Laboratórne cvičenie č. 1

**Vypracoval:** Samuel Nalevanko

**Odbor:** 2FBb

**Školský rok:** 2018/19

**Predmet:** Fyziológia rastlín

**Cvičiaci**: RNDr. Michal Goga, PhD.

**Cvičenie dňa:** 21.2.2018

**Názov úlohy: Sekundárne metabolity**

**Úlohy:**

A.) Reakcie trieslovín.

B.) Delenie rumančekovej silice metódou TLC.

C.) Závislosť farby antokyánov na pH.

**A.) Reakcie trieslovín**

***Princíp:*** Triesloviny sú rôznorodé polyfenolové zlúčeniny, v ktorých sú zastúpené najmä pyrokatechol, pyrogalol a floroglucín. Polymerizácia fenolových zlúčenín nastáva vplyvom polyfenoloxidáz katalyzujúcich oxidáciu fenolov na benzochinóny. Tie potom polymerizujú na polyfenoly hnedej farby. Proces je možné pozorovať na plodoch rastlín, ktoré na vzduchu hnednú (napr. jablko) a je možné ho zastaviť pridaním kyselín (napr. kys. citrónovej).

***Pomôcky:*** skúmavky, kadičky

***Materiál:*** oplodie pagaštana konského (Aesculus hippocastanum L.), 10% FeCl3, 1% roztok želatíny (v 10% NaCl), 1% AgNO3, konc. NH4OH, 10% zásaditý octan olovnatý, pevný KOH, 20% H2SO4

***Postup:***

* 5g rastlinného materiálu varíme niekoľko minút v 100 ml vody
* k 2 ml extraktu trieslovín pridáme niekoľko kvapiek 10% FeCl3 a pozorujeme ako sa sfarbí roztok
* k 2 ml extraktu trieslovín prikvapkáme roztok želatíny a pozorujeme, či sa vyzrážajú triesloviny
* k 2 ml extraktu pridáme 1 ml 1% AgNO3, niekoľko kvapiek amoniaku a krátko povaríme, pozorujeme čo sa vyzráža
* k 5 ml extraktu pridáme 2 ml octanu olovnatého, pozorujeme vyzrážanie trieslovín
* k 10 ml extraktu pridáme octan olovnatý a chvíľu povaríme

**B.) Delenie rumančekovej silice metódou TLC**

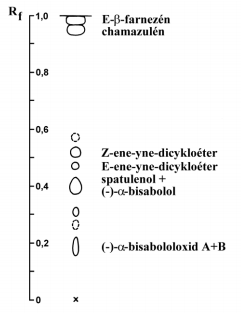
***Princíp:*** Rumančeková silica obsahuje ako hlavné komponenty uhľovodíkové a kyslíkaté seskviterpény a polyacetylény. Najviac zastúpené sú látky bisabolánového typu a chamazulén. Z polyacetylénov je význačný cis en-in-dicykloéter

***Pomôcky:*** chromatografická nádoba, Silufol, sklené kapiláry, rozprašovač, infražiarič

***Materiál:*** rumančeková silica, hexán, vyvíjacia zmes (toluén : octan etylnatý; 95 : 5), konc. H2SO4, vanilín

***Postup:***

* na chromatografickú platňu kapilárou nanesieme cca 15 mm od okraja éterický olej nariedený hexánom
* zorientujeme platňu tak, aby delenie prebiehalo kolmo na smer nanesenia silikagélovej vrstvy
* do chromatografickej nádoby nalejeme vyvíjaciu zmes a vložíme platňu s nanesenou vzorkou tak, že rozpúšťadlo nesmie prekrývať vzorku
* keď čelo rozpúšťadlo dosiahne tesne pod horný okraj nádoby, tak vyberieme platňu a necháme odpariť vyvíjaciu zmes
* platňu postriekame 1% roztokom vanilínu v konc. H2SO4 a zahrejeme infražiaričom
* na chromatograme identifikujeme jednotlivé látky



Obr. 1 (TLC chromatogram silice rumančeka kamilkového)

***Princíp tenkovrstvovej chromatografie (TLC)***

Prebieha tu delenie zložiek zmesi látok v tenkej vrstve stacionárnej pevnej fázy pomocou kvapalnej mobilnej fázy. Používaný sorbent bol v tomto prípade silikagél. Počas vyvíjania putuje putuje mobilná fáza vzostupne kapilárnymi silami medzi zrnami sorbentu a unáša delené látky pozdĺž deliacej vrstvy. V priebehu delenia sa neustále obnovuje rovnováha medzi pohyblivou a nepohyblivou fázou. Za rovnakých podmienok má určitá látka na chromatograme stále miesto (RF). Retardačný faktor je pomer vzdialenosti unášanej látky od štartu ku vzdialenosti čela rozpúšťadla od štartu.

**C.) Závislosť farby antokyánov na pH**

***Princíp:*** Antokyány sú rastlinné pigmenty rozpustné vo vode, ktoré patria medzi flavonoidy. Sú zodpovedné za modré, alebo fialové sfarbenie niektorých kvetov alebo plodov. Typická pre antokyány je ich zmena farby vplyvom pH. Pri nízkom pH existujú vo forme kladne nabitých katiónov červenej farby, pri neutrálnom (až mierne zásaditom) pH sú to zvyčajne neutrálne modrofialové anhydrobázy, v alkalickom prostredí sa z nich stávajú zelenkasté anióny. Tieto reakcie sú vratné a na každú zmenu pH bude farbivo reagovať. Pri veľmi vysokom pH dochádza k rozkladu centrálneho pyránového cyklu, pričom vznikajú žltkasté chalkóny. Rozklad pyránového cyklu už nie je možné zvrátiť vplyvom zmeny pH.

***Pomôcky:*** skúmavky, pipety, umelohmotné kvapkadlo, sklenená tyčinka, kadičky, trecia miska, indikátorový papier

***Materiál:*** plody vtáčieho zobu (Ligustrum vulgare L.), zried. HCl (1:3), 0,002% NaOH, 0,2% NaOH, 50% NaOH

***Postup:***

* 4 – 5 plody vtáčieho zobu rozotrieme v miske s 4 ml destilovanej vody (uvoľnenie farbiva)
* do prvej skúmavky pridáme 0,5 ml zriedenej HCl a 2,5 ml destilovanej vody
* do druhej skúmavky pridáme 3 ml vodovodnej vody
* do tretej skúmavky pridáme 3 ml 0,002% NaOH
* do štvrtej skúmavky pridáme 3 ml 0,2% NaOH
* do piatej skúmavky pridáme 3ml 50% NaOH
* do každej skúmavky nakvapkáme 5 kvapiek roztoku antokyánov
* pozorujeme rozdiely v zafarbení skúmaviek a pomocou indikátorového papiera stanovíme pH roztokov

**Závery**

