

Metodický materiál pre učiteľa

Téma: Určovanie rastlinných farbív – chromatografia

Ročník: 2. ročník SŠ

Časová dotácia: 135 minút (3 vyučovacie hodiny)

Projekt: INTERREG – Digitálna banka CZ-SK pokusov

Ciele hodiny

Vedieť: vysvetliť princíp chromatografie, TLC a papierovej chromatografie, pomenovať hlavné rastlinné pigmenty.

Rozumieť: významu pigmentov pri fotosyntéze a adaptácii rastlín.

Aplikovať: samostatne vykonať chromatografiu na papieri a TLC platničke, interpretovať chromatogram.

Pomôcky

Interaktívna prezentácia (PPTX)

Pracovné listy pre žiakov

TLC platničky, filtračný papier, kadička, pipeta, acetón:hexán (3:7), extrakty rastlín (špenát, žihľava, púpava)

Obrázky chromatogramov a schémy fotosyntézy

Priebeh hodiny

Úvod

Problémová úloha: „*List je na pohľad zelený, ale je v ňom iba jedna farba? Ako to môžeme dokázať?*“

Výklad

Princíp chromatografie (stacionárna a mobilná fáza).

Pigmenty v rastlinách (chlorofyly, karotenoidy, xantofyly, antokyány).

Rozdiel medzi chromatografiou na TLC platničke a filtračnom papieri

Aktivita 1

Teoretická časť: Diskusia + doplňovačky.

Otázka: „*Prečo rastliny potrebujú viac druhov pigmentov, keď aj tak sú najmä zelené?*“

Aktivita 2

Pokus: Žiaci vykonajú dve metódy chromatografie: Papierová chromatografia, TLC chromatografia (Príloha č.1)

Aktivita 3

Pracovný list: Teoretické otázky (princíp, pigmenty, fázy), úlohy na doplnenie, otázky k pozorovaniu chromatogramu. (Príloha č.2)

Záver

List obsahuje viaceré pigmenty, nie iba chlorofyl.

Každý pigment má význam – fotosyntéza, ochrana pred UV žiarením, jesenné sfarbenie listov.

Metodické poznámky

Zdôraznite rozdiel medzi chlorofylmi a karotenoidmi.

Poukážte na to, že chromatografia je univerzálna analytická metóda, využívaná aj v potravinárstve a farmácii.

Podporte aktivitu žiakov: nech navrhnú, ako by sa chromatografia dala použiť v bežnom živote.

Diskusné otázky

1. Prečo listy na jeseň menia farbu?
2. Ako pomáha diverzita pigmentov rastlinám pri fotosyntéze?
3. Kde všade veda a priemysel využívajú chromatografiu?
4. Ako by vyzeral rastlinný svet bez chlorofylu?

Prílohy

Príloha č.1: Pracovný postup – papierová chromatografia, TLC chromatografia

Príloha č.2: Pracovný list pre žiaka

Príloha č.3: Pracovný list – verzia pre učiteľa

Príloha č.1: Pracovný postup

Pracovný postup

Téma: Určovanie rastlinných farbív – chromatografia

Princíp

Rastlinné farbivá

Rastlinné farbivá sú sekundárne metabolity, ktoré sa v rastlinách syntetizujú v rôznych orgánoch, ako sú listy, korene, plody či kvety. Ich primárnou funkciou je ochrana rastlín pred biotickými a abiotickými stresormi, no zároveň zohrávajú kľúčovú úlohu v interakcii s prostredím, napríklad pri prilákaní opel'ovačov alebo rozširovaní semien.

Hlavné skupiny rastlinných farbív

1. Chlorofyly

Chemicky ide o tetrapyrrolové zlúčeniny s magnéziom v centre porfyrínového kruhu. Chlorofyly umožňujú fotosyntézu absorbovaním svetelnej energie v modro-červenej oblasti spektra, čo je základný proces pre premenu svetelnej energie na chemickú. Medzi hlavné typy patria chlorofyl a a b.

2. Karotenoidy

Sú to tetraterpény, zložené z 40 uhlíkových atómov, ktoré delíme na karotény (len uhlík a vodík) a xantofyly (obsahujú kyslík). Karotenoidy poskytujú žlté až červené zafarbenie a fungujú ako antioxidanty, prispievajú k fotoprotekcii a stabilizácii chlorofylu.

3. Flavonoidy

Patria do skupiny polyfenolických zlúčenín. Medzi flavonoidy patrí viacero podskupín, napríklad flavóny, flavonoly, izoflavóny a antokyány. Sú významné svojimi fotoprotektívnymi a antioxidantnými vlastnosťami. Flavonoidy sa vyskytujú vo vodnom roztoku v bunkových vakuolách, kde môžu ovplyvňovať pH, čo vedie k zmene farby najmä u antokyánov.

4. Antokyány

Ide o vodou rozpustné pigmenty z triedy flavonoidov s charakteristickou farbou od červenej cez fialovú až po modrú. Ich farebné spektrum závisí od pH, komplexácie s kovmi a prítomnosti kofaktorov. Antokyány slúžia na prilákanie opel'ovačov a majú antioxidantný účinok.

Biologická a ekologická funkcia farbív

Rastlinné farbivá sú nevyhnutné pre adaptáciu rastlín na vonkajšie podmienky. Chránia bunkové komponenty pred škodlivým UV žiarením, zabezpečujú ochranu membrán a enzýmov pred oxidačným stresom, a zároveň prispievajú k obrane proti patogénom a byľinožravcom. Okrem toho zafarbenie plodov a kvetov stimuluje vzťahy s živočíchmi, čo zvyšuje úspešnosť reprodukcie.

Aplikácie rastlinných farbív

Vďaka ekologickej a zdravotnej nezávadnosti rastlinné farbivá nachádzajú využitie v potravinárstve ako prírodné farbivá (napr. betaníny z repy), farmaceutickom priemysle pre svoje antioxidantné a protizápalové účinky, v kozmetike a tiež v textilnej výrobe ako udržateľná alternatíva k syntetickým farbivám. Výskum sa zameriava i na ich stabilitu, extrakčné metódy a modifikácie pre špecifické priemyselné použitie.

Rastlinné farbivá sú komplexné chemické látky s významnou biologickou funkciou a širokým spektrom praktických využití, ktoré predstavujú dôležitý predmet štúdia v oblasti biológie, chémie a aplikovaných vied.

Chromatografia oddeľuje zložky zmesi na základe rozdielnej afinity k stacionárnej fáze (papier alebo TLC platnička) a rozpustnosti v mobilnej fáze (rozpúšťadlo). Menej polárne pigmenty putujú s rozpúšťadlom rýchlejšie, polárnejšie sa zadržiavajú bližšie k štartu.

Cieľ

Oddeliť a vizuálne identifikovať hlavné rastlinné pigmenty v listoch (chlorofyly, xantofyly, karotenoidy, prípadne antokyány), porovnať ich migráciu na filtračnom papieri a TLC.

Pomôcky

kadičky (2–3 ks)

filtračný papier – pruhy cca 2 × 10 cm;

TLC platničky (silika na hliníkovom podklade)

ceruzka, pravítko, nožnice

kapilára/špajla alebo mikropipeta, mažiar

Chemikálie

čerstvé listy (špenát, žihľava, púpava)

zmes acetón + hexán (3:7)

Bezpečnostné pokyny

Pracuj v dobre vetranom priestore; organické rozpúšťadlá sú horľavé – drž mimo otvoreného ohňa.

Používaj okuliare a rukavice; zabráň kontaktu rozpúšťadiel s pokožkou a očami.

Zvyšky rozpúšťadiel a extraktov nevyliievaj do umývadla; odovzdaj do zberu chemického odpadu.

A) Chromatografia na TLC platničke

1. Rozdrvte čerstvé listy (napr. špenát, žihľava) v mažiariku s dostatočným množstvom acetónu a pripravte koncentrovaný extrakt (nechajte pár minút odstáť).
2. Na spodok TLC platničky ceruzkou nakreslite štartovaciu čiaru približne 1 cm od okraja.
3. Mikropipetou naneste úzku čiaru extraktu pozdĺž štartovacej čiary.
4. Nalejte do kadičky zmes acetónu a hexánu (3 : 7) do výšky asi 0,5 cm.
5. Vložte platničku do kadičky tak, aby štartovacia čiara nebola ponorená.
6. Nechajte vyvíjať, kým front rozpúšťadla dosiahne približne dve tretiny výšky platničky.
7. Vyberte platničku a pozorujte.

Príloha č.2: Pracovný list pre žiaka

**Pracovný list pre žiaka****Téma:** Určovanie rastlinných farbív – chromatografia

Meno: _____ Dátum: _____

1. Teoretické otázky

- a) Vysvetli princíp chromatografie a uveď, prečo sa využíva pri určovaní rastlinných farbív.

- b) Aký je rozdiel medzi stacionárnou a mobilnou fázou v papierovej chromatografii?

- c) Prečo sa jednotlivé pigmenty z listu na chromatograme oddelia do viacerých farebných pásov?

- d) Vysvetli, prečo listy na jeseň menia farbu zo zelenej na žltú, oranžovú alebo červenú.

2. Dopln správne odpovede:

- a) Hlavným zeleným farbivom v listoch je _____.
- b) Žlté farbivá v listoch sa nazývajú _____.
- c) Oranžové farbivá patria medzi _____.
- d) Červené a fialové farbivá sa nazývajú _____.

3. Otázky k experimentu

- a) Prečo je potrebné použiť ako rozpúšťadlo lieh alebo acetón a nie vodu?

- b) Prečo musí byť miesto, kde nanesieme rastlinný extrakt, nad hladinou rozpúšťadla?

- c) Ktorý pigment bol najviac zastúpený? Ako to vieš zistiť?

- d) Čo spôsobuje, že niektoré pigmenty sa pohybujú rýchlejšie a iné pomalšie?

4. Vyhodnotenie a vysvetlenie

- a) Vysvetli úlohu **chlorofylov A a B** vo fotosyntéze a porovnaj ich význam s pomocnými pigmentmi.

- b) Ako chromatografia dokazuje, že list obsahuje viacero pigmentov, a čo to vypovedá o zložitosti fotosyntetického aparátu rastlín?

c) Prečo rastlina potrebuje aj žlté a oranžové pigmenty (karotenoidy, xantofyly), keď dominantnou farbou listu je zelená?

e) Aký význam má diverzita rastlinných pigmentov z hľadiska prispôsobenia rastlín na rôzne svetelné podmienky?

5. Zakreslenie výsledku

(Nakresli chromatogram alebo prilep obrázkov z experimentu.)

6. Porovnanie metód

Papierová chromatografia

- Výhody: _____
- Nevýhody: _____

TLC chromatografia

- Výhody: _____
- Nevýhody: _____

7. Diskusné otázky

- a) Ako pomáha diverzita pigmentov rastlinám pri fotosyntéze?
- b) Ako by vyzeral rastlinný svet bez chlorofylu?
- c) V čom by mohla chromatografia pomôcť v potravinárstve alebo vo výskume?

Príloha č.3: Pracovný list pre učiteľa

Pracovný list – verzia pre učiteľa

Téma: Určovanie rastlinných farbív – chromatografia

1. Teoretické otázky

- Vysvetli princíp chromatografie a uveď, prečo sa využíva pri určovaní rastlinných farbív.

Chromatografia oddeľuje zmes látok podľa rozdielnej afinity k stacionárnej fáze a rozpustnosti v mobilnej fáze. Umožňuje vizuálne oddeliť chlorofyly, xantofyly, karotenoidy a antokyány.

- Aký je rozdiel medzi stacionárnou a mobilnou fázou v papierovej chromatografii?

Stacionárna fáza je filtračný papier (celulóza), mobilná fáza je rozpúšťadlo (etanol/acetón).

- Prečo sa jednotlivé pigmenty z listu na chromatograme oddelia do viacerých farebných pásov?

Pigmenty sa líšia polaritou a veľkosťou molekúl, preto majú rozdielne rýchlosti pohybu (R_f hodnoty).

- Vysvetli, prečo listy na jeseň menia farbu zo zelenej na žltú, oranžovú alebo červenú.

Chlorofyly sa odbúravajú, zostávajú karotenoidy a xantofyly, prípadne sa tvoria antokyány.

2. Doplň správne odpovede

- Hlavným zeleným farbivom v listoch je _____.

Chlorofyl

- Žlté farbivá v listoch sa nazývajú _____.

☞ Xantofyly

- Oranžové farbivá patria medzi _____.

☞ Karotenoidy

- Červené a fialové farbivá sa nazývajú _____.

☞ Antokyány

3. Otázky k experimentu

- Prečo je potrebné použiť ako rozpúšťadlo lieh alebo acetón a nie vodu?

☞ Pigmenty sú rozpustné v organických rozpúšťadlách, nie vo vode.

- Prečo musí byť miesto, kde nanesieme rastlinný extrakt, nad hladinou rozpúšťadla?

☞ Aby sa vzorka nevymyla, rozpúšťadlo ju má niest' iba vzliáním.

- Ktorý pigment bol najviac zastúpený? Ako to vieš zistiť?

☞ Chlorofyl – má najširší a najintenzívnejší zelený pás.

- Čo spôsobuje, že niektoré pigmenty sa pohybujú rýchlejšie a iné pomalšie?

☞ Rozdielna polarita a interakcie s papierom/TLC platničkou.

4. Vyhodnotenie a vysvetlenie

- Vysvetli úlohu chlorofylov A a B vo fotosyntéze a porovnaj ich význam s pomocnými pigmentmi.

☞ Chlorofyl a je hlavný fotosyntetický pigment, chlorofyl b rozširuje absorpčné spektrum. Pomocné pigmenty zachytávajú iné vlnové dĺžky a chránia pred poškodením svetlom.

- Ako chromatografia dokazuje, že list obsahuje viacero pigmentov, a čo to vypovedá o zložitosti fotosyntetického aparátu rastlín?

☞ Z jedného extraktu vznikajú viaceré farebné pásy, čo potvrdzuje, že fotosystém je zložený z viacerých pigmentov.

- Prečo rastlina potrebuje aj žlté a oranžové pigmenty (karotenoidy, xantofyly), keď dominantnou farbou listu je zelená?

☞ Zachytávajú iné časti spektra a chránia chlorofyly pred fotooxidáciou.

- Aký význam má diverzita rastlinných pigmentov z hľadiska prispôsobenia rastlín na rôzne svetelné podmienky?

☞ Rôzne pigmenty umožňujú rastlinám efektívne využívať svetlo v tieni aj na priamom slnku.

5. Zakreslenie výsledku

- Nakresli chromatogram alebo prilep obrázkov z experimentu.

👉 Vzor: zelený pás = chlorofyl, žltý = xantofyly, oranžový = karotenoidy, červený/fialový = antokyány.

6. Porovnanie metód

- Papierová chromatografia – výhody a nevýhody?

👉 + Jednoduchá, lacná, bezpečná; – Menej presná, rozmazané pásy.

- TLC chromatografia – výhody a nevýhody?

👉 + Ostrejšie škvrny, presnejšia, lepšie reprodukovateľná; – Vyžaduje špeciálne materiály, drahšia.

7. Diskusné otázky

- Ako pomáha diverzita pigmentov rastlinám pri fotosyntéze?

👉 Rozširuje spektrum absorbovaného svetla, zvyšuje účinnosť a chráni pred poškodením.

- Ako by vyzeral rastlinný svet bez chlorofylu?

👉 Fotosyntéza by neprebíhala, živočíchy by nemali zdroj potravy ani kyslíka.

- V čom by mohla chromatografia pomôcť v potravinárstve alebo vo výskume?

👉 Kontrola farbív a aditív, analýza prírodných látok, overovanie čistoty vzoriek.