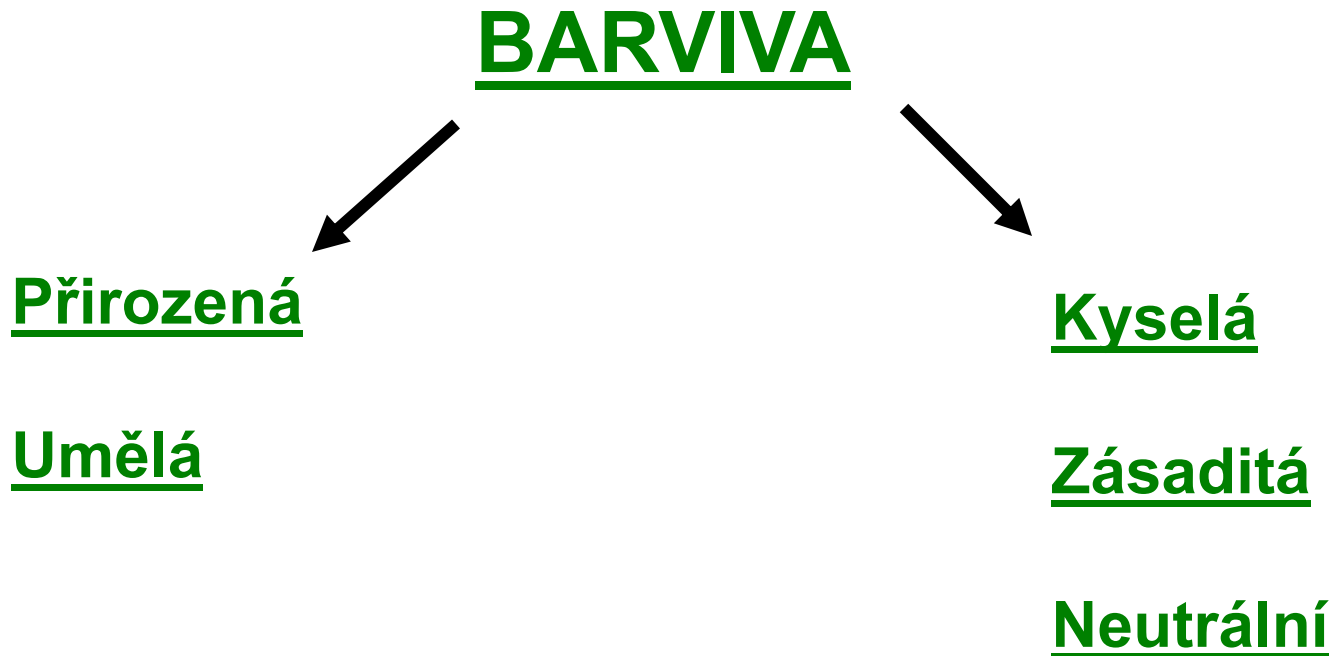


BARVENÍ TRVALÝCH PREPARÁTŮ

je biochemická metoda, kterou se přidá k objektu specifická barvicí látka (barvivo). V biologii slouží k prokázání výskytu (kvalifikaci) nebo množství (kvantifikaci) specifické látky ve zkoumané tkáni nebo k obarvení celých struktur a objektů.



Přirozená barviva:

hematoxylin - extrakt z kampešky čínské (*Haematoxylon campechianum*)

- bazické barvivo (barví jádra buněk)

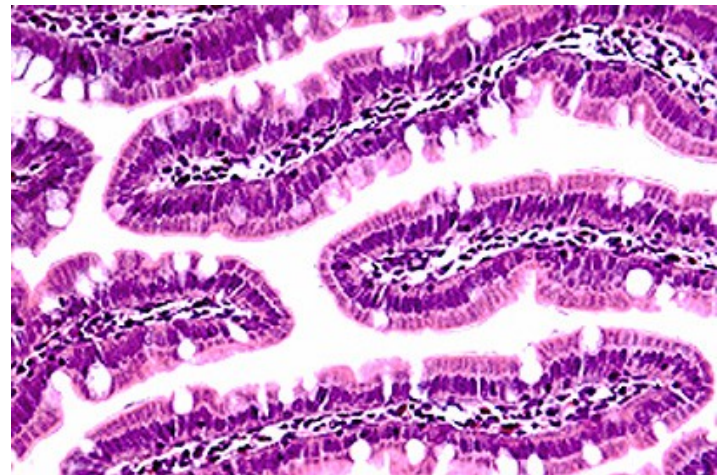
- Král histologických barviv
- po nabarvení nutno vypírat ve vodovodní vodě
- fialová barva objektů
- krátká doba barvení histologických řezů – přibližně 10'
- nebarví přímo, ale až po oxidaci na hematein
- samovolně na vzduchu „zraje“ několik týdnů až měsíců
- přidávají se oxidační činidla (jodičnan sodný)
- hematein má slabou afinitu ke tkáním, proto se musí použít mořidla (soli AL, Fe) – různé druhy hematoxylinů
- barví barevný lak hemateinu



Kamencové hematoxyliny (síran hlinito-draselný) - např. Harrisův, Mayerův

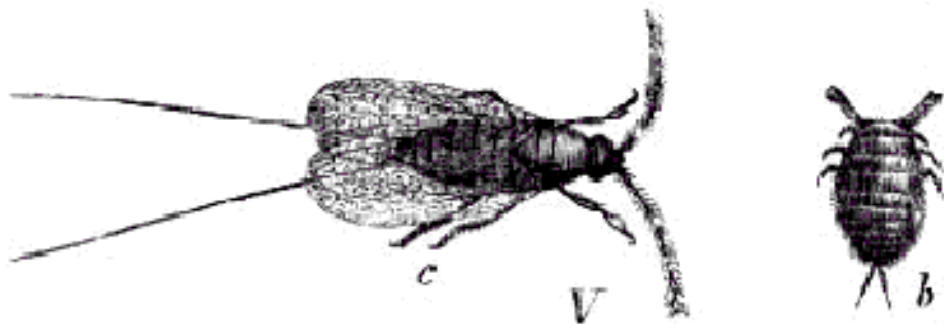
Železité hematoxyliny (síran železito-amonný) – např. Heidenhainův

Kampeškové dřevo je barevné dřevo tropických stromů čeledi sapanovité. Z vnějšku je modročené, uvnitř červenohnědé. Dřevo obsahuje až 12 % hematoxylinu.



Přirozená barviva:

- **karmín** - extrakt ze samic nopálovce karmínového - *Dactylopius coccus* (synonymum červená nopálová - *Coccus cacti*) - bezické barvivo, košenila



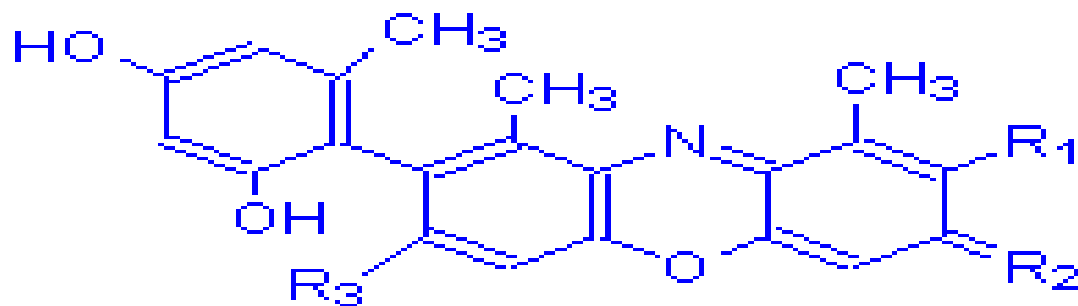
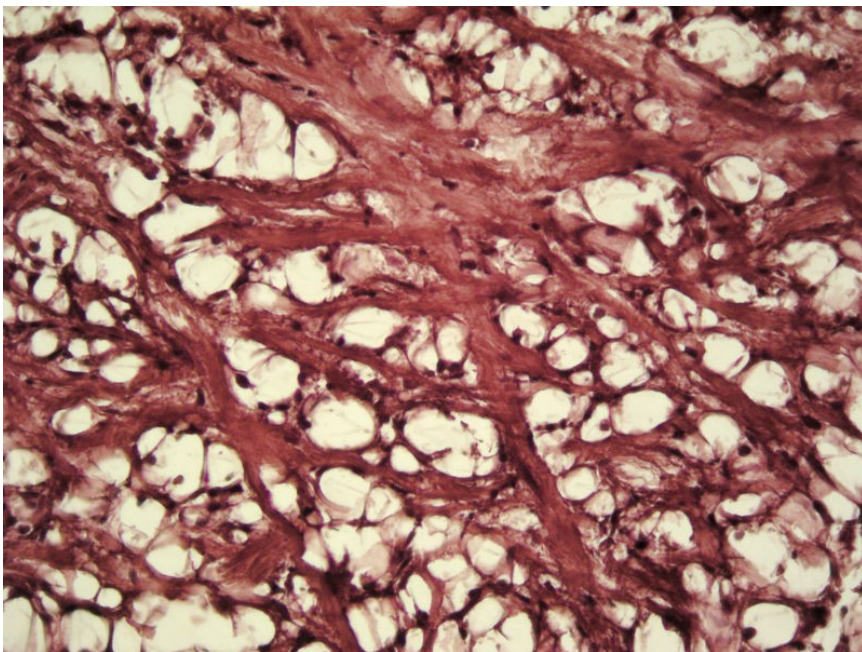
K barvení totálních preparátů – až 12 hodin



- Karmínové barvivo neboli košenila se získává ze sušených těl samic červce nopálového.
- Původním domovem červce nopálového je Peru. Tam bylo objeveno i tajemství výroby košenily. Dnes se tento červec pěstuje i v Mexiku, Guatemale, Chile, Bolívii a dalších jihoamerických zemích.
- V roce 1532 bylo do španělského Cádizu dovezeno osm opuncí i s koloniemi červců nopálových. Krátce poté dostal Cádiz zvláštním královským dekretem povolení k výrobě košenily. V polovině devatenáctého století se červec nopálový rozšířil na Kanárské ostrovy, zejména na Lanzarote, kde jsou pro opuncie i červce velmi vhodné klimatické podmínky. V roce 1870 se už exportovalo z Kanárských ostrovů 3000 tun košenily. Přírodní karmínové barvivo je dodnes žádaným zbožím na celém světě, i když ho stále více nahrazují barviva uměle vyráběná. Používá se v parfumerii (rtěnky nejlepších značek), v potravinářství pro přibarvování nápojů zejména alkoholických (například červeného martini), cukrovinek, jogurtů, ve farmacii (homeopaticky se červci předepisují při kašli, astmatu a bronchitidě) a také v textilním průmyslu.
- Získat košenilu není jednoduché. Jsou k tomu třeba doslova lány vzrostlých opuncí (*Nopalea coccinellifera*), které jsou schopny přežít útoky mnoha generací červců. Vývoj červců je třeba pozorně sledovat a ve vhodnou dobu samičky sbírat štětkou na dlouhé násadě do plátěných sáčků. Jsou jich miliony.
- Hlavním barvivem, které samičky červce obsahují, je **kyselina karmínová**. Ta tvoří až dvacet procent jejich hmotnosti. Barvivo může být nejrůznějších odstínů a je velmi kvalitní. Sesbíraný hmyz se okamžitě suší, protože jen tak si uchová výrazné karmínové barvivo. Prodává se buďto sušený k dalšímu zpracování, nebo jako už zpracované barvivo.

Přirozená barviva:

- **orcein** - extrakt z některých lišejníků



Přirozená barviva:

- **šafrán** - extrakt z blizen šafránu (*Crocus sativus*)
- kyselé barvivo - na kolagen



Přirozená barviva:

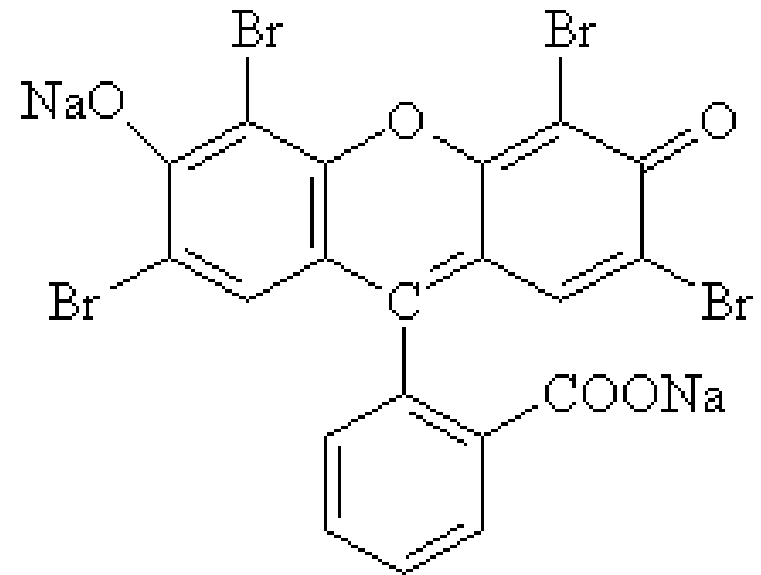
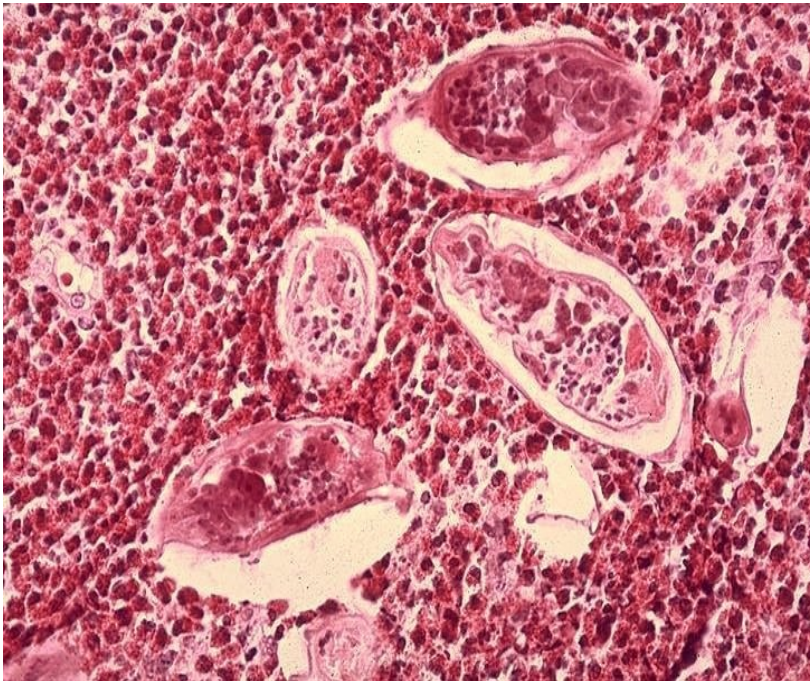
V minulosti bylo užíváno více přirozených barviv, např.:

- indigokarmín (z kořenů tropického keře indigovníku)
- berberin - kyselé barvivo (žluté, dřevitá)
- brazilin - bazické barvivo podobné hematoxylinu (ze dřeva Caesalpinia)

Umělá barviva:

A/ XANTINOVÉ DERIVÁTY

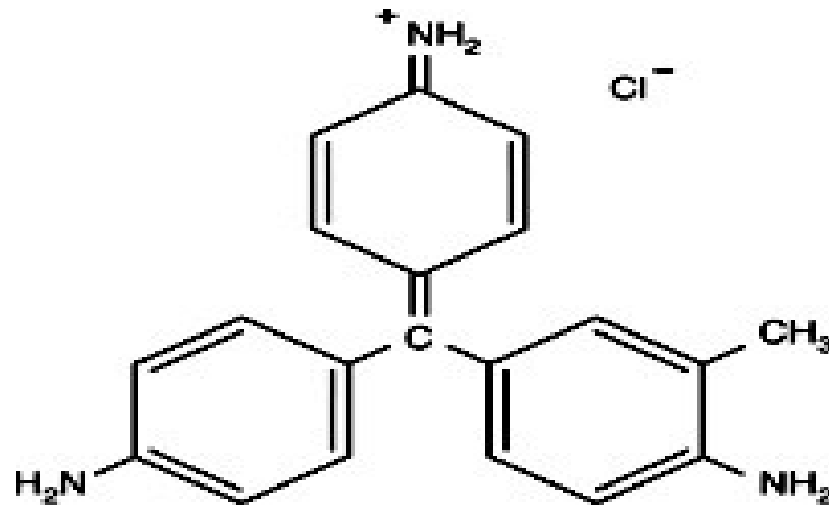
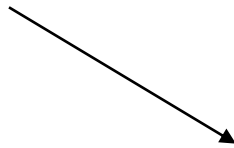
- **eosin** (tetrabrom fluorescein)
 - barví acidofilní složky tkání



Umělá barviva:

B/ TRIFENYLMETANOVÁ BARVIVA

- **bazický fuchsin** - základ i pro další barviva jako jsou Schiffovo reagens, rezorcifuchsin a aldehydfuchsin



- **anilínová modř, světlá zeleň a kyselý fuchsin** - kyselá barviva

Umělá barviva:

C/ THIAZINOVÁ BARVIVA

- thionin, toluidinová a methylenová modř - bazická barviva

D/ AZOBARVIVA

- Janusova zeleň - např. pro supravitální barvení mitochondrií
- olejová červeň a sudanová čerň - barviva na tuky

- **Kyselá**, barvicí plasmu (též plasmatická) - eosin, světlá zeleň, oranž G, kyselý fuchsin,...
- **Zásaditá, basická**, barvicí jádro (též jaderná barviva) - toluidinová modř, metylová zeleň, basický fuchsin, **hematoxylin (vypírání ve vodovodní vodě)**
karmín
- **Neutrální** - např. eosinát methylenové modři.

TYPY BARVENÍ:

progresivní - barvíme až je dosaženo žádaného zbarvení,
regresivní - napřed tkáň přebarvíme, pak přebytečné barvivo odstraňujeme

sukcedánní - několik barviv po sobě,

simultánní - více barviv současně.

- v obou případech musí každé barvivo barvit jinou část tkáně

substantivní - tkáň barvíme přímo barvivem,

adjektivní - barvení prostřednictvím mořidla, které se váže na tkáň

Vitální barvení

Využití mikrovln pro barvení

železitý acetokarmín – barvíme motolice (totální preparáty)
regresivní způsob barvení (přebytečné barvivo se odstraní diferenciací v kyselém alkoholu)

Dicrocoelium dendriticum – žlučovody muflona *Ovis musimon*

- 1. Vyprat fixáž v destilované vodě (30')**
- 2. Vložit do barviva (IAC) nejlépe přes noc**
- 3. Vyprat barvivo ve vodě**
- 4. Kyselý alkohol (70% alk. : HCl, poměr 99 : 1)
(odbarvování, parenchym musí být světle růžový, doba individuální, pozorovat pod stereoskopem)**

Vzestupná alkoholová řada

70% alkohol (zastaví odbarvování, odvodňuje) – 5 minut

96% alkohol (odvodňuje) 10 – 15 minut

Karbol-xylen (odvodňuje, projasňuje) – 5 minut

Xylen (odvodňuje, projasňuje) – 5 minut

Kanadský balzám – nejdřív kapka na podložní sklo, rychle přenést objekt, přikrýt krycím sklíčkem)

70% – kyselý alk – 70% - 96% – k-x, x, KB