

**POKUSY Z CHEMIE I PRAKTICKÉHO ŽIVOTA
A EXPERIMENTY S MIKROVLNNOU
TROUBOU**

Renata Šulcová a Hana Böhmová



Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

2007

Laboratorní experimenty s přírodními látkami

1. Identifikace tuku v potravinách

Zadání: Zjistěte, zda je v použitých potravinách přítomen tuk.

Chemikálie: roztok Sudanu III v ethanolu, ethanol, vzorky olejnatých plodů (slunečnicová a dýňová semínka, ořechy), máslová sušenka, kvasnice

Pomůcky: filtrační papír, nůžky, 2 kádinky, třecí miska s tloučkem

Postup:

Filtrační papír nastříhejte na čtverce asi 4 x 4 cm. V jejich středu pak rozmáčkněte vzorek (např. jádro ořechu, kvasnice rozetřené s křemenným pískem), odstraňte zbytky materiálu a příp. papír osušte. Všimněte si, zda na papíře zůstala „mastná skvrna“. Papírky pak namočte na 2 minuty do roztoku Sudanu III, poté je vyjměte a proplachujte v kádince s čistým ethanolom, dokud se nevymyje přebytečné barvivo. Pokud byly ve vzorku přítomné lipidy, bude v místě aplikace červená skvrna.

2. Vlastnosti tuků

Zadání: Zjistěte, zda je v použitých potravinách přítomen tuk.

Chemikálie: 1,2-dichlorethan, 5% roztok bromu v 1,2-dichlorethanu, 5% roztoky olejů, sádla a přepuštěných másel a tuků v stejném rozpouštědle (lze použít i např. chloroform, ale pozor na nebezpečnost!), konc. H_2SO_4 , acetanhydrid

Pomůcky: kádinky, sada zkumavek s označením, kapátka

Postup:

A. Stupeň saturace tuků

Titrujte 10 kapek 5% roztoku zkoumaného tuku v 1,2-dichloethanu v mikrozkušavce po kapkách bromovým roztokem Br_2 v 1,2-dichlorethanu (4 ml Br_2 v 250 ml rozpouštědla), dokud se barva nepřestane měnit. Porovnejte počet kapek potřebných k titraci vzorků. Seřadte použité tuky podle stupně saturace (nasycení dvojných vazeb). Vysvětlete, jak souvisí saturace se zdrojem a skupenstvím tuku.

Kvalitativní provedení: 5 ml rostlinného oleje s pěti kapkami jódové tinktury protřepejte, přidejte škrobový maz.

B. Liebermannův-Buchardův test na obsah sterolů (cholesterolu)

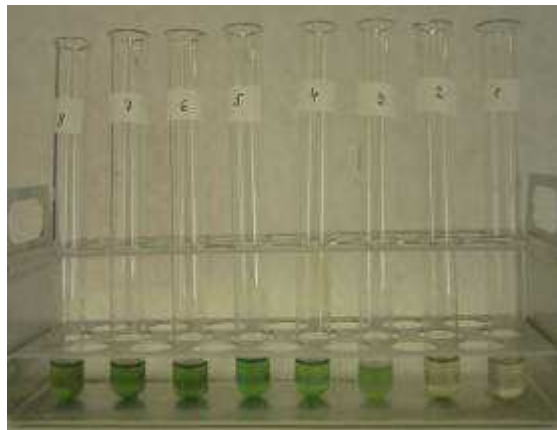
K 10 kapkám roztoku tuku ve zkumavce přidejte 3 kapky acetanhydridu a 1 kapku konc. H_2SO_4 . Test je pozitivní, pokud se do několika minut (max. 10 minut) objeví zelené zbarvení; podle jeho intenzity lze posoudit obsah cholesterolu. Vytvořte škálu tuků podle obsahu cholesterolu a jiných sterolů (= hnědé zbarvení směsi ostatních sterolů a fytoosterolů).

Pozorování a vysvětlení:

Vyšší spotřeba bromu odpovídá většímu množství násobných vazeb. Pozorujeme ji u rostlinných olejů obsahujících nenasyčené mastné kyseliny, které jsou též příčinou zvýšené tekutosti. Ztužené rostlinné tuky (po hydrogenaci násobných vazeb) a tuky živočišného původu mají vysoký stupeň saturace, spotřeba bromu je nízká a skupenství pevné.

Modré zbarvení jodškrobové reakce po přidání oleje mizí v důsledku adice I_2 na nenasyčenou mastnou kyselinu.

Škála živočišných tuků podle obsahu cholesterolu:

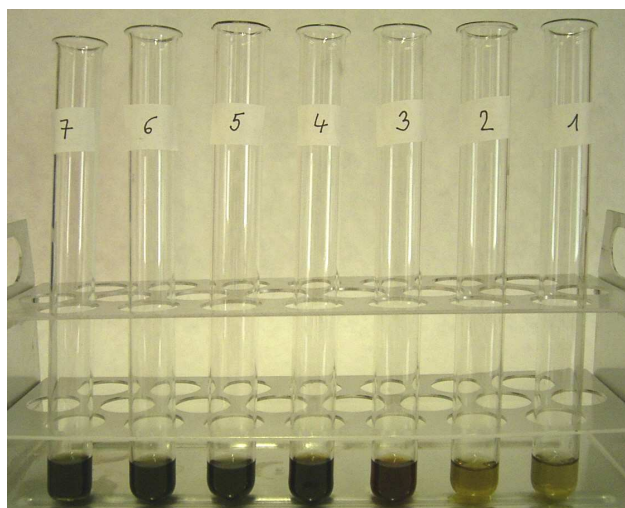


1. Škvařené vepřové sádlo
2. Madeta jihočeské AB
3. Pomaz. sádlo se škvarky
4. Máslo olešnické čerstvé
5. Čerstvé máslo (Poděbrady)
6. Šumava tradiční máslo
7. Máslo Dr. Halíř (Stříbro)
8. Jihočeské nedělní máslo

obsah
cholesterolu



Škála rostlinných tuků podle obsahu fytosterolů:

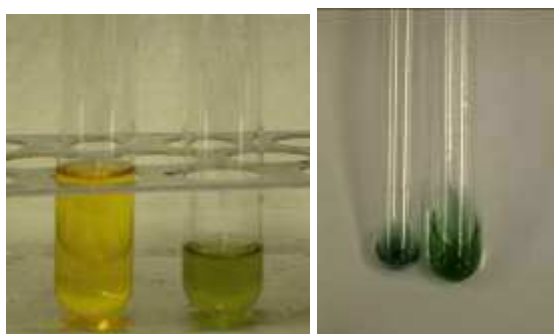


1. Extra virgine olive oil
2. Ceres Soft (Setuza)
3. Omega (Setuza)
4. Hera (Bratislava)
5. Perla Plus (Praha)
6. Flóra (Praha)
7. Floriana – slunečnicový olej (Praha)





vzorky tuků, výsledek testu na steroly



extrakty žloutku, výsledek testu na steroly

3. Vitamin C v ovoci a zelenině

Zadání: Experimentálně ověřte přítomnost vitamínu C ve vzorcích ovoce a zeleniny.

Chemikálie: 5% roztok chloridu železitého, 5% roztok hexakvanoželezitanu draselného, tableta Celaskonu, vzorek jablka, citrónu, cibule, mrkve, brambory apod.

Pomůcky: třecí miska s tloučkem, filtrační kruh, nálevka, filtrační papír, zkumavka

Postup:

Rozetřete asi 5 g vzorku v 5 ml destilované vody v třecí misce a směs přefiltrujte do čisté zkumavky. K filtrátu přidejte asi 2 ml roztoku chloridu železitého a potom stejný objem roztoku hexakvanoželezitanu draselného. Zaznamenejte barevné změny ve zkumavce, porovnejte výsledky u použitých vzorků ovoce a zeleniny s kontrolním vzorkem – Celaskonem. Popište chemický průběh důkazu, eventuálně запиšte chemickou rovnici reakce.

Kvantitativní určení množství vitamínu C v nápojích (námět):

Chemikálie: tablety Celaskonu, 0,1% roztoky vitamínu C (jablečný a pomerančový džus, limonáda, šťáva z kompotu), 6M kyselina octová, roztok I_2 (0,125% I_2 , 1% KI), 1% roztok škrobu

Pomůcky: titrační baňky, byreta, pipeta, milimetrový papír.

Postup:

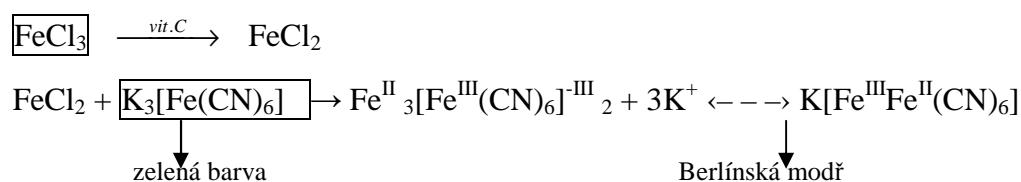
Pro titraci se používá roztok jodu v KI a detekuje se pomocí reakce jodu se škrobem (vznik modrého zbarvení v bodě ekvivalence).

Nejprve si studenti připraví kalibrační křivku pomocí titrace standardu (Celaskon, raději „nerozpustný“): do 125 ml titrační baňky odpipetovat 25 ml standardu o známé koncentraci, přidat 2 ml 6M kyseliny octové a 3 ml 1% škrobu. Pomocí byrety titrovat a zaznamenat spotřebu. Poté zakreslit titrační křivku.

Pro vlastní titraci se použije přefiltrovaný jablečný a pomerančový džus, limonáda bez bublin a šťáva z kompotu. Postup stejný jako v případě přípravy titrační křivky, podle spotřeby roztoku jodu odečítáme příslušné koncentrace vitamínu C.

Pozorování a vysvětlení:

Po přidání směsi obou roztoků k vitamínu C se směs zbarví temně zeleně. Časem přechází toto zbarvení na modrozelené. Barevné změny jsou důkazem přítomnosti vitamínu C – redukčního činidla.



zkoumání obsahu vitamínu C v potravinách

4. Vitamin A v potravinách

Zadání: Experimentálně ověřte přítomnost vitamínu A ve vzorcích potravin.

Chemikálie: 1,2-dichlorethan nebo chloroform, zdroje vitamínu A (rostlinný olej, máslo, rybí tuk, vitamín A (Slovakofarma, z lékárny), acetanhydrid, krystalický chlorid antimonitý

Pomůcky: zkumavky s označením A až E, pipeta nebo odměrná zkumavka

Postup:

Připravte 5 zkumavek A až E. Do zkumavky A vpravte tyčinkou kousek másla, do B kapku rostlinného oleje, do C kapku rybího tuku, do D kapku vitamínu A z lékárny, E je určena pro slepý pokus. Do každé zkumavky přidejte 2 cm³ 1,2-dichlorethanu nebo chloroformu. Po vyčeření roztoků přidejte do každé zkumavky 1 kapku anhydridu kyseliny octové a jeden krystalek chloridu antimonitého. Srovnajte vzorky podle intenzity modrého zbarvení – podle koncentrace vitamínu A.

5. Štěpení sacharózy kyselou hydrolyzou

Zadání: Proveďte kyselou hydrolyzu sacharózy. 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 sírová 10% (*3 krystalky kyseliny citronové*), sacharóza (*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 sacharózy rozpustěte ve 100 ml vody, 10 ml roztoku odlijte stranou, do zbytku přidejte 3 kapky kyseliny sírové a směs přiveďte k varu.

Do první zkumavky vlijte 7 ml původního roztoku sacharózy, do druhé 7 ml roztoku povařeného s kyselinou. K oběma vzorkům přidejte 2 ml 10% roztoku NaOH, a zamíchejte. V rychlovarné konvici uvařte 300 ml 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 ml 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.)

Rozhodněte, zda povařením s kyselinou došlo k hydrolyze sacharózy. Svě rozhodnutí vysvětlíte, určete produkty hydrolyzy.

Pozorování a vysvětlení:

Sacharóza je neredukující disacharid tvořený spojením molekul glukózy a fruktózy. Vazba mezi oběma monosacharidy podléhá kyselé hydrolyze, reakcí vzniká směs glukózy a fruktózy, které mají redukční vlastnosti a dávají pozitivní Fehlingovu zkoušku (narozdíl od samotné sacharózy). Tato reakce se též nazývá „inverze sacharózy“ – 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 sacharózy – roztok sacharózy povařený s kyselinou

6. Enzymatické štěpení sacharózy

Zadání: Proveďte enzymatickou hydrolýzu sacharózy 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 nádoby*), skleněná tyčinka (*špejle*), kádinka (*hrneček*), kahan, trojnožka, síťka, zápalky (*malý hrnec a vaříč*), velká kádinka (*velký hrnek*), rychlovarná konvice, mrazák

Postup:

1 lžičku sacharózy rozpustěte ve 100 ml vody.

Do 4 zkumavek nalijte vždy 5 ml roztoku sacharózy. Do všech přisypte na špičku nože sušeného droždí a zamíchejte. Do první zkumavky přilijte 5 – 10 ml 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 mrazáku.*) Čtvrtou zkumavku umístěte do kádinky naplněné teplou vodou z vodovodu.

Do páté – kontrolní – zkumavky nalijte pouze 5 ml roztoku sacharózy. Do šesté – kontrolní – zkumavky nalijte pouze 5 ml 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 ml 10% roztoku NaOH a zamíchejte. V rychlovarné konvici uvařte 300 ml 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 ml 5% roztoku CuSO_4 a zamíchejte (*vzniká modrá sraženina*). Po 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.*)

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

Pozorování a vysvětlení:

Kvasinky z droždí (*Saccharomyces*) metabolizují zkvasitelné monosacharidy na oxid uhličitý, což způsobuje nakypření těsta. Protože sacharóza (řepný cukr) není zkvasitelný cukr, štěpí ji kvasinky pomocí enzymu invertasy na glukózu a fruktózu – teprve tyto cukry jsou pak kvasinkami metabolizovány. Rozštěpení neredukující sacharózy 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 denaturaci enzymu v přítomnosti iontů těžkých kovů. Ve všech těchto případech pozorujeme po Fehlingově zkoušce pouze menší množství redukujících sacharidů. Naopak v teplé vodě pracují kvasinky optimálně.



Fehlingova zkouška (po 1 hodině působení invertasy):

vlevo: roztok sacharózy, suspenze droždí (kontrolní zkumavky)
vpravo: sacharóza s droždím denaturovaným Cu^{2+} , sacharóza s droždím povařená, sacharóza s droždím v mrazáku, sacharóza s droždím v teplé vodě



7. Rostlinné proteázy (demonstrační)

Zadání: Na základě experimentu určete druhy ovoce, které obsahují ve větším množství proteázy, tj. enzymy rozkládající 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, vaříč a lžíce*), tři krystalizační misky (*tři mističky*), párátko

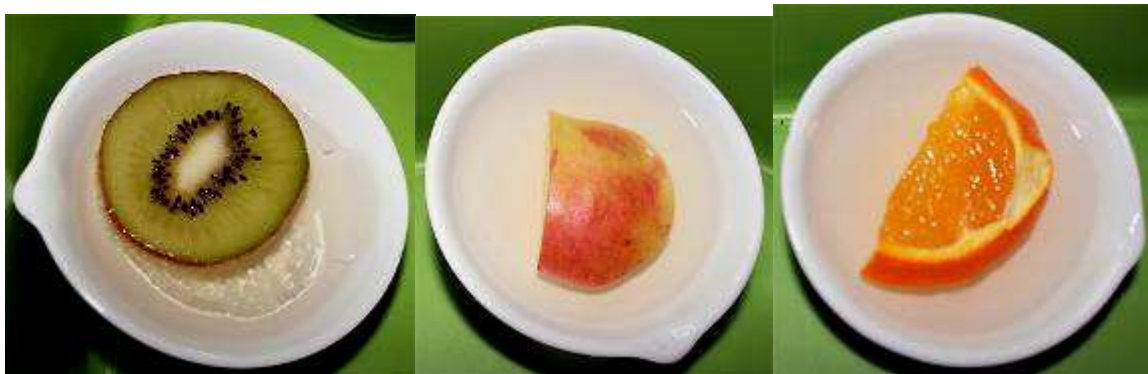
Postup:

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 ml 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.

Pozorování a vysvětlení:

Kiwi a ananas (případně papaja) obsahují větší množství proteáz. Tyto enzymy štěpí bílkoviny přítomné například v maso nebo želatině na kratší řetězce. Po působení enzymu můžeme pozorovat „rozbřednutí“ bílkovinné hmoty – želatina se roztéká.



působení rostlinných proteáz v kiwi: roztékání želatiny (na pravé straně misky)



8. Příprava anthokyanidinů štěpením jejich oligomerů

Zadání: Proved'te 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 ml, 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 ml horké vody a 25 ml suspenze odlijte do kádinky. Pokud použijete kakaový prášek, lžičku prášku rozmíchejte ve 50 ml horké vody, přebytečný prášek nechte usadit a 25 ml hnědé tekutiny slijte do kádinky.

Do kádinky se suspenzí zrníček či kakaového prášku přidejte 10 ml ethanolu a 10 ml 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.

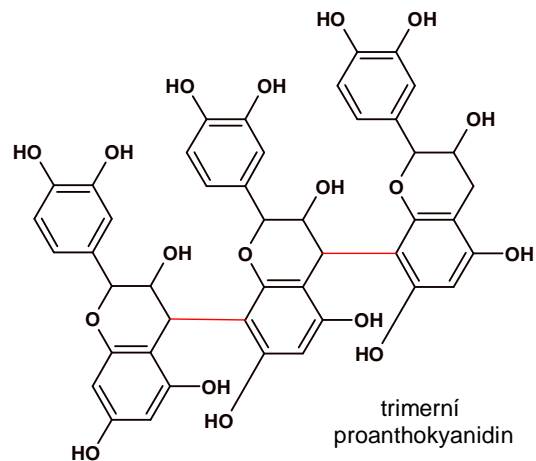
Proved'te zkoušku s původní (nepovařenou) semínkovou drtí či kakaovou suspenzí – do tří zkumavek nalijte vždy 5 ml suspenze, do první přidejte 1 ml 10% hydroxidu sodného, do třetí 1 ml 10% kyseliny sírové. Pozorujte barevné změny.

Proved'te zkoušku s rozštěpenou semínkovou drtí či kakaovou suspenzí – do zkumavky nalijte 7 ml suspenze a přidávejte roztok 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.

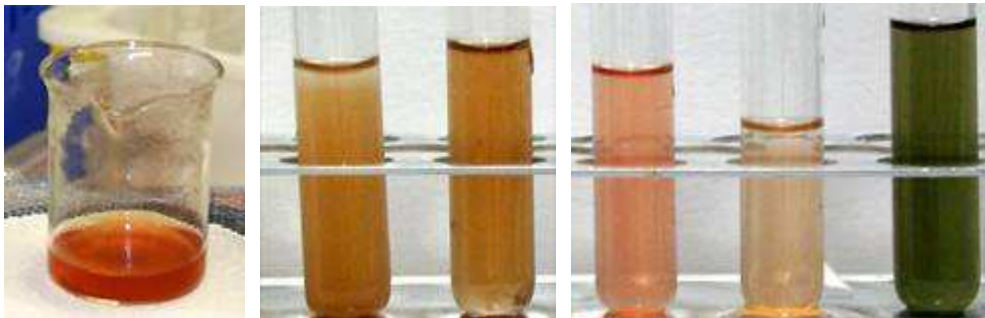
Porovnejte barevné změny původních proanthokyanidinů a produktů jejich štěpení v závislosti na pH. Porovnejte barevné změny produktů v závislosti na pH s barevnými změnami anthokyanidinů z ovoce nebo květů.

Pozorování a vysvětlení:

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).



kakao po reakci - původní kakao v neutrálním a zásaditém prostředí - kakao po reakci v kyselém, neutrálním a zásaditém prostředí



štěpení proanthokyanidinů: pomůcky

9. Fluorescence rostlinných barviv

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

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

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

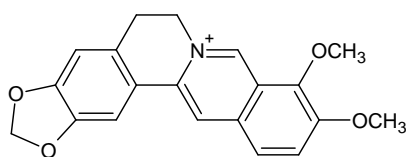
Postup:

Vzorek rostliny vložte do přeloženého kousku filtračního papíru a přes papír 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.

Pozorování a vysvětlení:

Pod UV lampou se objevuje žlutozelená fluorescence žlutooranžového barviva - alkaloidu berberinu.



berberin

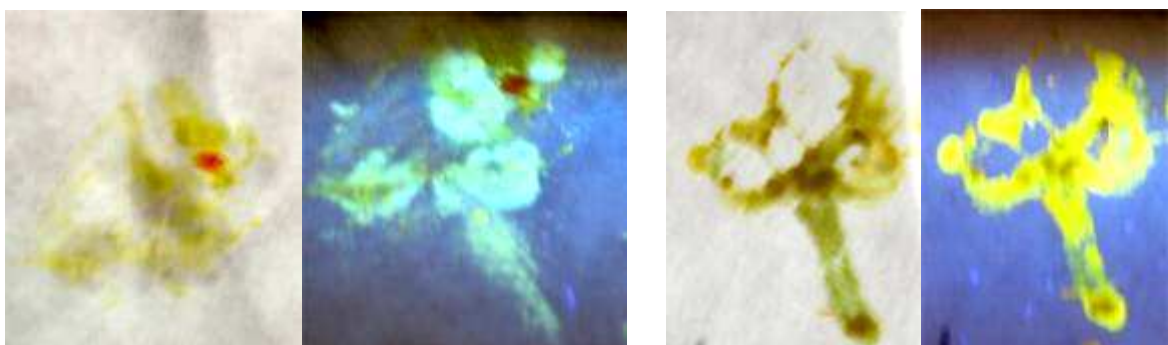
Principem fluorescence je schopnost barviva berberinu pohlcovat UV záření z lampy a jeho energii využít k excitaci molekul berberinu do stavu o vyšší energii. Při návratu zpět na původní energetickou hladinu dochází k vyzáření přebytečné energie ve formě viditelného (v tomto případě žlutého) světla. Obdobné chování pozorujeme u flavonoidů rutinu a kvercetinu (citrusová kůra), velmi intenzivně pak u fixů-zvýrazňovačů.



fluorescence: pomůcky



fluorescence zvyrazňovačů, běžné fixy nefluoreskují



fluorescence pomerančové kůry, fluorescence vlastovičníku

10. Oscilační reakce

Zadání: Pozorujte průběh oscilační redoxní reakce.

Chemikálie: koncentrovaná kyselina sírová, bromičnan sodný, bromid sodný, kyselina malonová, feroin (nebo heptahydrát síranu železnatého a o-fenantrolin)

Pomůcky: Petriho miska o průměru 9 cm, pipeta na 10 ml a 5 ml, odměrný válec 20 ml a 100 ml, váhy, lžička

Příprava roztoků:

Roztok A: Do 67 ml destilované vody přidejte 2 ml koncentrované kyseliny sírové a 5 g bromičnanu sodného. Výsledný roztok by měl mít objem 70 ml.

Roztok B: 1 g bromidu sodného rozpustíte v 7 ml destilované vody, doplňte na objem 10 ml.

Roztok C: 1 g kyseliny malonové rozpustíte v 7 ml destilované vody, doplňte na objem 10 ml.

Roztok D: Roztok feroinu o koncentraci 0,025 mol/l. (Lze připravit i takto: 0,35 g heptahydrátu síranu železnatého rozpustíte ve 40 ml vody a přidejte 0,74 g o-fenantrolinu. Proběhne komplexotvorná reakce, při níž vzniká krvavě červený feroin. Roztok doplňte na objem 50 ml.)

Provedení reakce:

Na Petriho misku odpipetujte 6 ml roztoku A, 0,5 ml roztoku B a 1 ml roztoku C. Výsledkem je intenzivní žluté zbarvení bromu, který vzniká redoxní reakcí (synproporcionací) bromidu a bromičnanu. Roztok promíchejte, dokud žluté zbarvení nezmizí. Pak přidejte 1 ml roztoku D, zamíchejte a pozorujte.

Roztok D (feroin) nesmí být přidán dříve, než žluté zbarvení v Petriho misce zmizí! V opačném případě vznikne sraženina bromderivátu feroinu, která již nebude fungovat jako redoxní indikátor.

Pozorování a vysvětlení:

V Petriho misce se po přidání indikátoru objeví červené zbarvení, které se může časem změnit na modré, případně zpět na červené. Po chvíli se na různých místech začnou vytvářet reakční centra, z nichž se šíří střídavě červené a modré kruhové zóny podobné vrstevnicím. Po zamíchání se směs stane opět jednobarevnou a brzy vzniknou nová reakční centra. Efekt přetrvává po několik hodin. Pokud je pro více diváků možno promítat přes zpětný projektor.

V reakční směsi probíhá více navzájem protichůdných redoxních reakcí. V určitém časovém úseku převažují oxidace (z hlediska redoxního indikátoru), poté naopak redukce, což se projeví změnami zbarvení indikátoru (modrá/červená). Uspořádání experimentu umožňuje převedení časových změn na změny prostorové – zbarvení se nestřídají v čase, ale v různých vzdálenostech od reakčního centra.



šíření oscilačních vln

11. Rostlinná barviva – chromatografie, fluorescence

Zadání: Pomocí chromatografie na tenké vrstvě rozdělte barviva obsažená v zelených listech břečťanu nebo v paprice. Pozorujte fluorescenci barviva chlorofylu.

Chemikálie: aceton, benzín, 2-propanol, ethanol, CaCO₃, jemný písek nebo křemenný prach, čerstvé či sušené listy (pokud možno sytě zelené a nepříliš dužnaté), sušená mrkev nebo paprika.

Pomůcky: desky pro chromatografii na tenké vrstvě (Silufol), vyvíjecí nádoby, skleněné kapiláry (či kapátka), třecí miska s tlučkem, váhy, filtrační kruh, nálevka, filtrační papír (vata), obyčejná měkká tužka, pravítko, nůžky, zkumavky, pinzeta.

Postup:

Extrakce barviv:

Asi 2 g čerstvých či sušených listů (pokud možno sytě zelených a nepříliš dužnatých), nebo sušené mrkve či mleté papriky rozetřete v misce s malým množstvím písku nebo křemenného prachu a přidejte na špičku lžičky CaCO_3 . Větší kusy je vhodné předem nastříhat na malé kousky. K rozmělněnému materiálu přidejte 1 ml acetonu a po chvíli roztírání ještě 5 ml benzínu a důkladně promíchejte. Pozor na otevřený oheň při práci s hořlavinami I. třídy! Vzniklou směs pak přefiltrujte přes skládaný filtr nebo vatou.

! POZOR extrakt by neměl přijít do kontaktu s vodou jinak může dojít k vysrážení barviv!! Proto také nenamáčejte filtr před filtrací do vody !

Pozn.: Většina vyextrahovaných barviv se rozkládá na vzduchu a na světle, pokud je nutné extrakt delší dobu skladovat, je nejlepší dát jej do lednice.

Pozorování fluorescence:

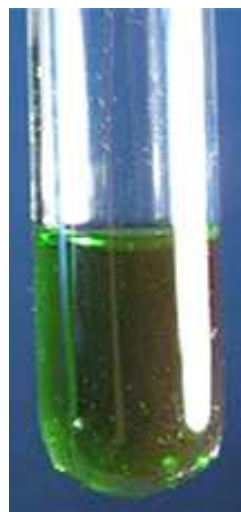
Extrakt pozorujte v procházejícím světle a poté v silném bočním osvětlení, zaznamenejte si barvu roztoku. Barva extraktu je dána převažujícími chlorofyly A a B, ty pohlcují červené světlo, takže po průchodu světla roztokem je červené světlo pohlceno a my vidíme doplňkovou barvu, tedy zelenou. Avšak při pozorování z boku nevidíme světlo prošlé, nýbrž převážně světlo vzniklé fluorescencí (protože je vyzařováno rovnoměrně do všech směrů), a to je v případě chlorofylu červené.

Pozorování a vysvětlení:

Barva extraktu je dána převažujícími **chlorofyly A a B**, ty pohlcují červené světlo, takže po průchodu světla roztokem je červené světlo pohlceno a my vidíme doplňkovou barvu, tedy zelenou.

S funkcí chlorofylu v rostlinách je ovšem podstatně spjata schopnost zachycovat světelné záření, jehož energie je přeměněna na energii chemické vazby při syntéze glukózy. Protože v extraktu chlorofylu nemůže dojít k fotosyntéze, je pohlcené světelné záření opět vyzařeno. Tento jev nazýváme fluorescence, vznikající červené světlo je vyzařováno do všech směrů a můžeme je nejlépe pozorovat při pohledu z boku nebo shora, kde není rušeno silným procházejícím zeleným světlem.

Barva extraktu z listů břečťanu při pozorování přímém a při pohledu z boku:

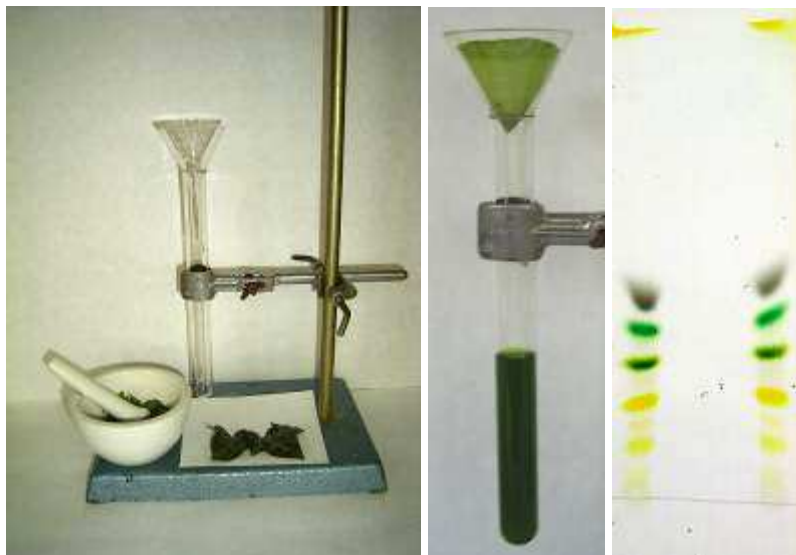


Rozdělení směsi barviv pomocí chromatografie na tenké vrstvě:

Do chromatografické nádoby nalijte směs organických rozpouštědel benzín, 2-propanol a voda v poměru 100:10:0,25, aby hladina rozpouštědla byla asi 0,5 - 1 cm vysoko, a nechte ji uzavřenou stát, aby se vzduch uvnitř nasýtil parami rozpouštědla. Mezitím si připravte chromatografickou desku, na niž asi 2 cm od zdola měkkou tužkou nakreslete startovní čáru. Na čáru pomocí kapiláry (kapátka) naneste dostatečně koncentrovaný extrakt. Na jednu desku lze nanést několik skvrn, ty však musí být navzájem vzdálené alespoň 2 cm. Vysušení skvrn lze urychlit použitím fénu na vlasy či horkovzdušné pistole (teplota desky by neměla překročit 50°C). V případě nižší koncentrace barviv lze extrakt na jedno místo nanést opakovaně. Desku s nanesenými vzorky opatrně vložte do chromatografické nádoby a sledujte průběh dělení. Chromatografii je třeba ukončit dříve, než čelo rozpouštědla dosáhne horního okraje desky. Po vyjmutí desky označte místo, kam až rozpouštědlo doputovalo, a vysušte ji.

Pozorování a vysvětlení:

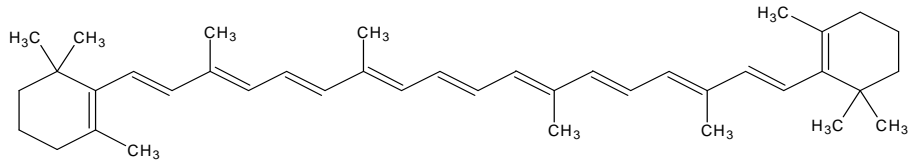
Nejrychleji by se za těchto podmínek měl pohybovat β -karoten, po něm následují: chlorofyl A, (feofytin), chlorofyl B, lutein (xanthofyl), (lutein-5,6-epoxid), (violaxanthin) a (neoxanthin).



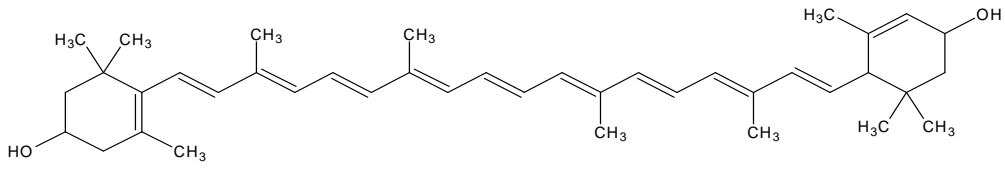
extrakce lipofilních barviv z listů břečťanu, chromatogram (shora: β -karoten, chlorofyl A, chlorofyl B, lutein, lutein-5,6-epoxid, violaxanthin, neoxanthin)



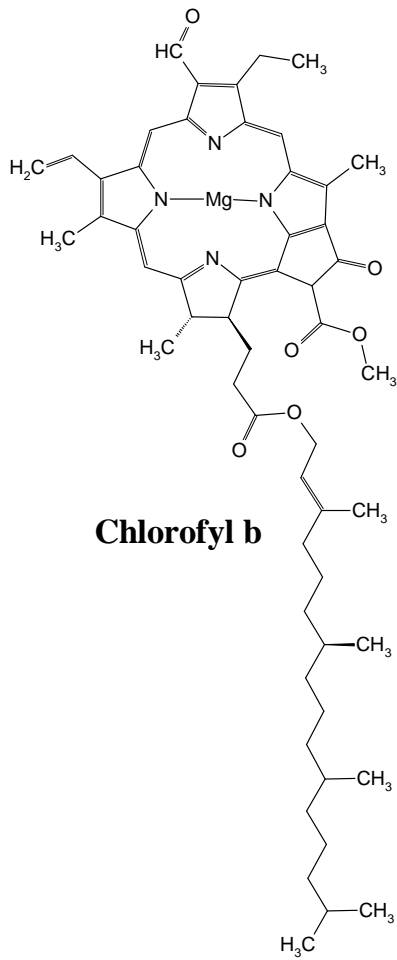
dělení barviv pomocí chromatografie



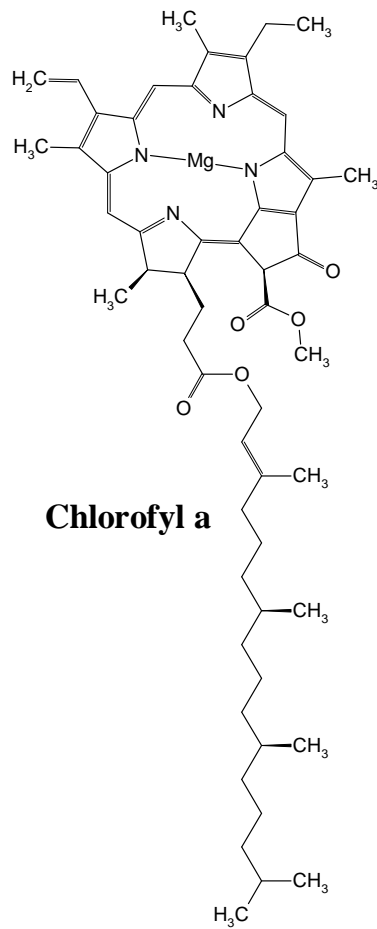
β-karoten



Lutein (Xantofyl)



Chlorofyl b



Chlorofyl a