

BIOLOGICKÁ OLYMPIÁDA ROČNÍK: 46 ŠKOLSKÝ ROK: 2011/2012

Kolo: Krajské

Kategória : B

Teoreticko-Praktická časť: Praktická úloha č.2

TÉMA: Rastlinné pigmenty

Pigmenty hrajú v živote rastliny nezastupiteľnú úlohu. Patria medzi ne také dôležité zlúčeniny ako chlorofyly, karotenoidy, či flavonoidy. Fotosyntetické pigmenty ako chlorofyl, či karotenoidy sú pre rastlinu potrebné primárne. Bez nich by nebol zabezpečený správny chod fotosyntézy a rastliny by teda boli nevyhnutne odsúdené na zánik. Úspech rastliny sa však nemeria iba samotným prežívaním, ale aj schopnosťou sa úspešne rozmnožovať a rozširovať. K tomuto účelu sú využívané rozličné mechanizmy. Jedným z nich je lákanie opeľovačov na pestrofarebné kvety, či "rozširovačov" na rôzne zafarbené plody. V týchto orgánoch sú taktiež prítomné mnohé farbivá. Ide o farbivá rozličnej chemickej štruktúry, ktoré môžu v rastlinnom organizme vykonávať aj iné funkcie. Patria medzi ne napríklad flavonoidy (s antokyánmi) a betalaíny.

Antokyány sú vo vode rozpustné pigmenty, ktorých farba je závislá od pH, pričom sa mení od červenej (kyslé pH) až po žltú (zásadité pH). Betalaíny sú s antokyánmi štruktúrne nepríbuzné, ide o alkaloidy vyskytujúce sa takmer výhradne len u rastlín radu *Caryophyllales* – klinčekotvaré. Ich názov je odvodený od hospodársky významnej plodiny – *Beta vulgaris*. Delíme ich na betakyaníny (červené) a betaxantíny (žlté). Napriek odlišnej chemickej štruktúre sú podobne ako antokyány rozpustné vo vode.

Oba typy pigmentov (antokyány aj betalaíny) sa vyskytujú vo vakuolách buniek rozličných rastlinných orgánov – kvetoch, plodoch, koreňoch atď. Podobne ako antokyány, aj betalaíny vykazujú antioxidačné účinky a na rozdiel od antokyánov bol zistený aj ich anti-karcinogénny vplyv.

Vašou dnešnou úlohou bude izolovať antokyány a betalaíny z rôznych rastlinných zdrojov pomocou papierovej chromatografie.

ÚLOHA: Separácia rastlinných pigmentov pomocou papierovej chromatografie

PRINCÍP:

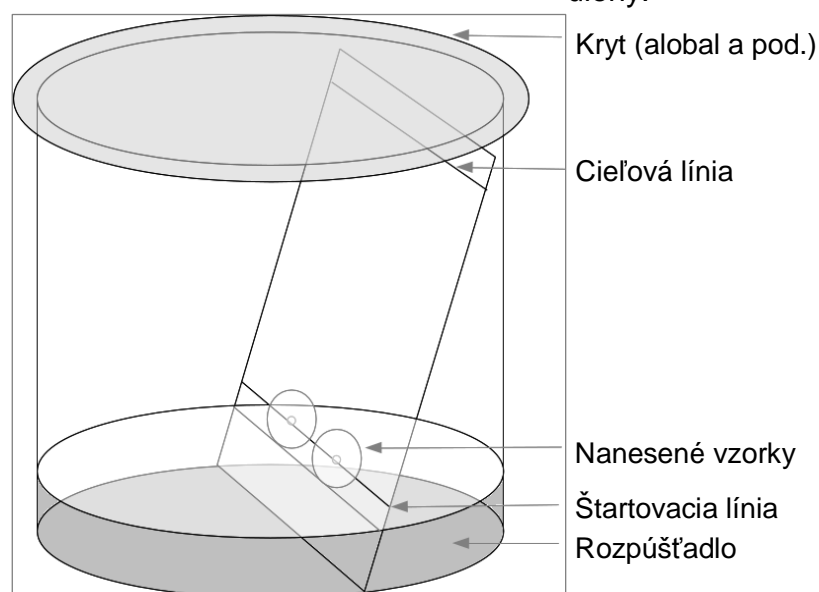
Papierová chromatografia je spôsob delenia látok založený na ich rozličnej afinite k stacionárnej fáze (papier) a k mobilnej fáze (rozpúšťadlo). Vzorka sa nanesie na filtračný papier, ktorý sa umiestni do vyvíjacej komôrky (kadička) s dnom vyplneným rozpúšťadlom. Dôjde k postupnému vzliňaniu rozpúšťadla po papieri až na jeho vrchol. Ak látka vykazuje väčšiu afinitu k mobilnej fáze, bude ňou unášaná a naopak, ak prejavuje zvýšenú afinitu k stacionárnej fáze, bude sa pohybovať pomalšie. Po skončení experimentu bude možné v dráhe pohybu nanášanaj vzorky určiť jej jednotlivé zložky.

POMÔCKY:

rastlinný materiál (červená paprika, červená cibuľa, červená repa - cvikla), polárne rozpúšťadlo - etanol, roztok 0,5M HCl, destilovaná voda, kadička (250 ml), pipeta s balónikom, mažiar a roztieradlo, piesok, filtračný papier, špáradlo, ceruzka, nôž, lyžička, pravítko, pokrývka na kadičku (alobal, Petriho miska a pod.),

POSTUP:

1. Najskôr si pripravte chromatografický papier. Z filtračného papiera vystrihnite obdĺžnik (9x5cm) tak, aby sa v zvislej polohe zmestil do pripravenej kadičky. Od spodného okraja si na papieri vyznačte štartovaciu líniu vo vzdialenosti 1,5 cm a od vrchného okraja cieľovú líniu vo vzdialenosti 0,5 cm (obr. 1.).
2. Na štartovacej línii si naznačte 2 body, ktoré budú rovnako vzdialené navzájom a aj od okraja papiera (obr.1.)
3. Pripravte si rastlinný materiál – z papriky vyrežte kváder so základňou cca 1x1 cm, podobne postupujte pri dužinatom liste z cibule. Z dužiny cvikle použite menšie množstvo (asi 0.5 x 0.5 x 0.5 cm)
4. Všetky narezané kúsky rozrežte na čo najmenšie časti a vložte ich do mažiaru. Pridajte lyžičku piesku, 3 ml destilovanej vody a opatrne aj 2 ml 0,5 M HCl. Pomocou roztieradla sa snažte materiál rozomlieť na čo najjemnejšiu kašu. V prípade potreby pridajte vodu alebo piesok.
5. Pomocou špáradla naneste vzorky na vyznačené body v štartovacej línii chromatografického papiera. Na oba body naneste dostatočné množstvo vzorky (približne 20x opakujte prenášanie špáradlom). Vyvarujte sa prenášaniu piesku alebo dužinatých častí. Po skončení nanášania nechajte filtračný papier úplne uschnúť.
6. Do kadičky nalejte 15 ml rozpúšťadla a prikryte alobalom alebo Petriho miskou, aby nedochádzalo k odparovaniu. Po vyschnutí nanesených vzoriek na papieri ho opatrne položte zvislo do komôrky tak, aby štartovacia línia nebola ponorená v rozpúšťadle (obr.1). Kadičku opäť prikryte a nechajte vyvíjať asi 20 - 30 minút dotedy, kým rozpúšťadlo nedosiahne cieľovú líniu. Potom chromatogram z kadičky vytiahnite a nechajte vysušiť. Pokiaľ rozpúšťadlo prekročí vrchný okraj papiera, môžu vám separované látky vybehnúť, dávajte preto pozor. Tento čas využite na riešenie doplňujúcej úlohy, ktorá sa netýka samotného chromatogramu.
7. V časti výsledok odpovedajte na otázky a chromatogram nezabudnite odovzdať vedúcemu úlohy.



Obr.1

VÝSLEDOK:

1. Na základe prebehnutého chromatogramu popíšte separované škvrny (farba), napíšte ich v poradí v akom sa nachádzajú od štartovacej línie a priradte ich k jednotlivým rastlinným zdrojom.

2. Na základe afinity pigmentov k rozpúšťadlu odstupňujte ich vzájomnú relatívnu polárnosť (nezabudnite, že mobilná fáza je polárne rozpúšťadlo). Nachádzajú sa najmenej polárne pigmenty pri štartovacej alebo cieľovej línii? Vysvetlite.

3. Jeden z rastlinných materiálov patrí do radu klinčekotvarých (čel'ad' láskavcovité), a preto namiesto antokyánov obsahuje betalaíny. O ktorý materiál sa jedná?

DOPLŇUJÚCA ÚLOHA:

4. Antokyány sa v rastlinách prirodzene vyskytujú vo forme svojich glykozidov. Ich necukorná zložka sa potom označuje ako antokyanidín. Z nasledujúcich dvoch skupín označte navzájom si odpovedajúce páry (pigment – rastlinný zdroj)

peonidín	červená cibuľa
cyanidín	kvety prvosiienky
delfinidín	kvety muškátu
pelargonidín	kvety fialky
primulín	kvet pivonky

Autor: Bc. Martin Kéry

Recenzia: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.

Redakčná úprava: doc. Mgr. Miroslava Slaninová, PhD.

Slovenská komisia Biologickej olympiády

Vydal: IUVENTA Slovenský inštitút mládeže, Bratislava 2011