

Laboratorní cvičení č. 2

1. Důkaz redukujících monosacharidů (Fehlingův test)

Princip

Sladká chuť ovoce je důsledkem přítomnosti glukózy a fruktózy v buněčné šťávě. Glukóza a fruktóza jsou monosacharidy s aldehydovou funkční skupinou, díky které mají redukční vlastnosti. Přidají-li se k roztoku těchto cukrů snadno redukovatelné látky, dojde k oxidaci aldehydové skupiny na karboxylovou skupinu, přidané činidlo je redukováno, což se podle typu činidla projeví změnou barvy nebo vznikem sraženiny.

Při vzniku Fehlingova činidla dochází nejprve k reakci mezi $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a NaOH , kdy vzniká světle modrá sraženina hydroxidu měďnatého, která je v nadbytku rozpustná za vzniku komplexu Cu^{2+} s vinanem. V případě přítomnosti redukujícího cukru dochází k oxidaci aldehydické či ketonické skupiny na daném cukru a zároveň k redukci Cu^{2+} na Cu^+ . Tento jev můžeme pozorovat jako změnu zbarvení – z modré na oranžovou či červenou až hnědočervenou.

Sacharóza je disacharid, který je tvořen glukosou a fruktosou, které jsou spojeny glykosidickou vazbou. Aldehydické skupiny (přesněji poloacetalové hydroxyly), které by se mohly redukovat, jsou zapojeny do glykosidické vazby, a proto patří sacharóza mezi neredukující cukry, a tudíž s Fehlingovým činidlem nereaguje. Ve zkumavce můžeme pozorovat pouze modré zbarvení Fehlingova činidla.

Materiál a pomůcky

Jablečná šťáva, glukóza, sacharóza, Fehlingovo činidlo (Fehlingovo činidlo I – roztok $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; Fehlingovo činidlo II – vinan sodno-draselný (Seignettova sůl), NaOH), sada zkumavek, stojan na zkumavky, kapátko, destilovaná voda, kahan, zápalky, držák na zkumavky.

Postup

Nejprve si připravte roztok Fehlingova činidla slitím 5 ml Fehlingova činidla I a 5 ml Fehlingova činidla II. V první zkumavce rozpust'ete tři čtvrtě malé lžičky glukosy v 5 ml vody. Ve druhé zkumavce rozpust'ete tři čtvrtě malé lžičky sacharosy v 5 ml vody. Do třetí zkumavky nalijte 5 ml šťávy z pomeranče. Do každé zkumavky přidejte vždy 1 ml směsi Fehlingova činidla I a II a zahřejte zkumavku v plameni kahanu. Pozorujte změnu zbarvení ve zkumavkách v závislosti na jejich obsahu.

2. Důkaz celulózy

Princip

Celulóza je stavební polysacharid, tvoří hlavní složku buněčných stěn. Molekuly celulózy jsou tvořeny dlouhými nerozvětvenými řetězci β -glukózových jednotek. Makromolekuly se dále spojují vodíkovými můstky do micel a mikrofibril a vytváří buněčnou síť. Volná místa jsou pak vyplněna hemicelulózami a pektiny. Uspořádání mikrofibril v buněčné stěně určuje

směr růstu buňky. Celulóza je ve vodě nerozpustná. Téměř samotnou celulózou jsou tvořeny buněčné stěny trichomů semen bavlníku srstnatého (*Gossypium hirsutum*) – bavlna, vata. Celulóza sama se jódem nebarví, na rozdíl od škrobu nedochází po přidání Lugolova roztoku ke změně zbarvení. Celulózu lze dokázat reakcí s chlorzinkjódem. Reakce je založena na tom, že chlorid zinečnatý obsažený v činidle působí částečnou přeměnu celulózy, její produkty pak dávají s jódem modré zbarvení.

Materiál a pomůcky

Bavlněné vlákno, Lugolův roztok, chlorzinkjód, Petriho misky.

Postup

Na jeden vzorek celulózových vláken kápněte Lugolův roztok, na druhý chlorzinkjód. Porovnejte zbarvení.

3. Pozorování krystalů inulinu

Princip

Škrob není jediným zásobním polysacharidem, který se v rostlinách vyskytuje. Dalším z polysacharidů se zásobní funkcí je inulin. Inulin nalezneme rozpuštěný v buněčné šťávě rostlin zejména z čeledi hvězdicovitých (*Asteraceae*) a zvonkovitých (*Campanulaceae*). K důkazu jeho přítomnosti je třeba rozpuštěný inulin vysrážet etanolem do podoby vrstevnatých sférokrytalů.

Materiál a pomůcky

Hlíza jiřinky proměnlivé (*Dahlia variabilis*) naložená minimálně 14 dní v etanolu, glycerol, preparační souprava, podložní a krycí sklíčko, mikroskop.

Postup

Připravte mikroskopický preparát z tenkých řezů rostlinného materiálu, místo vody použijte glycerol (díky jeho optickým vlastnostem budou krystaly lépe pozorovatelné). Mikroskopujte při vhodném zaclonění. Zakreslete.

4. Důkaz tuků

Princip

Tuky jsou významnými rezervními látkami. Jsou nepostradatelné i jako složka semipermeabilních cytoplazmatických membrán. Vznikají druhotně z cukrů. Nachází se téměř ve všech buňkách a téměř u všech rostlin. Hojně se vyskytují v semenech rostlin z čeledi tykvovitých (*Cucurbitaceae*), lnovitých (*Linaceae*), brukvovitých (*Brassicaceae*), makovitých (*Papaveraceae*). Mají vysokou energetickou hodnotu a jsou rozkládány v době klíčení. Tuky jsou estery glycerolu a mastných kyselin (kyselina palmitová, stearová, olejová). Konzistence tuku záleží na tom, která mastná kyselina se podílí na jeho tvorbě. Převládá-li kyselina

olejová, vyskytují se v rostlinách tekuté oleje (řepkový, ricinový, lněný, slunečnicový). S barvivem Sudan III dávají tuky charakteristické červené zbarvení, které je mikroskopicky patrné v semenech jako červené tukové kapénky.

Sudan III je červené azobarvivo, které je rozpustné v tucích a olejích, chemicky s tuky nereaguje, pouze se v nich rozpouští. Sudan III je omezeně rozpustný v etanolu, ve vodě se nerozpouští (používáme etanolový roztok Sudanu III). Při styku s tuky nebo oleji přechází část barviva z etanolového roztoku do míst, kde je obsažen tuk či olej. Přebytečné barvivo lze vymýt z okolí tukových kapének promytím preparátu v čistém etanolu (slabě polární organické rozpouštědlo).

Materiál a pomůcky

Nažky slunečnice roční (*Helianthus annuus*), etanolový roztok barviva Sudan III, 70 % etanol, glycerol, preparační souprava, podložní a krycí sklíčka, mikroskop.

Postup

Připravte příčné řezy nažkami slunečnice a umístěte je na podložní sklíčko do několika kapek barviva Sudan III. Po několika minutách řezy opláchněte etanolem, vložte do kapky glycerolu (díky jeho optickým vlastnostem budou kapénky lépe pozorovatelné), zakryjte krycím sklíčkem a mikroskopujte. Zakreslete.