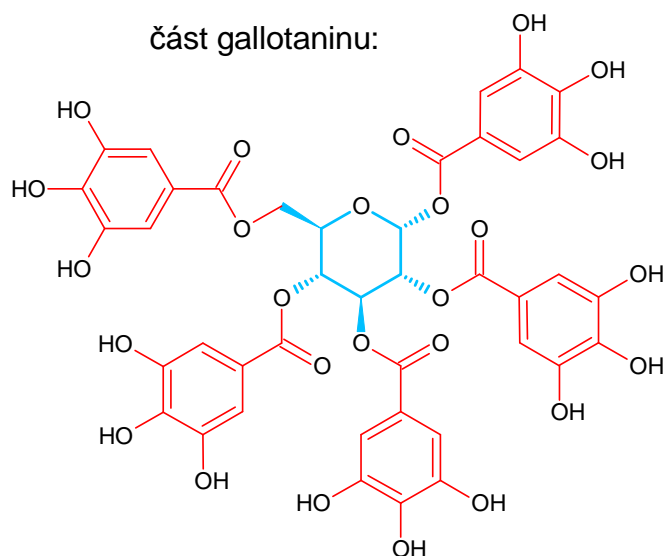
V organické chemii se setkáváme s barevnými produkty reakce fenolů a jejich derivátů s železitými ionty. Zbarvení vznikajících komplexů se liší podle druhu fenolu od červenofialové až po tmavě zelenou. Dále je známa schopnost některých fenolických sloučenin reagovat barevně na zvýšení koncentrace OH^- iontů – acidobazický indikátor fenolftalein je v zásaditém prostředí červenofialový.

Fenolické látky se hojně vyskytují v přírodě – například jako flavonoidy a třísloviny. Mezi flavonoidy patří červenofialové anthokyanidiny („indikátorová“ barviva v červeném zelí, borůvkách a dalším ovoci, například kyanidin), žluté flavony (v citrusech hesperidin, čaji, cibulových slupkách kvercetin) a další příbuzné látky.

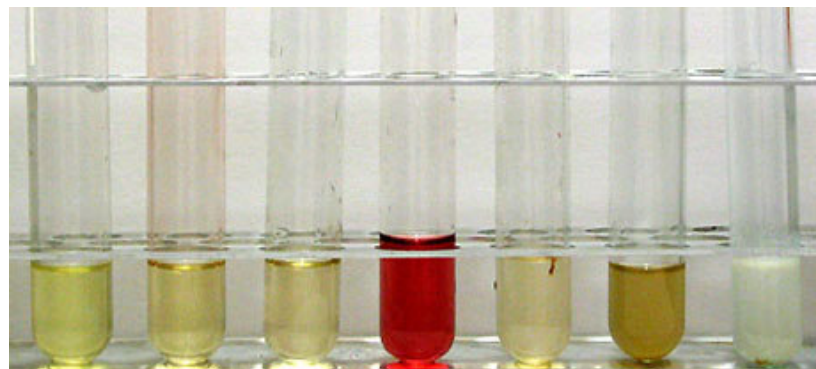


Z tříslovin (taninů) jsou v použitých surovinách zastoupeny především gallotaniny, estery kyseliny gallové (na obrázku červeně) a monosacharidu - obvykle glukosy (na obrázku modře).

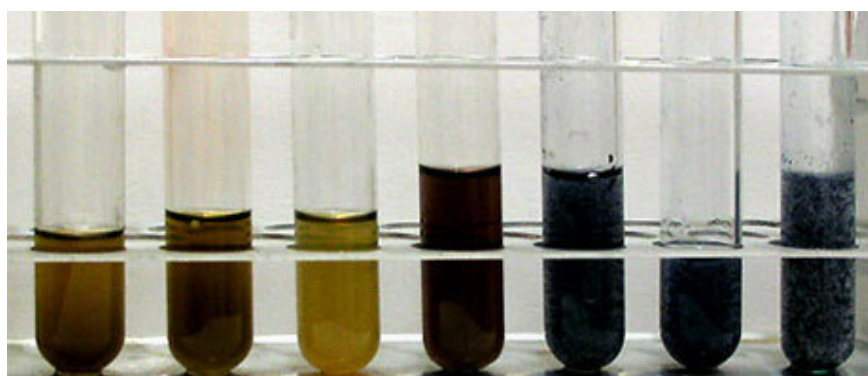
Vyskytují se hojně v duběnkách, žaludech, ořeších, čaji.



I přírodní fenolické látky tvoří komplexy s železitými ionty, obvykle tmavšího zbarvení – u flavonoidů hnědé, u taninů modročerné, čehož se v minulosti využívalo k výrobě duběnkového inkoustu.

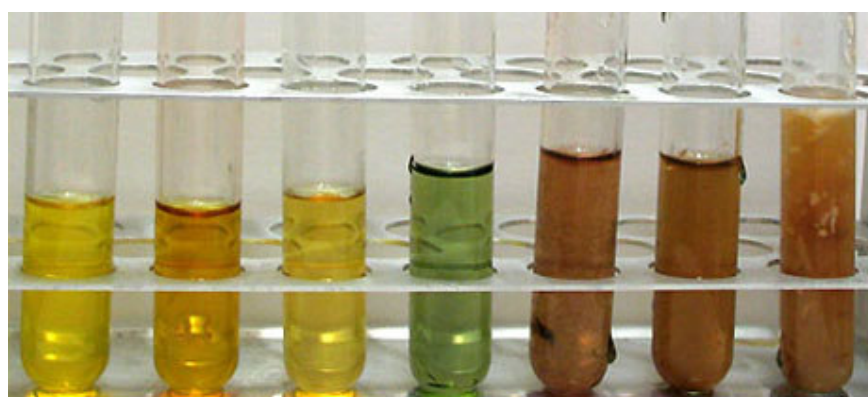


**Některé přírodní fenolické látky:
mandarinková a citronová kůra, heřmánkový a ibiškový čaj, žaludy (2 druhy), vlašské ořechy**



Reakce s železitými ionty

Stejně tak pozorujeme barevné změny v zásaditém prostředí – u flavonů do intenzivně žluté, u anthokyanidinů známý přechod do modré/zelené, u taninů do hnědočervené.



V zásaditém prostředí

9. Účinky mořidel na rostlinná barviva

Zadání: Porovnejte účinky tří tradičně používaných mořidel – měďnaté sloučeniny, železité sloučeniny a kamence hlinito-draselného – na dvě vybraná rostlinná barviva.

Chemikálie: pentahydrát síranu měďnatého - 5% roztok, chlorid železitý - 5% roztok, dodekahydrát síranu hlinito-draselného - 5% roztok (*doma: malé obdélníčky filtračního papíru předem nasycené roztoky mořidel a usušené, dodá vyučující*)

rostlinný materiál (výběr pro zimní období): bobule přísavníku či ptačího zobu (modrá) (*varianta: do lázně z těchto bobulí kápnout ocet pro zčervenání*), slupky cibule (žlutohnědá), heřmánkový čaj (žlutá světlá), černý čaj (hnědá), nať vlašovičnicku (žlutá tmavá, **JEDOVATÝ!**), nať kopřivy (zelenkavá)

Pomůcky: 8 obdélníčků filtračního či kancelářského papíru (3x5 cm), nůž a prkénko, dvě větší kádinky (*hrnky, sklenice*), větší kádinka s vodou (*hrnek, sklenice*), rychlovarná konvice nebo kahan, pinzeta, čtyři vyšší Petriho misky (*kelímky od jogurtu, sklenice*), čistý arch papíru, dvě tyčinky (*lžíce, vidličky*), (v případě potřeby kahan – *doma vařič*)

Postup:

Příprava mořených papírků: Do roztoků jednotlivých chemikálií vložte na 10 minut vždy po 2 obdélníčcích filtračního papíru (dva nechte čisté), nechte nasáknout, poté opatrně vyjměte a usušte volně či na radiátoru.

Barvení: hrst vybrané rostlinné suroviny nadrobno pokrájejte a zalijte 100 cm³ vroucí vody. Surovinu v horké vodě rozmělněte, promíchejte a nechte alespoň 15 minut louhovat. Pokud je barva lázně nevýrazná, celou směs krátce povařte. (*Lázně je možné připravit předem a před barvením je pouze ohřát.*)

Do čtyř Petriho misek nalijte asi do 0,5 - 1 cm na výšku barvicí lázně, do každé vložte papírek s jiným mořidlem (poznamenejte si pořadí) a nechte půl hodiny až hodinu v lázni. Poté papírky opatrně vyjměte, propláchněte v kádince s čistou vodou, rozložte na arch čistého papíru a pozorujte změnu intenzity a odstínu obarvení v závislosti na použitém mořidle. Papírky nechte volně uschnout.

Řešení:

Pokud obarvujeme látku barvivem ve vodě rozpustným, můžeme očekávat, že výsledek nebude příliš stálý, odolný vůči praní a dalším vlivům. Mořidla se v historii barvířství používala především proto, že schopností tvořit komplexy s rostlinnými barvivy přispívala ke vzniku silnějších interakcí mezi barvivem a obarvovanou tkaninou (vlákny celulózy). Takto bylo možné dosáhnout větší sytosti i stálosti obarvení.

Tradičně připomínaná mořidla mají také vliv na získaný odstín (neplatí všeobecně, záleží samozřejmě na druhu barviva):

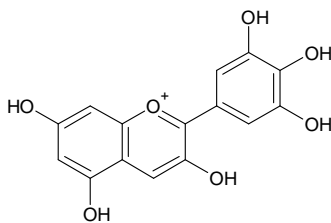
- měďnaté ionty dodávají nazelenalý či namodralý odstín
- železité ionty odstíny ztemňují (tvorba černých komplexů s tříslovinami)
- kamenec nebo cínaté soli prohlubují žlutý odstín

Protože hlavní složkou papíru, stejně jako tkanin rostlinného původu, je celulóza, je možné jím z praktických důvodů při experimentech tkaniny nahradit. Nehodí se naopak umělá vlákna, která se svým složením od celulosy podstatně odlišují a jsou často zcela neobarvitelná (nemohou vytvářet interakce s barvivem).

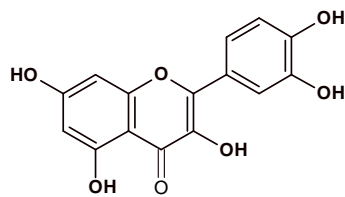
Použitá rostlinná barviva můžeme rozdělit do několika skupin:

Flavonoidy

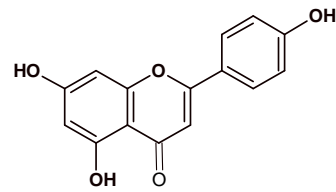
- modré či červené anthokyany (obsahující zejména delphinidin)
- hnědooranžový kvercetin (cibulové slupky)
- žlutý apigenin (heřmánek)



delphinidin



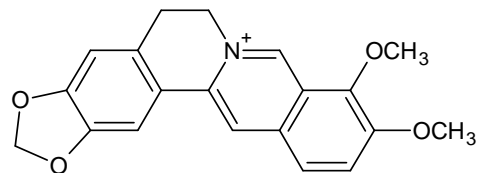
kvercetin



apigenin

Alkaloidy

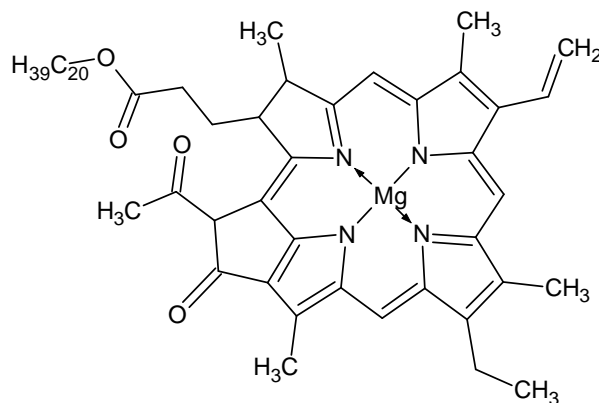
- žlutý berberin (dřišťál, vlašovičnick)



berberin

Pyrolová barviva

- zelený chlorofyl



chlorofyl a

Na následujících fotografiích jsou zachyceny usušené obarvené papírky, pořadí mořidel je zleva vždy: kamenec, železitá sůl, měďnatá sůl, bez mořidla:



**Vlaštovičník
(žlutý berberin)**



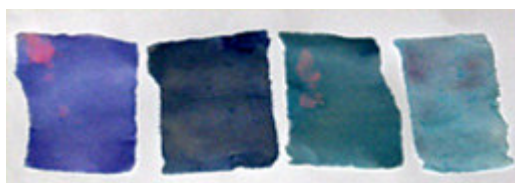
**Černý čaj
(hnědooranžový kvercetin)**



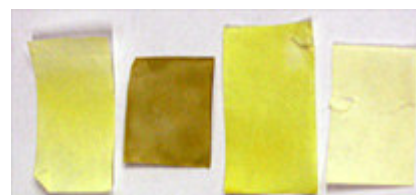
**Cibule
(hnědooranžový kvercetin)**



**Kopřivy
(zelený chlorofyl)**



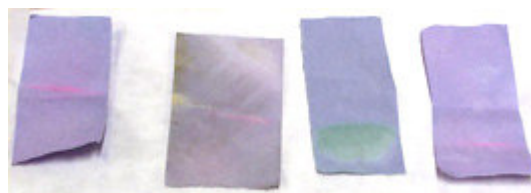
**Ptačí zob
(modrý delphinidin)**



**Heřmánek
(žlutý apigenin)**



**Přísavník
(modrý delphinidin)**



**Přísavník v kyselém prostředí
(růžový delphinidin)**

Jednoduché experimenty pro laboratoř

10. Příprava anthokyanidinů štěpením jejich oligomerů

Zadání: Proveďte štěpení proanthokyanidinů z kakaa nebo hroznových semínek. Barevnými změnami výchozích látek a produktů v závislosti na pH ověřte, že k rozštěpení skutečně došlo.

Chemikálie: kyselina sírová - 10% roztok, hydroxid sodný - 10% roztok, ethanol, kakaový prášek nebo 40 semínek z hroznového vína

Pomůcky: dvě kádinky 150 cm³, skleněná tyčinka, třecí miska s tloučkem, kahan, trojnožka, azbestová síťka, zápalky, chňapka, 5 zkumavek ve stojánku

Postup:

Semínka z kuliček hroznového vína omyjte a rozetřete v třecí misce s 50 cm³ horké vody a 25 cm³ suspenze odlijte do kádinky. Pokud použijete kakaový prášek, lžičku prášku rozmíchejte ve 50 cm³ horké vody, přebytečný prášek nechte usadit a 25 cm³ hnědé tekutiny slijte do kádinky.

Do kádinky se suspenzí zrníček či kakaového prášku přidejte 10 cm³ ethanolu a 10 cm³ 10% kyseliny sírové. Nad kahanem přiveďte k varu a vařte 10 minut. Měla by být patrná barevná změna suspenze (hnědá kakaová suspenze dostává červený nádech, béžová zrníčková drť je nyní žlutooranžová). Obsah kádinky nechte vychladnout.

Proveďte zkoušku s původní (nepovařenou) semínkovou drtí či kakaovou suspenzí – do tří zkumavek nalijte vždy 5 cm³ suspenze, do první přidejte 1 cm³ 10% hydroxidu sodného, do třetí 1 cm³ 10% kyseliny sírové. Pozorujte barevné změny.

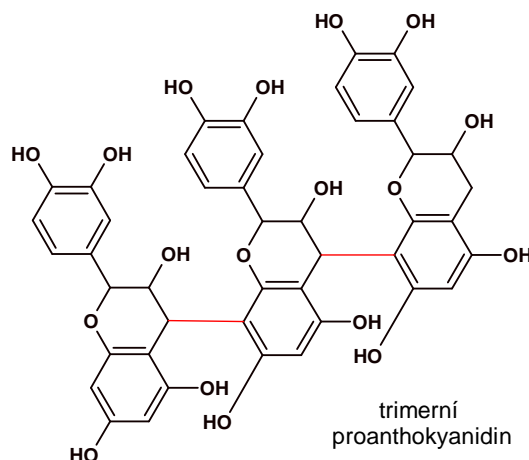
Proveďte zkoušku s rozštěpenou semínkovou drtí či kakaovou suspenzí – do zkumavky nalijte 7 cm³ suspenze a přidávejte po kapkách 10% roztok hydroxidu sodného, dokud nedojde ke změně barvy. (Uvědomte si, že neutralizujete kyselinu sírovou, se kterou jste suspenzi vařili, takže je potřeba přidat větší množství hydroxidu. Můžete také použít koncentrovanější roztok hydroxidu sodného.) Změna barvy signalizuje definitivní rozštěpení proanthokyanidinů. Poznamenejte si barvu produktů štěpení v zásaditém prostředí. Nyní polovinu obsahu odlijte do čisté zkumavky a přidávejte 10% roztok kyseliny sírové, dokud nedojde ke změně barvy. Poznamenejte si barvu produktů štěpení v kyselém prostředí.

Porovnejte barevné změny původních proanthokyanidinů a produktů jejich štěpení v závislosti na pH. Porovnejte barevné změny produktů v závislosti na pH s barevnými změnami anthokyanidinů z ovoce nebo květů.

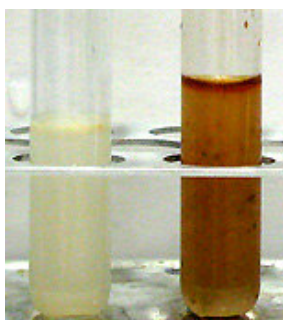
Řešení:

Anthokyanidiny (barevné složky anthokyanových barviv) se vyskytují v přírodě také v oligomerní (di-, tri-, tetra-) formě (jako tzv. **proanthokyanidiny**) – například v zrníčkách z hroznového vína a v kakau. Proanthokyanidiny řadíme mezi třísloviny (látky s velkým počtem fenolických OH skupin), projevují se svíravou, trpkou chutí.

Nacházejí uplatnění v lékařství – jde o jedny z nejučinnějších zachytávačů volných radikálů, mají také příznivý vliv na kardiovaskulární systém.

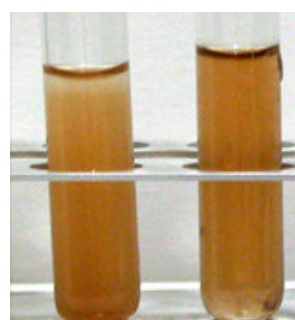


Proanthokyanidiny jsou bezbarvé, na změny pH reagují podobně jako další třísloviny – v kyselém prostředí barvu nemění, v zásaditém vzniká více či méně výrazné hnědé zbarvení (u kakaového prášku je barevná změna překryta hnědým barvivem).



Zrnka hroznového vína (proanthokyanidin)

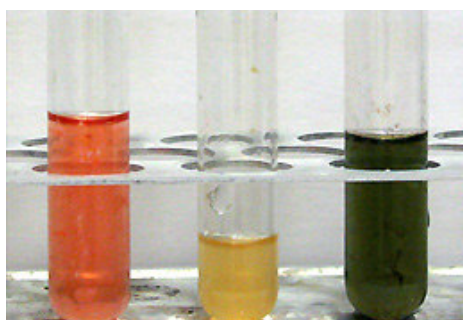
voda – 10% NaOH



Kakao (proanthokyanidin)

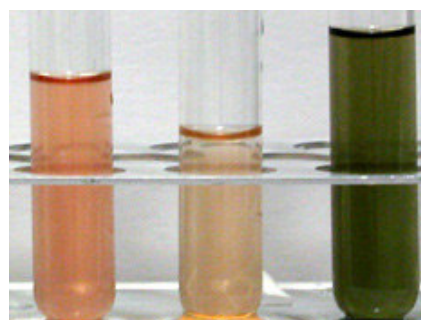
voda – 10% NaOH

Rozštěpením těchto proanthokyanidinů získáme volné anthokyanidiny, jejichž přítomnost můžeme ověřit typickou změnou barvy v závislosti na pH (červené v kyselém, zelené v zásaditém prostředí):



**Zrnka hroznového vína po štěpení
(anthokyanidin)**

10% H₂SO₄ – voda – 10% NaOH



**Kakao po štěpení
(anthokyanidin)**

10% H₂SO₄ – voda – 10% NaOH

11. Příprava anthokyanidinů redukcí flavonů

Zadání: Proveďte redukci oxoskupiny flavonového barviva, запиšte vzorec produktu a porovnejte jeho strukturu s barvou látky.

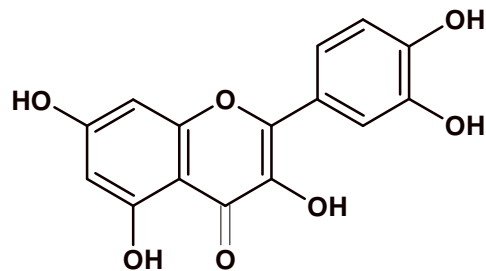
Chemikálie: kyselina sírová - 20% roztok, hořčkové piliny, cibulové slupky (kvercetin) nebo citrusová kůra (rutin, hesperidin)

Pomůcky: větší zkumavka, stojánek, kádinka, nůž, rychlovarná konvice, lžička

Postup:

Cibulové slupky či citrusovou kůru pokrájte na malé kousky a zalijte lžící suroviny 20 cm³ vroucí vody. Nechte asi 20 minut louhovat. 5 cm³ extraktu odlijte do velké zkumavky, přidejte 2 cm³ 20% kyseliny sírové a půl lžičky hořčkových pilin. Pozorujte probíhající reakci a sledujte změnu barvy roztoku. Občas zkumavkou protřepejte. Zhruba po 10-15 minutách porovnejte barvu směsi s původní barvou.

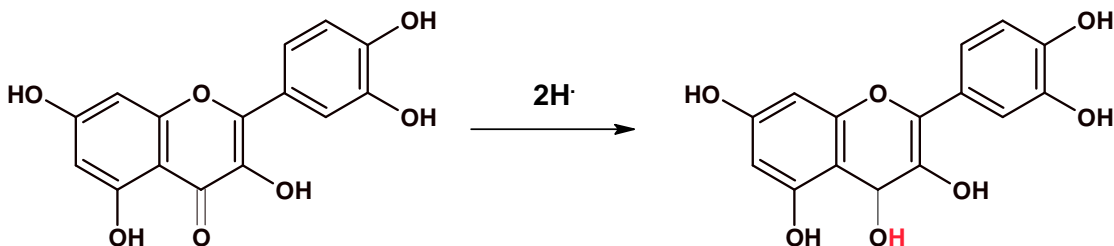
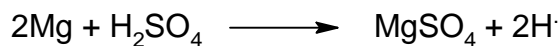
Zapište reakci ve zkumavce, která se projevuje šuměním. Zapište reakci redukce flavonového barviva (na příkladu kvercetinu) a určete skupinu barviv, do níž řadíme produkt této redukce. Posuďte, zda tomuto zařazení odpovídá barva výsledné směsi.



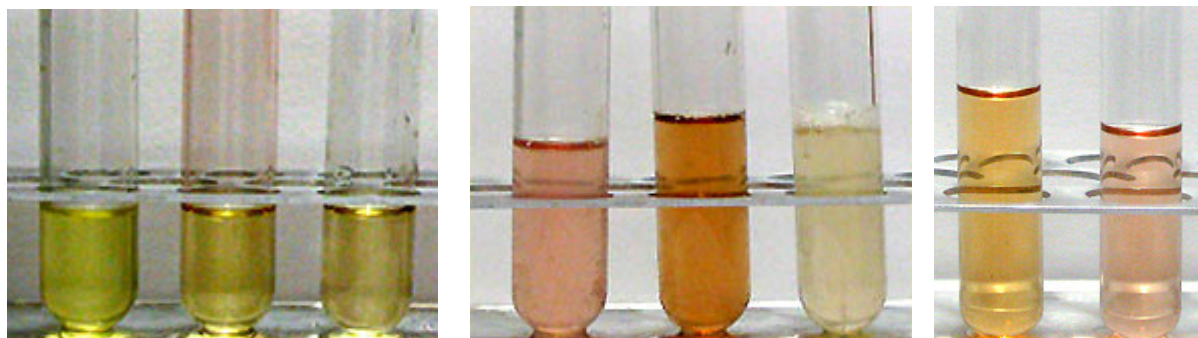
kvercetin

Řešení:

Reakcí hořčíku s kyselinou sírovou vzniká vodík, který redukuje oxoskupinu flavonového barviva na hydroxyl:



Vznikající látka patří podle struktury mezi anthokyanidiny, tedy červená barviva. Tomu odpovídá pozorovaná barevná změna reakční směsi – z původní nažloutlé či žlutooranžové do růžové či červenooranžové.



Mandarinková a citronová kůra, heřmánek
- před redukcí

- a po redukcí

Barvivo v cibulových slupkách
- před a po redukcí

12. Fluorescence rostlinných barviv

Zadání: Pozorujte fluorescenci barviva berberinu ve vzorcích vlašovičnicku či dřišťálu.

Chemikálie: rostlinné vzorky – vlašovičnick větší (nať, listy), dřišťál (planá i parková – červená – varianta, nejlépe měkké výhonky větviček nebo hroznovitá květenství). Pozor, obě rostliny jsou **jedovaté**, u citlivých jedinců může při kontaktu vlašovičnickového latexu („mléka“) dojít k podráždění či poškození kůže.

Pomůcky: filtrační papír, nůžky, UV lampa (stačí kapesní, pro kontrolu bankovek)

Postup:

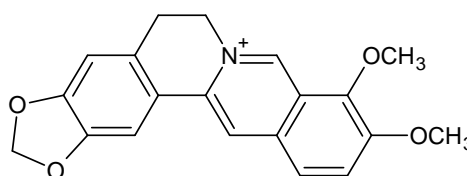
Vzorek rostliny vložte do přeloženého kousku filtračního papíru a přes papír jej rozdrťte lžící, rovnou stranou paličky na maso, hrnečkem atd. Papír rozevřete a zbytky rostliny seškrábejte nožem. Otisky rostliny na papíře pozorujte pod UV lampou. (Papírky s otisky lze uschovat a pozorovat i po několika dnech.)

Pokud pracujete s vlašovičnickem, stačí na kousek filtračního papíru nanést menší množství žlutooranžového latexu („mléka“) vytékajícího z poraněné rostliny.

Řešení:

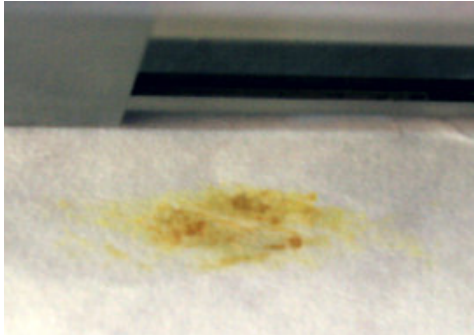
Pod UV lampou se objevuje žlutozelená fluorescence žlutooranžového barviva:

- alkaloidu berberinu.

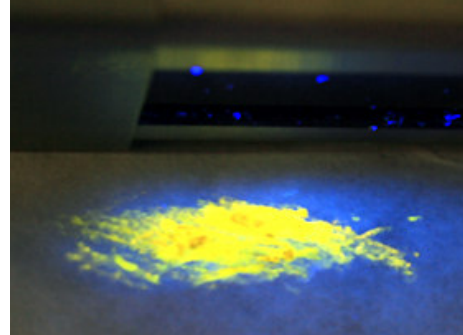


berberin

Principem fluorescence je schopnost barviva berberinu pohlcovat UV záření z lampy a jeho energii využít k excitaci molekul berberinu do stavu o vyšší energii. Při návratu zpět na původní energetickou hladinu dochází k vyzáření přebytečné energie ve formě viditelného (v tomto případě žlutého) světla.



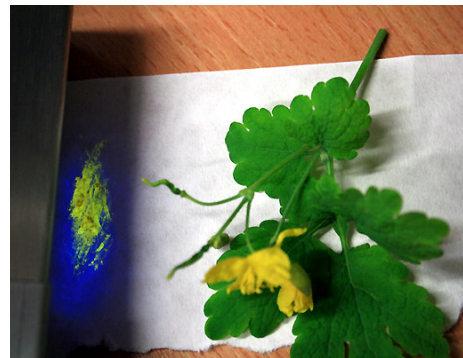
Skvrna oranžového latexu z vlašovičnicku



Fluoreskující berberin z latexu vlašovičnicku



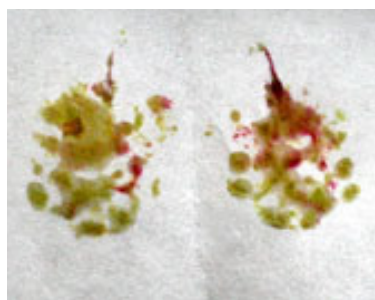
Vlašovičnick a skvrna latexu



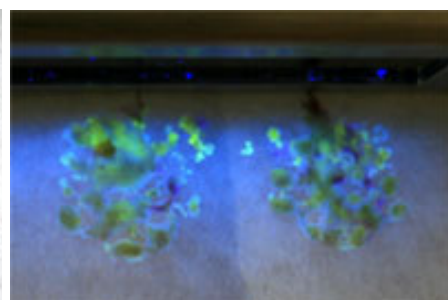
Vlašovičnick a skvrna latexu pod UV lampou



Květenství dřišťálu



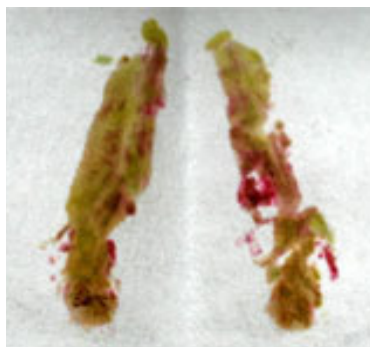
Otisk na filtračním papíře



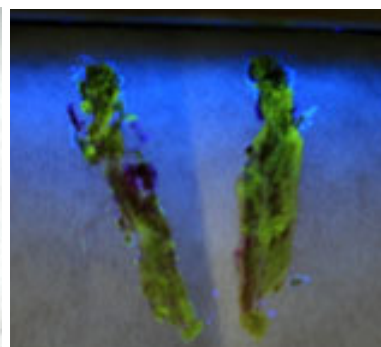
Otisk pod UV lampou



Výhonek dřišťálu



Otisk na filtračním papíře



Otisk pod UV lampou

2.3. Enzymy

(popsána je laboratorní varianta, příslušné náhradní chemikálie a pomůcky pro domácí provedení jsou uvedeny kurzívou v závorce)

13. Štěpení škrobu slinnou amylasou

Zadání: Ověřte schopnost amylasy ze slin štěpit škrob. Pozorujte vliv vysoké teploty na funkci amylasy.

Chemikálie: Lugolův roztok (tj. 1 g KI a 0,35 g jodu rozpustíte asi v 30 cm³ vody a doplňte roztok na 100 cm³) nebo (*doma: jodová tinktura z lékárny*), vzorek slin z vypláchnutí úst, naklíčený hrách či fazole, suchý hrách či fazole, lžíce rýže

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (*tři malé nádoby: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...*), kádinka, kahan, trojnožka, síťka, zápalky (*malý hrnec a vaříč*), třecí miska s tloučkem (*nůž a prkénko*), rychlovarná konvice, velká kádinka (*hrneček*)

Postup:

Krátce povařte lžici rýže ve vodě, suspenzi škrobu nechte vychladnout a poté rozdělte po 5 cm³ do tří zkumavek. Třetinu roztoku slin získaného vypláchnutím úst odlijte do kádinky, zbytek přiveďte k varu a odstavte z plamene. Do první zkumavky se suspenzí rýžového škrobu přidejte 2 cm³ původního roztoku slin, do druhé přidejte 2 cm³ povařeného roztoku slin, třetí zkumavku nechte jako srovnávací. Do větší kádinky natočte příjemně teplou vodu z kohoutku a do této lázně vložte všechny tři zkumavky. Po 15 minutách udělejte ve všech zkumavkách zkoušku roztokem jodu na přítomnost škrobu. Pozitivním důkazem škrobu je vznik modročerného zbarvení. Fialovorůžové zbarvení poskytují dextriny – kratší řetězce škrobu vzniklé jeho štěpením. Vysvětlete vliv vysoké teploty na funkci slinné amylasy. Proč se ve slinách vyskytuje amylasa?

Řešení:

Slinná amylasa je prvním krokem zpracování škrobu v lidském organismu. Slouží ke štěpení škrobu na menší jednotky, nakonec až na disacharid maltosu, který se již projevuje sladkou chutí. Rýžový škrob vystavený působení amylasy je štěpen na kratší úseky – dextriny, které neposkytují s jodem modročerné zbarvení typické pro škrob. Místo toho můžeme pozorovat zbarvení růžovofialové.

Reakce s jodem:
(jodovou tinkturou)



1. škrob
2. roztok slin
3. škrob s roztokem slin
4. škrob s roztokem slin
(působení aktivní amylasy)

Bílkovinná složka enzymu amylasy působením vysoké teploty denaturuje, takže enzym ztrácí svou funkci a nezpůsobuje již štěpení škrobu. Důkaz škrobu ve směsi s povařenou amylasou dává obvyklé modročerné zbarvení, narozdíl od fialového zbarvení dextrinů.

Důkaz přítomnosti škrobu:



Škrob



Škrob se slinami
(aktivní amylasa)



Škrob s povařenými slinami
(neaktivní amylasa)

14. Štěpení škrobu rostlinnými amylasami

Zadání: Zkoumejte přítomnost amylas v suchých a klíčících semenech rostlin.

Chemikálie: Lugolův roztok (tj. 1 g KI a 0,35 g jodu rozpustíte asi v 30 cm³ vody a doplňte roztok na 100 cm³) nebo (*jodová tinktura z lékárny*), naklíčený hrách či fazole, suchý hrách či fazole (*je možné použít například i naklíčené proso nebo pšenici, nejlépe pouze klíčky a slupky, nikoli samotná zrnka obsahující velké množství škrobu*), lžíce rýže

Pomůcky: 3 zkumavky ve stojánku (*tři malé nádoby: víčka od přesnídávek, kelímky od jogurtu...*), kádinka, kahan, trojnožka, síťka, zápalky (*malý hrnec a vaříč*), nůž a prkénko, velká kádinka (*hrneček*)

Postup:

Krátce povařte lžíci rýže ve vodě, suspenzi škrobu nechte vychladnout a poté rozdělte do po 5 cm³ do tří zkumavek.

Pokrájejte tři naklíčená zrnka hrachu či fazolí na malé kousky (rozmělněte v třecí misce). Tři suchá zrnka hrachu či fazolí roztlučete paličkou (rozetřete v třecí misce).

Do první zkumavky se suspenzí rýžového škrobu přidejte pokrájená naklíčená zrnka a rozmíchejte, do druhé přidejte roztlučená suchá zrnka a rozmíchejte, třetí zkumavku nechte jako srovnávací. Do větší kádinky natočte příjemně teplou vodu z kohoutku a do této lázně vložte všechny tři zkumavky.

Po 15 minutách udělejte ve všech zkumavkách zkoušku jodem na přítomnost škrobu. Pozitivním důkazem je vznik tmavého, modročerného zbarvení. Fialovorůžové zbarvení poskytují dextriny – kratší řetězce škrobu vzniklé jeho štěpením.

Posudte přítomnost amylasy v suchých a klíčících zrnkách. Proč rostlina při klíčení vytváří amylasy?

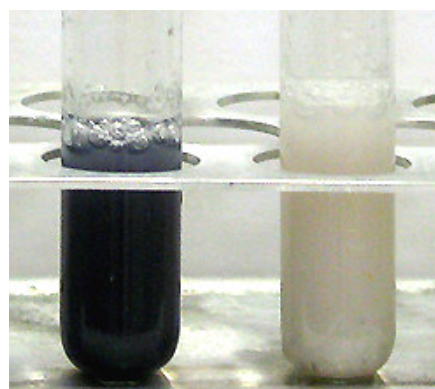
Řešení:

Klíčící zrnko využívá amylasy k štěpení zásobního škrobu na glukosové jednotky, z nichž následně syntetizuje celulosu nutnou pro výstavbu rostlinných tkání. Při bobtnání zrnka ve vlhkém prostředí se začínají uvolňovat amylasy, které intenzivně pracují po celou dobu klíčení, až do vyčerpání zásobního škrobu. Dostatečně stará rostlinka už tvoří celulosu z glukosových jednotek vznikajících při fotosyntéze.

Štěpící účinek amylasy v klíčících zrnkách je opět patrný na negativním důkazu přítomnosti škrobu, který byl této amylose vystaven. Suchá zrnka nepůsobí štěpení škrobu a důkaz jodškrobovou reakcí je tedy pozitivní.



Rýžový škrob se suchou a naklíčenou fazolí



Pudink se suchou a naklíčenou fazolí

15. Štěpení sacharosy kyselou hydrolyzou

Zadání: Proveďte kyselou hydrolyzu sacharosy. Úspěšnost štěpení ověřte pomocí důkazu redukujících cukrů Fehlingovou zkouškou.

Chemikálie: pentahydrát síranu měďnatého - 5% roztok (*5% roztok modré skalice*), hydroxid sodný - 10% roztok (*10% roztok uhličitanu sodného – prací sody*), kyselina citronová (3 krystalky), sacharosa (*cukr*)

Pomůcky: 2 zkumavky ve stojánku (*průhledné nádobky*), skleněná tyčinka (*špejle*), kádinka (*hrneček*), kahan, trojnožka, síťka, zápalky (*malý hrnec a vaříč*), velká kádinka (*velký hrnek*), rychlovarná konvice

Postup:

1 lžičku sacharosy rozpusťte ve 100 cm³ vody, 10 cm³ roztoku odlijte stranou, do zbytku přidejte 3 krystalky kyseliny citronové a směs přiveďte k varu.

Do první zkumavky vlijte 7 cm³ původního roztoku sacharosy, do druhé 7 cm³ roztoku povařeného s kyselinou. K oběma vzorkům přidejte 2 cm³ 10% roztoku NaOH a

zamíchejte. V rychlovarné konvici uvařte 300 cm³ vody, vroucí vodu nalijte do velké kádinky a do této lázně vložte zkumavky s reakční směsí tak, aby vroucí voda nenatekla dovnitř. Do každé zkumavky přidejte 1 cm³ 5% roztoku CuSO₄ a zamíchejte (*vzniká modrá sraženina*). Po 5 – 10 minutách v horké lázni pozorujte barevné změny v jednotlivých zkumavkách, zaznamenejte je do tabulky.

Rozhodněte, zda povařením s kyselinou došlo k hydrolyze sacharosy. Své rozhodnutí vysvětlíte, určete produkty hydrolyzy.

(V laboratoři lze vroucí lázeň nahradit zahříváním zkumavky v plameni kahanu.)

(V domácím provedení je možné do výluhu z potravin přidávat práškový uhličitan sodný a krystalek modré skalice – a zamíchat – namísto přidávání roztoků).

Řešení:

Sacharosa je neredukující disacharid tvořený spojením molekul glukosy a fruktosy. Vazba mezi oběma monosacharidy podléhá kyselé hydrolyze, reakcí vzniká směs glukosy a fruktosy, které mají redukční vlastnosti a dávají pozitivní Fehlingovu zkoušku (na rozdíl od samotné sacharosy). Tato reakce se též nazývá „inverze sacharosy“ – kvůli změně optické otáčivosti roztoku po rozštěpení. Pro směs obou redukujících monosacharidů 1:1 se užívá název „invertní cukr“, a to zejména v pekařství a cukrářství, kde se tato reakce běžně využívá.

Fehlingova zkouška:



Roztok sacharosy

**Roztok sacharosy
povařený s kyselinou**

16. Enzymatické štěpení sacharosy

Zadání: Provedte enzymatickou hydrolyzu sacharosy pomocí enzymu invertasy z pekařských kvasnic. Úspěšnost štěpení ověřte na důkazu redukujících cukrů Fehlingovou zkouškou. Zkoumejte vliv teploty a přítomnosti měďnatých iontů na funkci enzymu invertasy.

Chemikálie: pentahydrát síranu měďnatého - 5% roztok (*5% roztok modré skalice*), hydroxid sodný - 10% roztok (*10% roztok uhličitanu sodného – prací sody*), sušené droždí (instantní, v sáčku), sacharóza (*cukr*)

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (*průhledné nádobky*), skleněná tyčinka (*špejle*), kádinka (*hrneček*), kahan, trojnožka, síťka, zápalky (*malý hrnec a vaříč*), velká kádinka (*velký hrnek*), rychlovarná konvice, mrazák

Postup:

1 lžičku sacharosy rozpustíte ve 100 ml vody.

Do 4 zkumavek nalijte vždy 5 cm³ roztoku sacharosy. Do všech přisypte na špičku nože sušeného droždí a zamíchejte. Do první zkumavky přilijte 5 – 10 cm³ roztoku síranu měďnatého. Druhou zkumavku dejte do vroucí vodní lázně na vaříči nebo nad kahanem a nechte vařit 2–3 minuty. Třetí zkumavku umístěte do mrazničky. Čtvrtou zkumavku umístěte do kádinky naplněné teplou vodou z vodovodu.

Do páté – kontrolní – zkumavky nalijte pouze 5 cm³ roztoku sacharosy. Do šesté – kontrolní – zkumavky nalijte pouze 5 cm³ vody a rozmíchejte v ní na špičku nože sušeného droždí.

Všechny zkumavky ponechte nejméně 30 minut stát. Poté proveďte ve všech důkaz na přítomnost redukujících sacharidů:

Ke všem vzorkům přidejte 2 cm³ 10% roztoku NaOH a zamíchejte. V rychlovarné konvici uvařte 300 cm³ vody, vroucí vodu nalijte do velké kádinky a do této lázně vložte zkumavky s reakční směsí tak, aby vroucí voda nenatekla dovnitř. Do každé zkumavky přidejte 1 cm³ 5% roztoku CuSO₄ a zamíchejte (*vzniká modrá sraženina*). Po 10 minutách v horké lázni pozorujte barevné změny v jednotlivých zkumavkách, zaznamenejte je do tabulky.

Rozhodněte, ve kterých případech došlo k hydrolýze sacharosy. Své rozhodnutí vysvětlete, určete produkty hydrolýzy. Posuďte vliv teploty a přítomnosti měďnatých iontů na funkci enzymu invertasy.

(V laboratoři lze vroucí lázeň nahradit zahříváním zkumavky v plameni kahanu.)

(V domácím provedení je možné do výluhu z potravin přidávat práškový uhličitan sodný a krystalek modré skalice – a zamíchat – namísto přidávání roztoků).

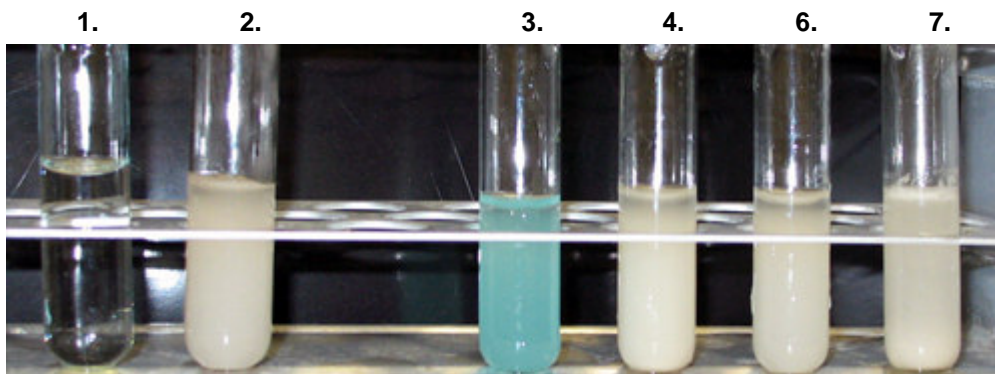
Řešení:

Kvasinky z droždí (*Saccharomyces*) metabolizují zkvasitelné monosacharidy na oxid uhličitý, což způsobuje nakypření těsta. Protože sacharosa (řepný cukr) není zkvasitelný cukr, štěpí ji kvasinky pomocí enzymu invertasy na glukosu a fruktosu – teprve tyto cukry jsou pak kvasinkami metabolizovány. Rozštěpení neredukující sacharosy na redukující monosacharidy se projeví pozitivní Fehlingovou zkouškou.

Účinnost enzymu invertasy je ovlivňována teplotou prostředí. Převařením denaturuje bílkovinná složka enzymu a ten ztrácí funkci. Při teplotě kolem 0°C probíhá reakce velice pomalu. Stejně tak dochází k denuraci enzymu v přítomnosti velkého množství měďnatých iontů. Ve všech těchto případech pozorujeme po Fehlingově zkoušce pouze malé množství redukujících sacharidů. Naopak v teplé vodě pracují kvasinky optimálně.

Obě kontrolní zkumavky mají ukázat, že ani sacharosa, ani droždí neobsahují redukující sacharidy, ty tedy pocházejí jedině ze štěpení sacharosy.

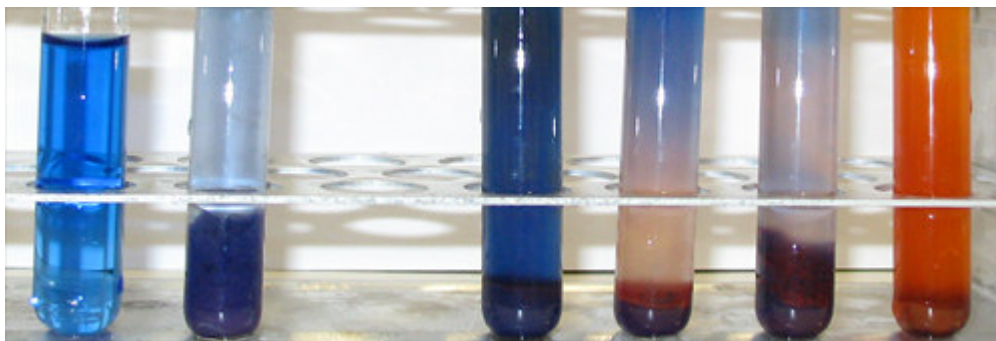
Fehlingova zkouška:



1. roztok sacharosy
2. suspenze droždí

3. sacharosa s droždím denaturovaným Cu^{2+}
4. sacharosa s droždím povařená
5. sacharosa s droždím v mrazničce
6. sacharosa s droždím v teplé vodě

Fehlingova zkouška (po 1 hodině působení invertasy):



1. roztok sacharosy
2. suspenze droždí

3. sacharosa s droždím denaturovaným Cu^{2+}
4. sacharosa s droždím povařená
5. sacharosa s droždím v mrazničce
6. sacharosa s droždím v teplé vodě

17. Katalasa v potravinách

Zadání: Porovnejte vybrané suroviny z hlediska obsahu enzymu katalasy, která katalyzuje rozklad peroxidu vodíku. Identifikujte plyn, který tímto rozkladem vzniká.

Chemikálie: peroxid vodíku 10% (je možné použít i 5% či 3% roztok), sacharosa 10% roztok

potravin: kiwi, citron, mrkev, brambora, sušené nebo čerstvé droždí

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (vyšší nádoby), nůž a prkénko, menší kádinka (hrneček), zápalky, špejle

Postup:

V menší kádince připravte 20 cm³ 10% vlažného roztoku sacharosu a vsypte do něj čtvrt lžičky droždí. Nechte 10 minut vzejít.

Do zkumavek (podle počtu použitých potravin) nalijte vždy 5 cm³ 10% roztoku H₂O₂. Z použitého ovoce a zeleniny odkrojte vždy přibližně stejně velký kousek tvaru hranolku (přizpůsobte velikosti použitých zkumavek) a vhodte do zkumavek s peroxidem. Do poslední zkumavky nalijte asi 2 cm³ suspenze droždí. Po 2-5 minutách porovnejte a запиšte intenzitu reakcí v jednotlivých zkumavkách

Do zkumavky s nejintenzivnější reakcí vsuňte doutnající špejli a poznamenejte si její chování. Určete plyn vznikající rozkladem peroxidu a napište a vyčíslete rovnici rozkladu. Který další zdroj katalázy znáte?

Řešení:

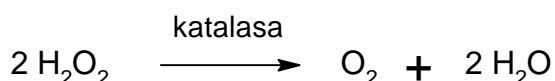
Katalasa je velmi rozšířený enzym, který v organismech „zneškodňuje“ reaktivní peroxidy a brání tak především membrány před oxidativním poškozením.

Terciární struktura katalasy

(obrázek z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Catalase>)



Tento enzym katalyzuje rozklad peroxidu vodíku podle rovnice:



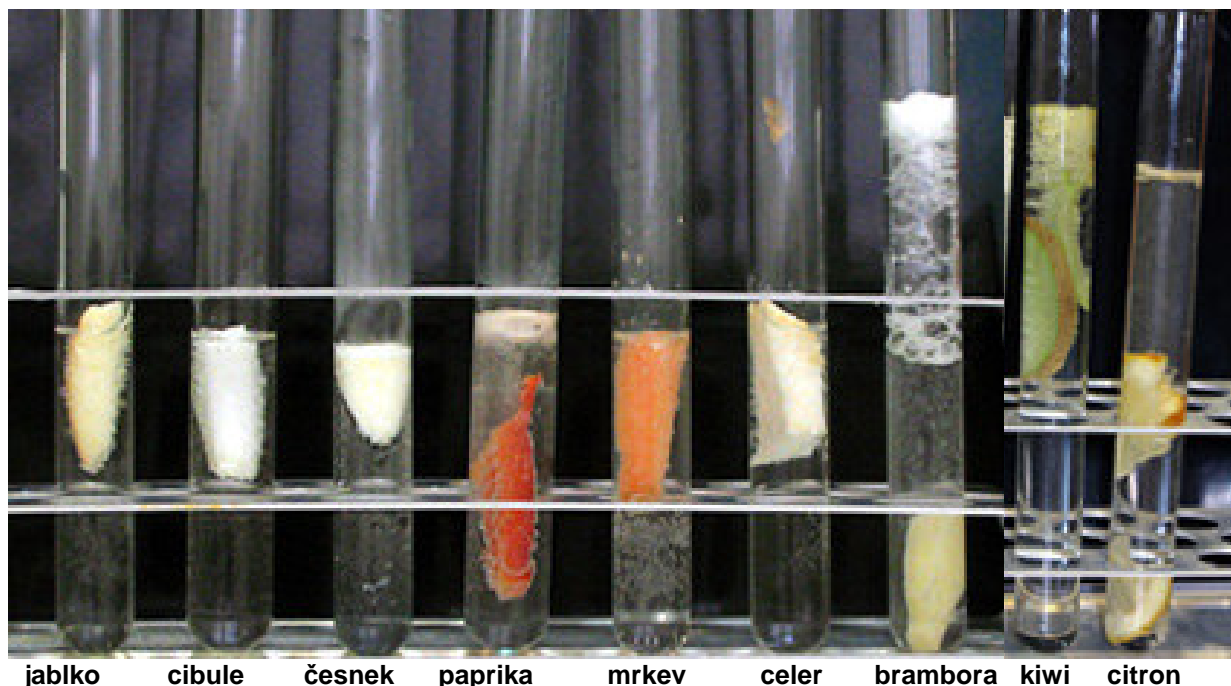
Vznikající plynný kyslík lze snadno identifikovat díky jeho schopnosti podporovat hoření – doutnající špejle při dostatečné koncentraci kyslíku nad hladinou zkumavky jasně vzplane.

Vzplanutí doutnající špejle



Z běžného života je znám výskyt katalasy v krvi (použití peroxidu vodíku jako dezinfekčního činidla – při styku s krví „bublá“), pro experimenty lze využít například syrová kuřecí játra nebo jiné prokrvené tkáně. Katalasa se dále hojně vyskytuje v bramborách, kiwi a droždí:

Reakce s H_2O_2 :



18. Účinnost enzymu katalasy v závislosti na pH

Zadání: Enzym katalasa katalyzuje rozklad peroxidu vodíku. Určete přibližně pH, při němž je katalytická účinnost tohoto enzymu nejvyšší.

Chemikálie: peroxid vodíku 10% (je možné použít i 5% či 3% roztok), kyselina sírová - 5% roztok (ocet), hydroxid sodný - 5% roztok (5% roztok prací sody – uhličitanu sodného), čerstvá neoloupaná brambora

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (vyšší nádoby), nůž, univerzální indikátorové papírky 5 ks

Postup:

Připravte si pět zkumavek s následujícími roztoky:

1. 5 cm³ 5% kyseliny sírové
2. 0,5 cm³ 5% kyseliny sírové
3. nic
4. 0,5 cm³ 5% hydroxidu sodného
5. 5 cm³ 5% hydroxidu sodného

Všechny zkumavky doplňte vodou do 5 cm³, zamíchejte, změřte pH pomocí univerzálních indikátorových papírků a zapište do tabulky.

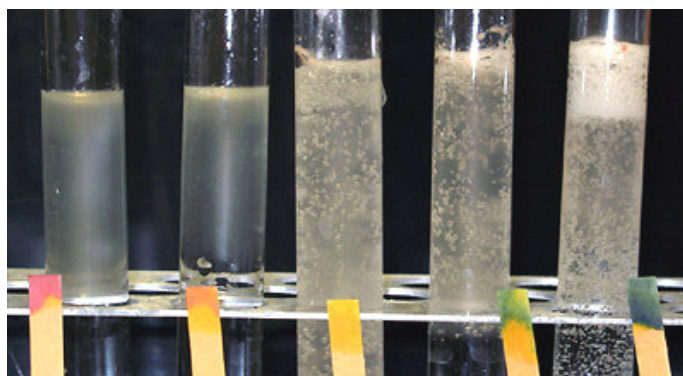
Do každé zkumavky přidejte 3 cm³ roztoku peroxidu vodíku. Z omyté brambory odkrojte plátek silný 0,5 cm, oloupejte slupku a z plátku nakrájejte 5 stejných hranolků. Každý vhodte do jedné ze zkumavek. Po 2–4 minutách porovnejte a zapište intenzitu reakcí v jednotlivých zkumavkách.

Určete pH, při němž byla účinnost katalázy z brambor nejvyšší.

Řešení:

Katalasa je enzym s nejvyšší známou katalytickou účinností. Tato veličina závisí na několika faktorech (pH, teplota, přítomnost inhibitorů...). Dalo by se očekávat, že pH optimum – pH, při němž je katalytická účinnost nejvyšší – bude odpovídat pH v buňkách, tj. zhruba neutrálnímu. Podle některých experimentů tomu tak však není – pH optimum leží v zásadité oblasti. Jeho hodnota se samozřejmě může lišit v závislosti na zdroji katalázy a dalších okolnostech.

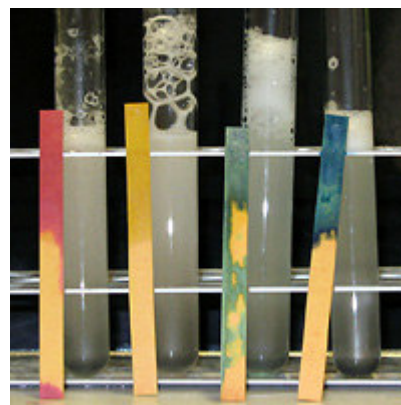
Na následujících fotografiích je zachycen stav v reakčních nádobách po zhruba dvou minutách od začátku experimentu:



**Katalasa z kuřecích jater
pH optimum: zásadité prostředí (pH asi 9)**



**Katalasa z brambor
pH optimum: neutrální až zásadité prostředí**



Katalasa z kvasnic

19. Rostlinné proteasy

Zadání: Na základě experimentu určete ovoce, které obsahuje ve větším množství proteasy – enzymu rozkládajícího bílkoviny.

Chemikálie: želatina, šunkový salám nebo Vysočina, jablko, citron, čerstvé kiwi nebo čerstvý ananas

Pomůcky: Petriho miska (*talířek*), nůž, kádinka, kahan, trojnožka, síťka, zápalky, tyčinka (*malý hrnec, vařič a lžíce*), tři krystalizační misky (*tři mističky*), párátko

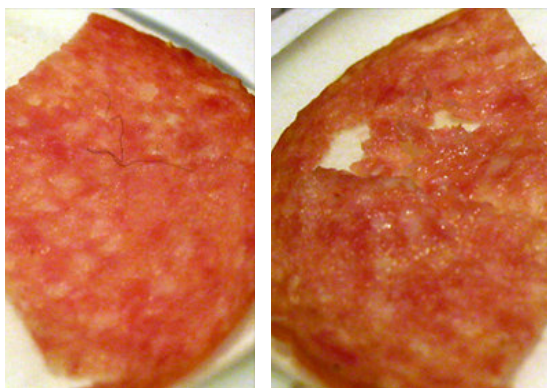
Postup:

Kolečko salámu položte na Petriho misku, na něj dále od sebe rozložte část plátku citronu, jablka a kiwi. Nechte jeden den, poté pozorujte strukturu salámu pod jednotlivými druhy ovoce. Vyzkoušejte, jak silnou stopu zanechá škrábnutí párátkem na místech ovlivněných jednotlivými druhy ovoce.

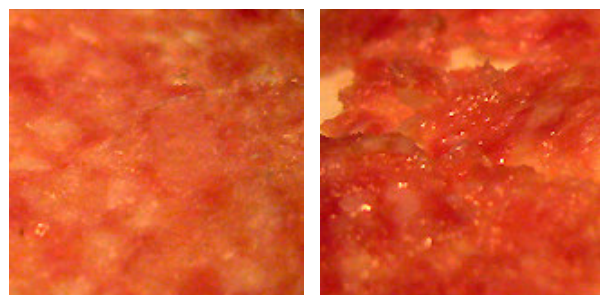
Podle návodu připravte asi 150 cm³ želatiny, nalijte do tří nádobek a nechte (přes noc) ztuhnout. Na každou z misek položte plátek ovoce a nechte půl dne působit. Pozorujte strukturu želatiny pod jednotlivými druhy ovoce.

Řešení:

Kiwi a ananas (případně papaja) obsahují větší množství proteas. Tyto enzymy štěpí bílkoviny přítomné například v mase nebo želatině na kratší řetězce. Po působení enzymu můžeme pozorovat „rozbřednutí“ bílkovinné hmoty, želatina se roztéká, salám kašovatí, párátko v něm zanechá mnohem hlubší stopu než na salámu pod jablkem nebo citronem, povrch není hladký, vystupují z něj kousky tuku.



Salám Vysočina pod citronem a pod kiwi



Salám Vysočina pod citronem a pod kiwi (detail)
citron – hladký povrch, kiwi – narušený povrch,
vystupují kousky tuku

Po 2 hodinách působení:

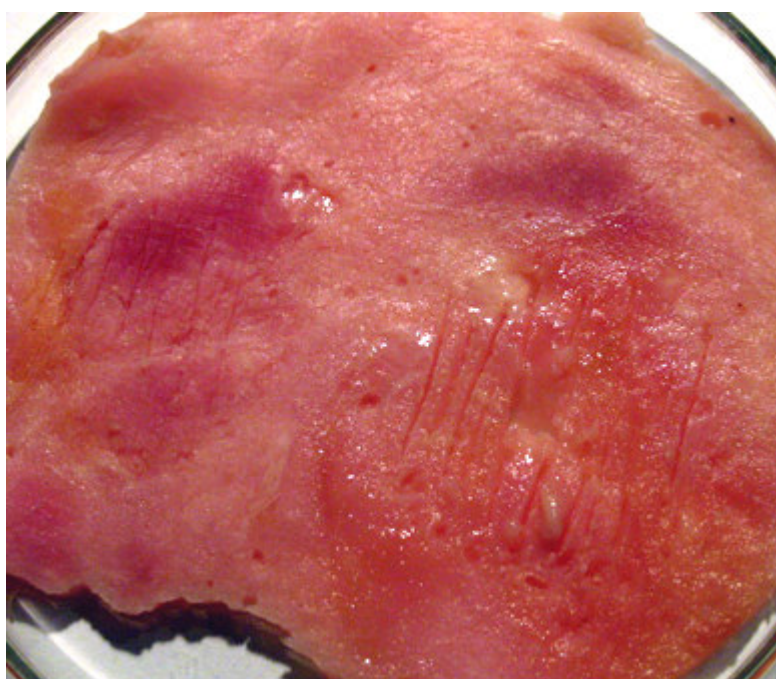


želatina pod citronem (pouze otisk)



želatina pod kiwi (tekutina)

Šunkový salám pod citronem (levá část) a pod kiwi (pravá část):



povrch vpravo kašovitý, párátko zanechává hluboké stopy

20. Denaturace enzymů

Zadání: Na příkladu enzymu katalasy pozorujte vliv teploty, pH a přítomnosti těžkých kovů na funkci enzymu.

Chemikálie: peroxid vodíku 10% (je možné použít i 5% či 3% roztok), kyselina sírová - 5% roztok (ocet), pentahydrát síranu měďnatého - 5% roztok (modrá skalice 5% roztok), čerstvá neoloupaná brambora

Pomůcky: sada zkumavek ve stojánku (vyšší nádobky), nůž, kádinka (hrneček), kahan, zápalky, držák na zkumavku (menší hrnec, vaříč)

Postup:

Do 4 zkumavek nalijte vždy 3 cm³ roztoku peroxidu vodíku. Do první zkumavky přidejte 5 cm³ 5% kyseliny sírové, do druhé zkumavky 5 cm³ 5% roztoku síranu měďnatého, do třetí a čtvrté zkumavky 5 cm³ vody.

Bramboru oloupejte, nakrájejte na malé kousky a vylouhujte 5 minut ve 100 cm³ studené vody. Polovinu výluhu zahřejte nad kahanem k varu.

Do první, druhé a třetí zkumavky nalijte vždy 3 cm³ výluhu ze syrové brambory, do čtvrté zkumavky místo toho přidejte 3 cm³ povařeného výluhu z brambory. Pozorujte intenzitu reakce v jednotlivých zkumavkách, určete ty vlivy, které snižují účinnost enzymu katalasy.

(Doma je praktičtější nepoužít výluh a povařený výluh z brambor, ale hranolky ze syrové brambory a hranolek z uvařené brambory.)

Dále můžete vyzkoušet vliv přítomnosti ethanolu (*Alpy*), tříslovin z duběnek či žaludů nebo různé koncentrace kuchyňské soli.

Řešení:

Působením vysoké teploty, přítomnosti měďnatých iontů i extrémních hodnot pH dochází k denaturaci bílkovinné části enzymu – změně terciární struktury a z toho vyplývající ztráty biologické funkce. Pozorujeme pokles intenzity nebo úplné zastavení probíhající reakce.

Rozklad H₂O₂

čerstvá brambora

vařená brambora

čerstvá brambora
v přítomnosti Cu²⁺ iontů