

větší než u nekurátek. Dříve se ho používalo také jako insekticidu, k čemuž se v současnosti vrací (produkce biopotravin apod.).

**Chemikálie a činidla:** nasycená vápenná voda, roztok jodu v jodidu draselném (Lugolův roztok), kyselina pikrová – nasycený roztok, 20% vodný roztok hydroxidu sodného, led.  
**Pomůcky a materiály:** cigaretový nebo jiný tabák, Erlenmeyerova baňka (250 ml), pryžové zátky, zahnutá skleněná trubička, stojan na zkumavky, zkumavky, kovový stojan, varný kruh, železná síťka s azbestovou vložkou, zápalky, plynový kahan, varná baňka (150 ml), Claisenův nástavec, chladič, alonž, předloha (150 ml), kádinka (150 ml), hadice k chladiči, nůžky, třecí miska s tloučkem.

**Pracovní postup A.** Do Erlenmeyerovy baňky objemu asi 250 ml nasypete 3-5 g co nejlépe rozmělněného cigaretového nebo lukového tabáku, přidejte potom 20 ml nasycené vápenné vody a směsí 5 minut míchejte, aby se tabák dostal do maximálního kontaktu s vápennou vodou. Potom baňku uzavřete pryžovou zátkou s otvorem, kterým prochází zahnutá skleněná trubička vedoucí do zkumavky ponořené do kádinky s ledovou vodou. Po sestavení této aparatury zahříváte baňku s tabákem a vápennou vodou tak dlouho, až najímáte asi 10 ml destilátu, který obsahuje nikotin.  
 Po skončení práce:

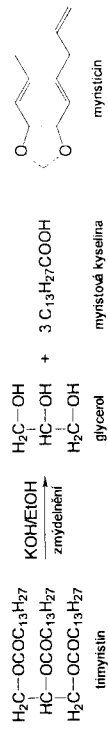
- si všimněte barvy destilátu, jeho celkového vzhledu a zápachu,
  - odeberte asi 1 ml destilátu do čisté zkumavky a přidejte 2-3 kapky Lugolova roztoku. Vznikne černohnědá sraženina, která se postupně rozpouští,
  - odeberte opět asi 1 ml destilátu do další zkumavky a přidejte asi 3-4 kapky nasyceného roztoku kyseliny pikrové. Vznikne jasně žlutá sraženina pikrátu nikotinu, která se v přebytku nikotinu rozpustí.
- Pozorování zaznamenejte a vysvětlete.

**Pracovní postup B.** Sestavte klasickou destilační aparaturu. Do varné baňky o objemu 150 ml vložte 3-5 g jemně rozmělněného tabáku a 25 ml 20% vodného roztoku hydroxidu sodného. Baňku s tabákem a hydroxidem sodným zvolna zahříváte tak, aby se tabák nepřipálil na stěny baňky. Odděsťujte asi 10 ml destilátu, který je vodným roztokem nikotinu, s nímž provedete stejné reakce jako ad A.

Poznámka: pro reakce roztok nikotinu nepřipetujte, ale použijte malé odměrné válce nebo odměrné zkumavky. Lze také použít injekční stříkačky.

### 3. IZOLACE TRIMYRISTINU Z MUŠKÁTOVÉHO OŘÍŠKU

Estery kyseliny myristové s glycerolem, trimyristin, je hlavní složkou tuků obsazených v muškátovém oříšku (*Myristica fragrans*). Zmýdlením trimyristinu ethanolickým roztokem hydroxidu draselného lze získat kyselinu myristovou. Pozor matečné louhy po krystalizaci trimyristinu obsahují jedovatý myristicin. Při požití nadměrného množství nebo vodného výluhu muškátového oříšku se projevují halucinogenní účinky formou riskantního chování (např. skákání z okna).



myristová kyselina

myristicin

**Chemikálie a činidla:** ethanol, aceton.

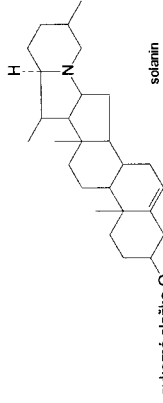
**Pomůcky a materiály:** muškátový oříšek, 2 varné baňky 100 ml, porcelánová třecí miska s tloučkem, ponorný vaříč, chladič, hrnec, vata, mixér, odsávačka, nálevka s filtrační jehlou, kádinka 100 a 25 ml, filtrační nálevka, rotační vakuová odpadka.

**Pracovní postup:** 4 g rozdrčeného muškátového oříšku a 20 ml ethanolu refluxujte v baňce o objemu 100 ml na vodní lázni po dobu 60 min. Roztok zfiltrujte přes vatu do destilační baňky, ethanol odděslujte. Poletuhý zbytek rozpustíte v asi 5 ml horkého acetonu. Ochlazeno trimyristin odsajte a adjustujte. Stanovte výtěžek a teplotu láni (tab. 54-55 °C).

### 4. DŮKAZ PŘÍTOMNOSTI SOLANINU V HLÍZÁCH BRAMBORU

Solanin patří mezi alkaloidy steroidní povahy. Z čeledi lilkových (*Solanaceae*) je solanin z brambor, tomatin z rajských jablíček.

Do stejné skupiny látek patří také různé akonitiny obsažené v různých druzích oměje (*Aconitum*), které jsou prudce jedovaté.



**Chemikálie a činidla:** koncentrovaná kyselina sírová, koncentrovaná kyselina octová, 1% vodný roztok formaldehydu, 0,5% roztok peroxidu vodíku.

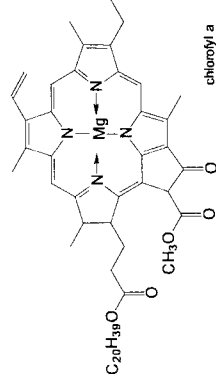
**Pomůcky a materiály:** bramborové hlízy (zelené, nezačerné, s očky, bez oček a s klíčky), Petriho miska, 4 krátké kapiláry nebo mikropipety, nerezový nůž, prázdná, filtrační papír, podložní skličko, mikroskop.

**Pracovní postup:** Z bramborové hlízy zelené i nezačerné se slupkou nakrájete dvakrát čtyři co nejtenčí řezy a položíte je do řady za sebou na dno Petriho misky nebo pro případ, že budete reakce sledovat mikroskopicky na podložní mikroskopické skličko. Potom na jednotlivé řezy postupně kápněte na první řez 1-3 kapky koncentrované kyseliny sírové, na druhý kapku koncentrované kyseliny octové, na další kapku vodného roztoku formaldehydu a na poslední kapku 0,5% vodného roztoku peroxidu vodíku. Přítomnost solaninu se projeví po chvíli vznikem trvalého načervenalého až třesťově červeného zbarvení. Uveďte, kterou reakci vzniklo jaké zbarvení a jeho intenzitu.

### 5. LISTOVÁ BARVIVA

V listech zelených rostlin se vyskytuje větší počet lipofilních barviv, jejichž charakteristickou vlastností je rozpustnost v tucích a tukových rozpouštědlech. Pro fotosyntézu mají rozhodující význam chlorofyly a a b a karotenoidy (některé uvedeny v následující úloze).

Chlorofyly patří mezi tzv. isoprenoidní lipidy neboli prenyllipidy, můžeme je také pokládat za tzv. pyrolová barviva čili porfyryny.



V molekule chlorofylu je atom dvojmocného hořčíku komplexován mezi čtyři dusíkové atomy porfyrinu. Kromě čtyř pyrrolových jader obsahuje ještě jedno cyklopentanové. Chlorofyl a se liší od chlorofylu b derivací jedné methylové skupiny formylem, je tudíž oxidačním produktem chlorofylu a. Chlorofyl je opticky aktivní. V roce 1960 nazvali na sobě syntetizovali chlorofyl a Woodward a Strell podle struktury navržené H. Fisherem v roce 1940.

Listová barvíva jsou značně citlivá vůči vzdušnému kyslíku a na světlo. Rozkladnými produkty chlorofylu jsou feofytiny; karoteny přecházejí přes epoxidy na bezbarvé sloučeniny. Feofytiny (a, b) se v přírodě nevyskytují. Narozdíl od chlorofylů neobsahují hořčnaté kationty a pokládají se tudíž za artefakty, vznikající při extrakci. Lutein (3,3'-dihydroxy- $\alpha$ -karoten) je izomerem s zeaxanthinem (vzorec v následující úloze), violaxanthin je jeho derivátem (5,6,5',6'-dipeoxyzeaxanthin) a neoxanthin má souhrnný vzorec  $C_{40}H_{56}O_4$ .

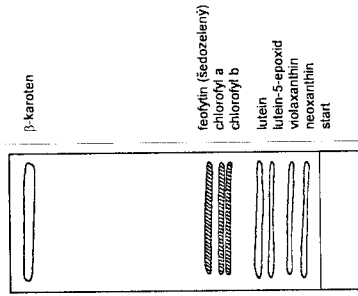
Rychlého rozdělení listových barviv lze dosáhnout chromatografií na vrstvě silikagelu, Silufolu. Po rozdělení extraktu lze jednotlivé složky eluovat organickými rozpouštědly a fotometricky stanovit. Na obrázku je náčrt chromatogramu s přiřazením jednotlivých složek barviv.

**Chemikálie a činidla:** uhlíčitán vápenatý práškový, bezvodý siran sodný, aceton, petrolether, isopropanol, voda.

**Pomůcky a materiál:** 5 g čerstvého zeleného rostlinného materiálu (listy musí být suché), uhlíčitán porcelánová třecí miska s pístem, 2 destilační baňky (250 ml), Soxhletův extraktor, lžice na chemikálie, 2 dělené pipety 5 ml, odměrný válec 10 ml, extrakční patrona 10 ml, hadřík, varné kamínky, topné hnízdo na objem 250 ml, filtrační papír, stojan, filtrační kruh, filtrační nálevka, destilační baňka (250 ml), rotační vakuová odparka, chromatografická deska Silufol, skleněné kapiláry (silnějšího průměru) vylážené z tenkosíťné trubice z lehkotavitelného skla, eluční náoba s krycí skleněnou deskou, kádinky 150, 50 a 25 ml, sada zkumavek, spektrofotometr.

### 5.1. Extrakce barviv

**Pracovní postup:** Pečlivě (na co nejmenší kousky) nasíťňete 5 g (přesnou hmotnost zaznamenejte) čerstvého zeleného rostlinného materiálu (listy předem ořete), přidejte 1 g práškovitého uhlíčitánu vápenatého a jemně rozetřenou hmotu přenechte do extrakční patrony a umístěte do Soxhletova extraktoru. Do destilační baňky o obsahu 250 ml nalijte 150 ml acetonu přidejte varné kamínky, nasadte pod Soxhletův extraktor a extrahujte (asi 1 hod.). Acetonový extrakt ochlaďte, potom pečlivě vysušte bezvodým síranem sodným, susídlo odfiltrujte a filtrát zahusťte na rotační vakuové odparce na cca poloviční objem. Vysvětlíte princip extrakce a jak lze poznat, že extrakce je již skončena.



### 5.2. Chromatografie barviv

**Pracovní postup:** Extrakt potom naneste na silufolovou desku (3x7 cm) a to několikrát (cca 5krát) vždy po předchozím odpaření rozpouštědla. Chromatogram eluujte ve směsi petrolether, isopropanol, voda v poměru 100:10:0,25. Při dobrém rozdělení je na chromatogramu vidět sedm barevných skvrn, odpovídajících jednotlivým barvivům. Jednotlivým skvrnám přiřadte příslušné barvivo (podle nákreсу chromatogramu v úvodu úloha 5) a vypočítejte  $R_f$ . Pozor, některé skvrny na světle rychle blednou, proto skvrny opatrně obtáhněte obyčejnou tužkou. Chromatogram zakreslete do protokolu s příslušnými hodnotami  $R_f$ .

### 5.3. Fotometrické stanovení chlorofylů

Oba chlorofyly se poněkud liší svými absorpčními spektry. Empiricky bylo zjištěno, že změřme-li absorpční acetonového roztoku, který obsahuje oba chlorofyly (a neobsahuje jiné zelené sloučeniny), při dvou vhodné zvolených vlnových délkách, můžeme vypočítat koncentrace obou látek. Pozor, je ovšem třeba extrahovat jen kvantitativně (viz úloha 5.1.) a pracovat pečlivě.

**Pracovní postup:** Odměřené množství surového extraktu vhodné zředte acetonem a v 1 cm květlé změřte absorpční při 663 nm a 645 nm. Koncentraci v  $\text{mg.l}^{-1}$  rozpouštědla pro chlorofyl a ( $C_a$ ) a chlorofyl b ( $C_b$ ) vypočítejte podle vztahů:

$$C_a = 12,70 \cdot A_{663} - 2,69 \cdot A_{645}$$

$$C_b = 22,90 \cdot A_{645} - 4,68 \cdot A_{633}$$

Celková koncentrace obou barviv je dána vztahem:

$$C_a + C_b = 8,02 \cdot A_{663} - 20,20 \cdot A_{645}$$

Nalezená množství obou chlorofylů a b vyjádřete v  $\text{mg/g}$  čerstvé hmotnosti biologického materiálu, resp. v procentech.

### 6. CHROMATOGRRAFIE KAROTENOIDŮ NA TENKÉ VRSTVĚ

Karotenoidy jsou rostlinná barvíva rozpustná v tučích a chemicky patří do skupiny přirozených isoprenoidů. Je jimi způsobena barva mléčve (karoteny), rajských jablíček (lykopen), šípku nebo třeba paprik. Vyskytují se však i v zelených částech rostlin.

Extrakt z papriky obsahuje vedle karotenu volné a estericky vázané xanthofyly (to jsou hydroxyderiváty karotenů). Charakteristické jsou zejména oranžově-červená barvíva kapsanthin a kapsobutrin, která se eluují teprve polárnějšími rozpouštědly.

**Chemikálie a činidla:** lékařský benzín, směs benzín-benzen 4:1 a směs benzín-benzen 1:1, voda.

**Pomůcky a materiál:** suchá červená paprika nejlépe feferonka, porcelánová třecí miska s tloučkem, skleněné kapiláry (silnějšího průměru) vylážené z tenkosíťné trubice z lehkotavitelného skla, ruční odstředivka se dvěma zkumavkami, porcelánová miska, chromatografická vana s krycí skleněnou deskou, preparační jehla, hodinky s sekundovou ručičkou, chromatografické desky Silufol, ponorný vaňič, kádinka o objemu 250 ml, nůžky, žiletka.