

Laboratorní cvičení č. 3

1. Důkaz vitamínu C

Princip

Vitamín C (kyselina L-askorbová) je syntetizován v různých druzích a částech rostlin. Ve velkém množství se vyskytuje především v listech a v některých plodech.

Po chemické stránce jde o silné redukční činidlo. Těto vlastnosti lze využít k důkazu přítomnosti vitamínu C v různých látkách. Principem důkazu je zjištění přítomnosti nějaké látky vyredukované působením vitamínu C. Jedním z možných důkazů je zjištění vyredukovaného elementárního stříbra z roztoku dusičnanu stříbrného. Stříbro je patrné jako perleťová až černá sraženina.

Materiál a pomůcky

Rostlinná šťáva (džus), roztok Celaskonu (synteticky vyrobený vitamín C), roztok kyseliny citronové, 5 % roztok dusičnanu stříbrného, zkumavky, odměrný válec, v případě potřeby kahan.

Postup

Do jednotlivých zkumavek nalijte po 2 ml rostlinné šťávy, roztoku Celaskonu, roztoku kyseliny citronové a vody. Do všech zkumavek přidejte 3 ml roztoku dusičnanu stříbrného. Umístěte na 1 hodinu do temna. Pokud po uplynutí této doby nedojde k reakci, můžete zkumavky opatrně zahřát nad kahanem.

Pozorujte, ve kterých roztocích došlo k vyredukování stříbra, své pozorování zdůvodněte.

2. Důkaz kofeinu

Princip

Alkaloidy jsou významnou skupinou rostlinami syntetizovaných látek. Vznikají jako produkty metabolismu aminokyselin v některých rostlinách např. z čeledi lilkovitých (*Solanaceae*), liliovitých (*Liliaceae*), makovitých (*Papaveraceae*) a dalších. Jsou to organické sloučeniny zásaditého charakteru s jedním nebo několika heterocyklickými dusíkovými atomy v molekule.

Alkaloidy plní v rostlině především ochrannou funkci, odpuzují býložravce, lákají opylovače. Často jsou to vysoce toxické látky používané v lékařství, některé řadíme díky účinkům na centrální nervovou soustavu mezi drogy. Mezi nejznámější alkaloidy patří nikotin, kokain, morfin, atropin nebo kofein (v čaji někdy nazývaný thein).

Alkaloidy jsou nerozpustné ve vodě, rozpouští se v nepolárních rozpouštědlech a také snadno sublimují. Tyto vlastnosti lze využít pro důkaz přítomnosti alkaloidů v rostlinách.

Materiál a pomůcky

Mletá káva (plody kávovníku, *Coffea* sp.), mletá bezkofeinová káva, čajové lístky (čajovník čínský, *Camellia sinensis*), podložní sklíčka, kahan, trojnožka, síťka, vata, mikroskop.

Postup

Na síťku položte vedle sebe tři podložní sklíčka, na každé umístěte špetku analyzovaného materiálu (káva, bezkofeinová káva, čaj). Z dalších podložních sklíček vytvořte nad analyzovaným materiálem komůrku. Na jeden konec každého podložního sklíčka položte napříč dvě podložní sklíčka, nahoru položte čtvrté sklíčko šikmo přes zkoumaný materiál tak, aby se ho nedotýkalo. Vatový tamponek navlhčete studenou vodou a položte ho na horní podložní sklíčko (horní sklíčka díky tomu zůstanou chladná, vysublimovaný kofein se na nich bude dobře srážet).

Opatrně zesponu kahanem zahřejte (pozor, nesmí dojít k připálení kofeinu na horním sklíčku). Po ochlazení podložních sklíček pozorujte vysublimované krystalky mikroskopem bez použití krycích sklíček.

3. Důkaz bílkovin biuretovou reakcí

Princip

Bílkoviny (proteiny) jsou organické makromolekulární látky tvořené aminokyselinami spojenými peptidickou vazbou. Struktura bílkovin je důležitá pro jejich funkci. Primární struktura bílkoviny je dána pořadím jednotlivých aminokyselin v řetězci, sekundární struktura pak prostorovým uspořádáním aminokyselin a jejich stabilizací vodíkovými můstky. Terciární struktura je definována dalšími intermolekulárními vazebnými interakcemi (disulfidické můstky, iontové vazby, van der Waalovy síly). Kvarterní struktura vzniká u bílkovin tvořených více polypeptidickými řetězci, jsou to vzájemné extramolekulární vazebné interakce.

V živém organismu se bílkoviny nachází v nativním stavu, který charakterizuje určitá prostorová struktura bílkovinné molekuly. Rozrušení tohoto stavu se nazývá denaturace. Denaturací bílkovin se mění jejich chemické, fyzikální a biologické vlastnosti. K denuraci bílkovin dochází při stárnutí organismu, lze jí dosáhnout také např. změnou pH nebo zahřátím.

Bílkoviny jsou základní složkou protoplazmy, tvoří podstatu enzymů, podmiňují metabolismus buňky a tím i celý život rostliny.

Peptidické vazby bílkovin v alkalickém prostředí reagují s měďnatými ionty za vzniku červeného až fialového zbarvení.

Materiál a pomůcky

Hlíza lilku bramboru (*Solanum tuberosum*), 20 % hydroxid sodný (NaOH), 1 % síran měďnatý (CuSO₄), destilovaná voda, struhadlo, gáza, filtrační papír, Petriho miska, kádinka, Erlenmeyerova baňka, nálevka, odměrný válec, zkumavka, kapátko.

Postup

Hlízu bramboru nastrouhejte, pomocí gázy vylisujte šťávu a tu pak zfiltrujte. Ke 2 ml takto vzniklého bílkovinného extraktu přidejte 2 ml hydroxidu sodného a opatrně protřepte. Nakonec přikápněte několik kapek síranu měďnatého. Jako kontrolní vzorek odměřte do druhé zkumavky 2 ml destilované vody, přidejte 2 ml hydroxidu sodného a několik kapek síranu měďnatého. Pozorujte, k jakým změnám v roztocích dochází.

4. Mikroskopické pozorování karotenu

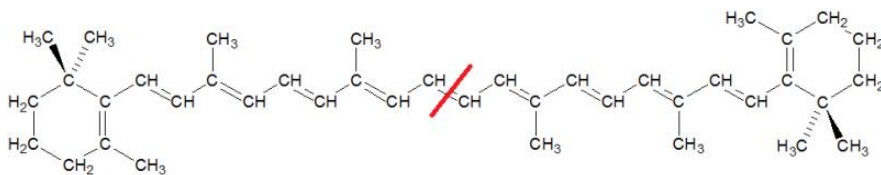
Princip

Karoteny spolu s xantofyly jsou rostlinná barviva červené a žluté barvy, patří mezi karotenoidy. Karotenoidy jsou po chemické stránce deriváty izoprenu, izoprenoidy.

Karoteny se v rostlinách hromadí v chloroplastech a chromoplastech. V chloroplastech doprovází chlorofyl a účastní se také fotosyntézy. Přítomnost karotenů v rostlinných částech lze odhadnout podle zbarvení, orgány s větším množstvím karotenů mají oranžovou až červenou barvu. Karoteny v nadbytku obsažené v rostlinných buňkách krystalizují v podobě červených destiček a jehlic, které jsou v mikroskopu dobře pozorovatelné.

Štěpením některých karotenů (např. β -karotenu) získávají živočichové vitamín A.

Obr. 1 Molekula β -karotenu, červenou čarou je naznačeno štěpení na dvě molekuly vitamínu A



Materiál a pomůcky

Kořen mrkve obecné (*Daucus carota*), podložní a krycí sklíčka, preparační souprava, mikroskop.

Postup

Připravte mikroskopický preparát příčného řezu kořenem mrkve. Pozorujte a zakreslete krystalky karotenu.