

Introduktion

I et plantefrø findes bl.a. anlægget til en ny plante i form af det såkaldte kimanlæg. Dette anlæg skal kunne udvikle sig til en ny plante under de rette ydre miljøforhold.

Da alle organismer er opbygget af celler, hvori indgår de organiske stofgrupper: kulhydrater, lipider og proteiner, betyder dette, at kimanlægget under udviklingen nødvendigvis må kunne fremskaffe disse tre grupper.

Dette kan teoretisk ske på tre måder:

- 1: Enten ved at grupperne findes i frøet og kan tages derfra,
- 2: eller ved at grupperne findes i det omgivende miljø og så kan hentes derfra,
- 3: eller ved at kimanlægget selv kan opbygge forbindelserne på grundlag af andre forbindelser i omgivelserne.

I øvelsen skal det eftervises, at et plantefrø er opbygget af celler. Samtidig skal det undersøges, om de tre organiske stofgrupper forekommer i frøet.

Til påvisning af de organiske grupper benyttes bl.a indikatorer. Dette er reagenser, der bl.a. kan benyttes til påvisning af bestemte stoffer/stofgrupper ved en farvereaktion.

Indledningsvis afprøves indikatoren Benedicts reagens og stoffet jod-jodkalium (J-JK) på kulhydraterne glucose (druesukker) og amylose (stivelse). De opnåede resultater herfra udnyttes derpå ved undersøgelsen af plantefrøet.

Amylose er kemisk opbygget ved sammenknytning af glucosemolekyler under samtidig fraspaltning af vand. Begge stoffer er kulhydrater.

Materialer

Mikrotom
Mikroskop
Objekt- og dækglass
Benedicts reagens
J-JK opløsning
Sudan IV opløsning
Millons reagens
1 % glucoseopløsning
1 % amyloseopløsning (amylose opløses i vand under samtidig opvarmning til 100 °C)
Vandbad
Reagensglas og pipetter/pincetter
Plantefrø (majs, ært eller lignende med hensyn til størrelse. Frøene udblødes i vand i 24 timer inden snitningen, det giver de bedste tværsnit)

Fremgangs- måde

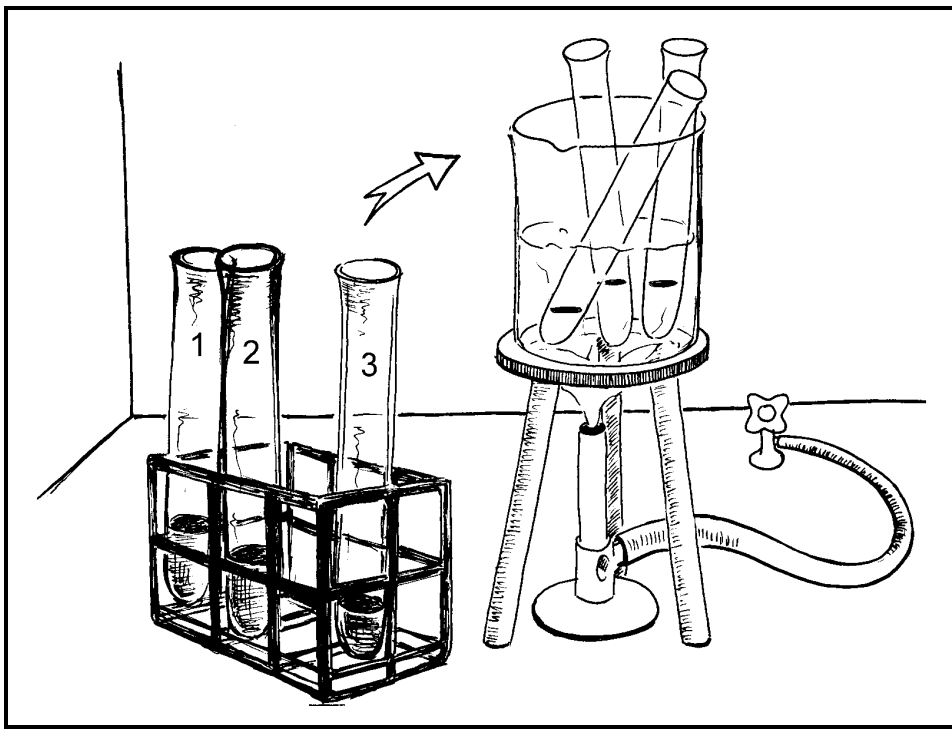
Afprøvning af indikatoren Benedicts reagens:

Der benyttes tre reagensglas.

I glas 1 kommes 1 pipettefuld Benedicts reagens.

I glas 2 kommes 1 pipettefuld Benedicts reagens + 1 pipettefuld glucose opløsning.

I glas 3 kommes 1 pipettefuld Benedicts reagens + 1 pipettefuld amyloseopløsning.



Da Benedict reagens kun reagerer ved opvarmning, anbringes de tre blandinger i vandbad med kogende vand.

De fremkomne farver iagttages og resultaterne indføres i skemaet.

Afprøvning af J-JK:

Der benyttes tre reagensglas.

I glas 1 kommes 1 pipettefuld J-JK opløsning.

I glas 2 kommes 1 pipettefuld J-JK opløsning + 1 pipettefuld glucoseopløsning.

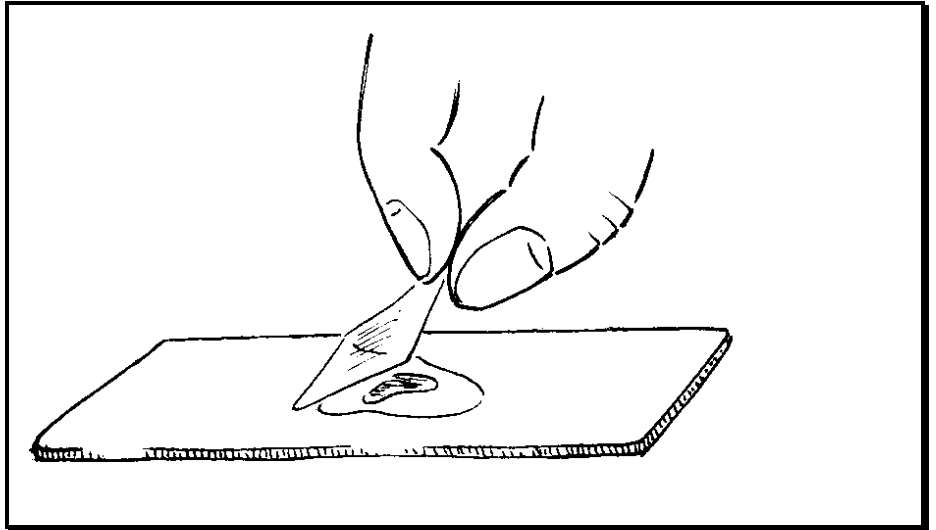
I glas 3 kommes 1 pipettefuld J-JK opløsning + 1 pipettefuld amyloseopløsning.

De fremkomne farver iagttages og resultaterne indføres i skemaet.

Undersøgelse af tværsnit af plantefrø:

På mikrotomen fremstilles tværsnit af plantefrøet.

Der skal undersøges 5 præparater, hvorfor det er hensigtsmæssigt at fremstille et passende antal af hver, og lade disse gå på skift.



Præparat 1: Et tværsnit anbringes i en dråbe vand på et objektglas. Et dækglas lægges over vanddråben.

Præparat 2: Et tværsnit anbringes i en dråbe Benedict reagens på et objektglas.

Objektglasset føres forsigtigt ind over en gasflamme et par gange.

N.B. OBJEKTGLASSET KAN HURTIGT BLIVE MEGET VARMT.
Efter afkøling forsynes præparatet med dækglas.

Præparat 3: Et tværsnit anbringes i en dråbe J-JK og forsynes med dækglas.

Præparat 4: Et tværsnit anbringes i en dråbe Sudan IV opløsning. Dette reagens tilbageholdes af lipider.

(Dette præparat vinder som regel i farvestyrke, hvis det får lov at stå et stykke tid, hvorfor det kan anbefales, at starte med dette præparat. Da Sudan samtidig let fordamper, kan det være nødvendigt at tilføje en ekstra dråbe langs kanten af dækglasset efter et stykke tid).

Præparat 5: Et tværsnit anbringes i en dråbe Millons reagens.

N.B. DA DETTE REAGENS ER GIFTIGT FOREGÅR PRÆPARAT-FREMSTILLINGEN I STINKSKAB.

Præparatet opvarmes over gasflamme.

Millon reagerer specifikt med protein.

Præparaterne iagttages i mikroskop ved 100 X forstørrelse.

Præparaterne tegnes og forsynes med specifikke farvereaktioner.

Resultater

	Farve
Benedict reagens	
Benedict reagens + glucoseopl.	
Benedict reagens + amyloseopl.	

	Farve
J-JK opl.	
J-JK + glucoseopl.	
J-JK + amyloseopl.	

Spørgsmål

- 1) Hvilket kulhydrat kan påvises med Benedicts reagens?
- 2) Hvilket kulhydrat kan påvises med J-JK?
- 3) Hvorfor opvarmes præparatet med Benedicts reagens inden mikroskopieringen?
- 4) Hvilke af de tre organiske stofgrupper var tilstede i plantefrøet?
- 5) Hvorledes var den kvantitative fordeling mellem de tilstedeværende grupper (ca. angivelser i %)?
- 6) Var der glucose tilstede i plantefrøet?
- 7) Hvilket molekyle skal anvendes, hvis amylose ønskes spaltet til glucose?
- 8) Er det nævnte molekyle tilstrækkeligt? (jvnf. fremgangsmåde).

Kommentarer

Det kan være vanskeligt at nå alle fem præparater på en enkelt lektion. Da Millons reaktionen erfaringsmæssigt er den, der giver den svageste farvereaktion, fordi protein er meget diffust placeret i modsætning til amylose og lipid, kan det anbefales at lave Millon som demonstrationspræparat. Hvis øvelsen anvendes som introduktion til mikroskopi, kan det ufarvede præparat og farvningen med J-JK anbefales til første lektion.

Hvorvidt den negative reaktion med Benedict skyldes en meget lav koncentration af / manglende glucose i frøet eller blot er udtryk for en kombination af glucosens opløselighed i vand og Benedict reaktionens afhængighed af koncentrationen, anbefales det at lade elever i 1. g være uvidende om.