

Barevné reakce antokyanů

Co nám prozradí barvy?

Obsah

Úvod	2
Cíle.....	2
Teoretický úvod.....	3
Motivace studentů	4
Doporučený postup.....	4
Příprava úlohy.....	5
Materiály pro studenty.....	5
Záznám dat.....	5
Analýza dat.....	5
Syntéza a závěr.....	5
Hodnocení	5
Internetové odkazy.....	6
Pracovní návod.....	7
Zadání úlohy.....	7
Pomůcky	7
Bezpečnost práce	8
Teoretický úvod.....	8

Příprava úlohy (praktická příprava)	8
Postup práce	9
Nastavení HW a SW	10
Příprava měření	10
Vlastní měření (záznám dat).....	10
Analýza naměřených dat.....	10
Pracovní list učitele.....	11
Slovníček pojmů.....	11
Teoretická příprava úlohy	12
Vizualizace naměřených dat.....	12
Vyhodnocení naměřených dat.....	13
Závěr	13
Pracovní list studenta	15
Slovníček pojmů.....	15
Teoretická příprava úlohy	16
Vizualizace naměřených dat.....	17
Vyhodnocení naměřených dat.....	17
Závěr	17

 **Zařazení do výuky**

Práci je vhodné zařadit k učivu fyziologie rostlin po probrání tématického celku „Rostlinná barviva“, kdy jsou již studenti obeznámeni s typy rostlinných barviv a jejich umístěním v buňkách rostlinného těla.

 **Časová náročnost**

Příprava cca **15 min**,
vlastní měření cca **15 min**,
formulace závěru cca **10 min**.

Úvod

V následujícím laboratorním cvičení se studenti seznámí s jedním typem rostlinných barviv – antokyany. S použitím „bezpečných“ chemikálií běžně se vyskytujících v domácnostech zjistí, že tato barviva vypadají jinak v kyselém, jinak v zásaditém a jinak v neutrálním prostředí. Na základě tohoto zjištění budou umět využít antokyany jako přírodní indikátor, podobně jako třeba lakmus. Studenti se pokusí odvodit ekologický význam barevných reakcí antokyanů. Zjištěné skutečnosti aplikují při řešení problémové situace z životní praxe.

Cíle

Studenti by měli zvládnout:

- poznat přítomnost antokyanů v rostlinném orgánu,
- extrahovat antokyany z rostlinného materiálu,
- použít senzor pH sady PASCO pro zjištění pH roztoku a monitorování jeho plynulé změny,
- zjistit, jak antokyany barevně reagují s kyselinami a zásadami,
- usoudit, jaký význam má barevná změna květu pro jeho opylovače,
- aplikovat zjištěné závislosti při řešení problémových otázek z praxe.

Teoretický úvod

V rostlinách se vyskytuje široké spektrum různých barviv. Rozdělujeme je na **hydrochromy** (barviva rozpustná ve vodě) a **lipochromy** (barviva rozpustná v tucích). Hydrochromy se vyskytují v buněčné šťávě vakuol, lipochromy jsou obsaženy v plastidech. Mezi hydrochromy patří antokyany a flavony. Jako **antokyany** (z řec. *ánthos* = květ, *kyáneos* = ocelově modrý) se označují červeně, modře nebo fialově zbarvené bezdusíkaté látky fenolového charakteru. Flavony jsou oxidační produkty antokyanů a mají žlutou barvu.

Antokyany mají v přírodě značné rozšíření. Mohou být obsaženy v kterémkoli rostlinném orgánu. Nejčastěji se vyskytují v květech (např. pomněnka, mák, růže, pivoňka, hořec, zvonek), plodech (např. ptačí zob, černý rybíz, jabloň) a listech (červené zelí, cibule, buk červený).

Tvorbu antokyanů stimuluje účinek slunečních paprsků a do jisté míry i vliv teploty. Důkazem toho jsou červeně zbarvená jablka („líčko“) na straně ozářené sluncem. Také si můžeme všimnout, že rostliny výslunných míst např. některé skalničky (rod netřesk, rozchodník) mají mnohem výraznější červenofialové zbarvení, rostou-li na plném slunci, kdežto v polostínu jsou spíše zelené.

Zvýšení množství antokyanů v listech může souviset též s ochranou proti mrazu, protože tmavší list absorbuje více tepla.

Množství antokyanů v listech se často zvyšuje na podzim, kdy se flavony redukují zpět na antokyany. Je to patrné u dřevin s opadavými listy po zastavení asimilace. Navíc dochází k rozkladu chlorofylu, takže se odhalí ostatní listová barviva do té doby chlorofylem značně překrytá. Tak vzniká obdivované podzimní vybarvení stromů těsně před opadem listů.

Antokyany mění zbarvení podle pH prostředí: v kyselém jsou zbarvené červeně, v zásaditém modře a v neutrálním fialově. Silně zásadité prostředí mění barvu antokyanů přes modrozelenou, zelenou až k žluté. Fungují tedy jako indikátory kyselosti nebo zásaditosti buněčné šťávy vakuol. Během vývinu květů některých rostlin do-

Slovníček pojmů

BUNĚČNÁ ŠTÁVA
OPYLENÍ KVĚTU
ASIMILAČNÍ PIGMENTY
HYDROCHROMY
DUŽNATÉ PLODY
EKOLOGIE
Viz pracovní list (učitel).

Přehled pomůcek

- Pasport Xplorer GLX
- pH senzor PS-2102
- rychlovarná konvice
- mechanický krouhač nebo prkénko a nůž
- hlávka zelí červenolisté odrůdy
- cedník
- 2 větší skleněné kádinky (500 ml a 200 ml)
- 3 malé kádinky (50 ml)
- voda
- kuchyňský ocet (8% kyselina octová)
- běžné toaletní mýdlo
- kapátko nebo pipeta
- skleněná tyčinka
- lžička
- papírová kuchyňská utěrka
- *pracovní návod*
- *pracovní list*
- *ochranné pracovní pomůcky*

Poznámka

V případě, že pH vodovodní vody se významně odchyluje od hodnoty 7, použijte destilovanou vodu.

cháží ke změnám reakce buněčné šťávy, které se odrážejí ve změně zbarvení korunních lístků. Tak lze na jedné rostlině spatřit květy různých barev. Například u jarní byliny plicníku lékařského jsou poupata červenorůžová, při rozkvětu jsou květy fialové a nakonec po opylení stárnoucí květ zmodrá. Modré květy již opylovači nenavštěvují, barva květu tak může být vzkazem pro hmyz signalizujícím i množství dostupného nektaru.

Některé rostliny (např. hortenzie) s květy zbarvenými antokyany mohou též vyvídat o kyselé či zásadité reakci půdy na stanovišti, kde jsou pěstovány.

Motivace studentů

Zeptáme se studentů, která rostlinná barviva znají. Zopakujeme buněčné organely a lokalizaci lipochromů a hydrochromů v nich. Připomeneme, že pigmenty obsažené v rostlině nemusí souviset jen s fotosyntézou. Vyzveme studenty, aby přemýšleli, jak mohou barviva v různých orgánech rostliny plnit též funkci ekologickou.

Doporučený postup

1. Práci je vhodné provádět ve dvojicích.
2. Každá pracovní skupina obdrží „pracovní návod“ a každý student dostane „pracovní list“.
3. Studenti si nejprve přečtou „pracovní návod“. Na základě otázek v úvodní části protokolu zformulují hypotézu.
4. Provedou předepsaný experiment a do „pracovního listu“ zapíšou výsledky. Zamyslí se nad interpretací výsledků. Vyhodnotí, zda výsledky potvrzují či vyvracejí jejich úvodní hypotézu.

Rozšiřující úloha

Vhodným doplňkem této práce by bylo mikroskopování rostlinných pletiv s antokyany ve vakuolách buněk. Pro tento účel se hodí buňky seškrábnuté preparační jehlou z vnitřku bobule ptačího zobu.

Zajímavým jevem je též krystalizace antokyanů ve vakuolách. Např. v bazální části koruny květu drchničky rolní můžeme pod mikroskopem objevit hvězdicovité drúzy krystalů antokyanů.

Příprava úlohy

Vyučující zajistí měřící techniku, rostlinný materiál, laboratorní protokol („pracovní návod“ a „pracovní list“) a pomůcky dle seznamu.

Materiály pro studenty

„Pracovní návod“ postupně provede studenty („krok za krokem“) celou úlohou.

„Pracovní list“ slouží studentům k zaznamenání získaných dat, jejich hodnocení a vyvození závěrů.

Záznam dat

Pro záznam naměřených dat, jejich hodnocení a vyvození závěrů je určen „pracovní list“. Studenti ve dvojici při měření spolupracují, za naměřená data nesou společnou odpovědnost.

Analýza dat

Studenti posoudí, zda naměřená data jsou průkazná, zda rozdíly v jednotlivých výsledcích jsou významné a nakolik výsledky odpovídají předpokladům vyjádřeným úvodní hypotézou. Na základě získaných dat zformulují odpovědi na zadané otázky a zapíší závěr.

Syntéza a závěr

Jednotlivé pracovní dvoučlenné týmy studentů navzájem porovnají své výsledky experimentů, prodiskutují případné odlišnosti a dospějí k zobecnění výsledků.

Hodnocení

- Respektovali studenti „pracovní návod“?
- Byli schopni účelně koordinovat práci ve dvojici?
- Interpretovali správně výsledky měření?
- Zodpověděli všechny v závěru protokolu položené otázky?
- Jsou schopni aplikovat zjištěné závislosti při řešení problémových úloh z praxe?



Pasco zdroje

Na stránkách www.pasco.com a www.pasco.cz naleznete řadu dalších zdrojů.



Internetové odkazy

Antokyany

<http://www.enolog.cz/antokyany-cervena-nebo-modrofialova>

<http://cs.wikipedia.org/wiki/Antokyany>

**BIOLOGIE**

laboratorní cvičení č. 2

2

• BIOLOGIE

Barevné reakce antokyanů (návod)**Zadání úlohy**

Z červenolisté odrůdy hlávkového zelí získáte vodný roztok antokyanů. S roztokem proveďte dva experimenty:

1. Zjistěte, jakou barvu mají antokyany po přilítí do a) kyselého, b) zásaditého, c) neutrálního prostředí.
2. Sledujte kontinuální barevnou změnu probíhající při přikapávání octa do původně zásaditého roztoku s antokyanem.

Pomůcky

- Pasport Xplorer GLX
- pH senzor PS-2102
- rychlovarná konvice
- mechanický krouhač nebo prkénko a nůž
- hlávka zelí červenolisté odrůdy
- cedník
- 2 větší skleněné kádinky (500ml a 200ml)
- 3 malé kádinky (50 ml)
- voda (destilovaná voda)
- kuchyňský ocet (8% kyselina octová)
- běžné toaletní mýdlo
- kapátko nebo pipeta
- skleněná tyčinka
- lžička
- papírová kuchyňská utěrka
- *pracovní návod*
- *pracovní list*
- *ochranné pracovní pomůcky*

PRACOVNÍ NÁVOD



Bezpečnost práce

Pracujte pečlivě a v souladu s pracovním návodem. V laboratoři používejte laboratorní plášť a případně další pomůcky v souladu se správnou laboratorní praxí. Buďte opatrní, barviva s nimiž budete pracovat, mohou zanechat skvrny na oblečení či nábytku. Při práci s varnou konvicí dbejte, aby nedošlo k opaření horkou vodou. Při krouhání zelí dejte pozor, abyste se neřízli. Chemikálie používejte podle pokynů vyučujícího.

Teoretický úvod

V rostlinách se vyskytuje široké spektrum různých barviv. Rozdělujeme je na **hydrochromy** (barviva rozpustná ve vodě) a **lipochromy** (barviva rozpustná v tucích). Hydrochromy se vyskytují v buněčné šťávě vakuol, lipochromy jsou obsaženy v plastidech. Mezi hydrochromy patří antokyany a flavony. Jako **antokyany** (z řec. *ánthos* = květ, *kyáneos* = ocelově modrý) se označují červeně, modře nebo fialově zbarvené bezdusíkaté látky fenolového charakteru. Flavony jsou oxidační produkty antokyanů a mají žlutou barvu.

Antokyany se nejčastěji vyskytují v květech (např. pomněnka, mák, růže, pivoňka, hořec, zvonek), plodech (např. ptačí zob, černý rybíz, jabloň) a listech (červené zelí, cibule, buk červený).

Tvorbu antokyanů stimuluje účinek slunečních paprsků a do jisté míry i vliv teploty. Důkazem toho jsou červeně zbarvená jablka („líčko“) na straně ozářené sluncem. Také si můžeme všimnout, že rostliny výslunných míst např. některé skalničky (rod netřesk, rozchodník) mají mnohem výraznější červenofialové zbarvení, rostou-li na plném slunci, kdežto v polostínu jsou spíše zelené.

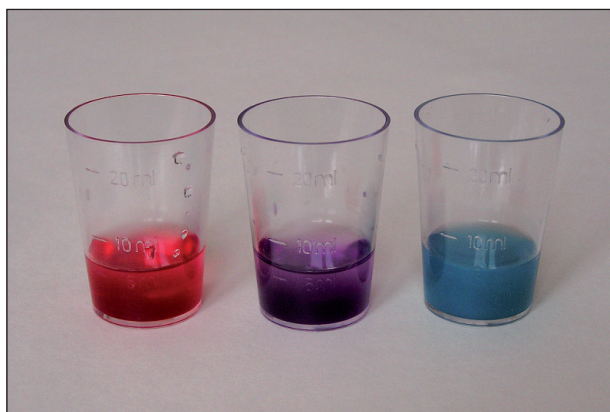
Množství antokyanů v listech stromů se často zvyšuje na podzim, kdy se flavony redukují zpět na antokyany a po zastavení asimilace dochází k rozkladu chlorofylu.

Příprava úlohy (praktická příprava)

1. Prostudujte si „pracovní návod“.
2. Promyslete si úvodní motivační otázky a zformulujte hypotézu.
3. Připravte si pomůcky k provedení experimentu.

Postup práce

1. Nakrouhejte nebo na prkénku tenče nakrájejte část hlávky zelí (plná hrst materiálu).
2. Získaný materiál dejte do velké skleněné kádinky (500 ml) a rukou dobře upěchujte.
3. Ve varné konvici nechte zavařit vodovodní vodu.
4. Malé množství vřelé vody nalijte na zelí tak, aby bylo sotva potopeno.
5. Nechte zchladnout.
6. Slijte obarvenou tekutinu ze zelí přes cedník do kádinky (200 ml). Získali jste vodný roztok antokyanů.
7. Zbytky zelí vyhodte.
8. Připravte si tři malé kádinky (50 ml).
9. První kádinku naplňte vodou se lžičkou octa tak, aby hladina sahala do poloviny výšky nádoby.
10. Druhou naplňte do poloviny vodovodní vodou.
11. Třetí kádinku naplňte do poloviny mýdlovou vodou, kterou získáte tak, že si pod vodovodem řádně namydíte ruce a mýdlo spláchnete malým proudem studené vody do kádinky.
12. Změřte a zapište pH v jednotlivých kádinkách.
13. Provedte 1. experiment: do každé ze tří připravených kádinek přilijte 1 lžičku připraveného vodného roztoku antokyanů. Pozorujte a srovnajte barvu v jednotlivých kádinkách.



14. Provedte 2. experiment: do zkumavky s mýdlovým roztokem a barvivem zasuňte pH sondu. Pomocí pipety nebo kapátka plynule přidávejte ocet. Roztok míchejte skleněnou tyčinkou. Sledujte kontinuálně probíhající barevnou změnu. Pokus ukončete, až roztok bude mít silně kyselou reakci. (Z praktických důvodů je při provádění tohoto experimentu potřebná spolupráce dvou osob.)
15. Dokončete zápis do protokolu, podle pokynů vyučujícího uklidte pracoviště.

Nastavení HW a SW

1. Připojte pH sondu do portu na horní straně Xplorer GLX
 - Na obrazovce se automaticky otevře digitální zobrazení hodnoty pH.
2. Sondu umístěte do připravené nádoby.

Příprava měření

Dbejte, aby pH sonda byla před každým měřením čistá – opláchnutá pod tekoucí vodou a otřená papírovou kuchyňskou utěrkou.

Vlastní měření (záznam dat)

Vložte sondu do zkoumaného roztoku a odečtěte pH.

Analýza naměřených dat

Vyhodnoťte reakci zkoumaného roztoku podle změřeného pH:

Hodnota 7 neutrální prostředí

Hodnoty vyšší než 7 zásadité prostředí

Hodnoty nižší než 7 kyselé prostředí

BIOLOGIE

laboratorní cvičení č. 2

2

• BIOLOGIE

Barevné reakce antokyanů pracovní list (učitel)

Slovníček pojmů

Pokuste se vysvětlit následující pojmy, které souvisí s tématem práce:



Buněčná šťáva:

vodný roztok uvnitř vakuoly rostlinné buňky, ohraničený od cytoplazmy polopropustnou membránou – tonoplastem. V buněčné šťávě bývají rozpuštěny látky zásobní, ale mohou se zde hromadit i nepotřebné a odpadní látky. Ve vakuolách bývají nejčastěji cukry, enzymy, barviva, zásobní bílkoviny, krystaly minerálů.

Opylení květu:

přenesení pylu na bliznu květu zprostředkované větrem, vodou, gravitací či organismy, zejména hmyzem. Květ je ke způsobu opylení adaptován, květy hmyzosnubných rostlin bývají nápadně zbarvené, aby přilákaly opylovače.

Asimilační pigmenty:

rostlinná barviva chloroplastů, která se aktivně účastní procesu fotosyntézy. Jde o chlorofyl, karoteny, xantofyly. Podle rozpustnosti v tucích je řadíme mezi tzv. lipochromy.

Hydrochromy:

rostlinná barviva rozpustná ve vodě, fotosynteticky neaktivní. Zbarvují buněčnou šťávu vakuol některých rostlinných pletiv.

PRACOVNÍ LIST (UČITEL)

Dužnaté plody:

střední část oplodí je šťavnatá – např. peckovice, bobule. Rozšiřování semen často obstarávají ve svém trávicím traktu plodožraví živočichové.

Ekologie:

biologická disciplína studující vztahy mezi organismy a prostředím a také vztahy mezi organismy navzájem.

Teoretická příprava úlohy

Než se pustíte do práce, zodpovězte následující otázky. Vaše odpovědi představují hypotézy, které provedením práce dokážete, anebo vyvrátíte.

1. Jakou barvu bude mít vodný roztok antokyanů získaný z hlávkového zelí?
2. Jaké barevné reakce antokyanů nastanou v kyselém a v zásaditém prostředí?
3. Jak bude reagovat roztok antokyanů při plynulé změně pH od zásaditého k silně kyselému?

Studenti zřejmě správně odhadnou, že roztok barviv získaný z hlávky zelí bude fialový, popř. červenofialový. Zbylé dvě otázky jsou obtížnější, je možné, že někdo přirovná reakci barviv k lakmusovému papírku, anebo nebude mít potřebné zkušenosti k zodpovězení a bude jen náhodně tipovat.

Vizualizace naměřených dat

Všechny naměřené údaje zaznamenejte do připravené tabulky.

Vyhodnocení naměřených dat

Naměřené hodnoty doplňte do následující tabulky:

	Voda s octem	Vodovodní voda	Mýdlová voda
Naměřené pH	3,0	6,7	9,5
Barva roztoku	červená	fialová	tyrkysově modrá



Ukázka barevných reakcí antokyanů v závislosti na pH

Závěr

- Jaké zbarvení mají antokyany:
 - v kyselém prostředí?
 - v zásaditém prostředí?
 - v neutrálním prostředí?
 - červené
 - modré (v silně zásaditém zelené až žluté)
 - fialové
- Jakou barvu měla šťáva získaná z nakrouhaného zelí? Využijte faktu, že antokyany jsou indikátory reakce buněčné šťávy ve vakuolách a usudte, jaké pH měla šťáva získaná ze zelí.

Barva byla červenofialová, což ukazuje, že šťáva byla slabě kyselá.
- Jak reagoval roztok antokyanů při plynulé změně pH od zásaditého k silně kyselému?

Zbarvení se plynule a rychle měnilo od tyrkysově modré, přes fialovou po jasně červenou.
- Jarní bylina plicník lékařský (viz fotografie) má poupata červenorůžová, při rozkvětu jsou květy fialové a nakonec stárnoucí květ zmodrá. Jakým signálem je změna barvy květů pro opylovače?

Během stárnutí květu se mění reakce buněčné šťávy z kyselé přes neutrální po zásaditou. Modrý květ signalizuje, že již byl opylen, a proto v něm nelze očekávat ani zásobu nektaru.



5. Jakou další ekologickou funkci mohou plnit antokyany v rostlinách?

Plody, jejichž semena rozšiřují ve svém trávicím traktu živočichové, dávají svou zralost (s níž souvisí i klíčivost semen) najevo výraznou změnou vybarvení. Červená barva plodů je obzvlášť atraktivní a dobře rozlišitelná pro ptáky.

Zvýšení množství antokyanů v listech rostlin může souviset s ochranou proti chladu. Tmavý list absorbuje více tepla.

6. Jestliže hospodyně připravuje k obědu hlávkové zelí červenolisté odrůdy a pokrm má nevýraznou, našedlou barvu, co může do pokrmu přidat, aby se barva zlepšila a kvalita pokrmu neutrpěla?

Stačí přikápnout trochu octa, pokrm se ochutí a červená barva se zvýrazní.

Pracovní list studenta

skupina:.....

jméno:..... třída:..... datum:.....

Slovníček pojmů

Pokuste se vysvětlit následující pojmy, které souvisí s tématem práce:

Buněčná šťáva:

Opylení květu:

Asimilační pigmenty:

Hydrochromy:

Dužnaté plody:

Ekologie:

Teoretická příprava úlohy

Než se pustíte do práce, zodpovězte následující otázky. Vaše odpovědi představují hypotézy, které provedením práce dokážete, anebo vyvrátíte.

1. Jakou barvu bude mít vodný roztok antokyanů získaný z hlávkového zelí?

2. Jaké barevné reakce antokyanů nastanou v kyselém a v zásaditém prostředí?

3. Jak bude reagovat roztok antokyanů při plynulé změně pH od zásaditého k silně kyselému?

Vizualizace naměřených dat

Všechny naměřené údaje zaznamenejte do připravené tabulky.

Vyhodnocení naměřených dat

Naměřené hodnoty doplňte do následující tabulky:

	Voda s octem	Vodovodní voda	Mýdlová voda
Naměřené pH			
Barva roztoku			

Závěr

1. Jaké zbarvení mají antokyany:
- v kyselém prostředí?
 - v zásaditém prostředí?
 - v neutrálním prostředí?

2. Jakou barvu měla šťáva získaná z nakrouhaného zelí? Využijte faktu, že antokyany jsou indikátory reakce buněčné šťávy ve vakuolách a usudte, jaké pH měla šťáva získaná ze zelí.

3. Jak reagoval roztok antokyanů při plynulé změně pH od zásaditého k silně kyselému?

4. Jarní bylina plicník lékařský (viz fotografie) má poupata červenorůžová, při rozkvetu jsou květy fialové a nakonec stárnoucí květ zmodrá. Jakým signálem je změna barvy květů pro opylovače?



5. Jakou další ekologickou funkci mohou plnit antokyany v rostlinách?

6. Jestliže hospodyně připravuje k obědu hlávkové zelí červenolisté odrůdy a pokrm má nevýraznou, našedlou barvu, co může do pokrmu přidat, aby se barva zlepšila a kvalita pokrmu neutrpěla?