

Identyfikacja flawonoidów w roślinach techniką TLC



Piotr Androsiuk
Sylwia Milarska



Ćwiczenia laboratoryjne



90 minut



Cele zajęć

Uświadomienie uczniom, że w roślinach występują różne naturalne związki-fitozwiązki, sposób izolacji flawonoidów i wykazanie obecności tych związków.

Po zajęciach uczennice i uczniowie:

- Wie co to są flawonoidy
- Wie, że flawonoidy występują zarówno w warzywach i owocach i jakie jest ich znaczenie
- Wie, że w mięcie pieprzowej występuje mentol
- Wie na czym polega chromatografia i potrafi ją przeprowadzić
- Potrafi posługiwać się pipetą automatyczną i Pasteur'a w celu przygotowania precyzyjnych objętości roztworów
- Potrafi nanieść próby ekstraktów roślinnych na płytkę chromatograficzną
- Ćwiczy (trenuje) wykonanie różnych rozcieńczeń prób ekstraktów roślinnych



Do przeprowadzenia zajęć będą potrzebne

Metody i techniki: burza mózgów, wykład, pogadanka, dyskusja, doświadczenie, pokaz.

Metody dydaktyczne: sprzęt, odczynniki chemiczne, projektor multimedialny, komputer, instrukcje doświadczeń.

Związek z podstawą programową

Przedmiot: Biologia

Etap edukacji/klasa: II LO

Cele kształcenia – wymagania ogólne: wybór metody – osiągnięcie zamierzonego celu

Treści nauczania – wymagania szczegółowe: zajęcia pozalekcyjne

Opis przebiegu zajęć

1. Przedstawienie krótkiej prezentacji w PowerPoint na temat roślinnych polifenoli, wśród których na uwagę zasługują flawonoidy ze względu na ich liczne właściwości biologiczne, w tym lecznicze. Najbardziej znane są trzy flawonoidy: rutyna, kwercytyna i hesperydyna. Obecność flawonoidów można wykazać między innymi w takich ziołach jak: mięta pieprzowa, skrzyp polny, dziurawiec – uczniowie próbują sformułować temat zajęć.
2. Podanie tematu oraz celów zajęć.
3. Rozdzielenie i omówienie zadań:
Grupa 1: Doświadczenie 1- ekstrakcja na ciepło flawonoidów z ziele mięty pieprzowej (instrukcja doświadczenia – załącznik 1).
Grupa 2: Doświadczenie 1- ekstrakcja na ciepło flawonoidów z ziele skrzypu (instrukcja doświadczenia – załącznik 1).
Grupa 3: Doświadczenie 1- ekstrakcja na ciepło flawonoidów z ziele dziurawca (instrukcja doświadczenia – załącznik 1).
4. Wspólne wykonanie doświadczenia nr 2 Chromatografia cienkowarstwowa (TLC) (instrukcja – załącznik 2).
5. Prezentacja wyników przeprowadzonych doświadczeń.
6. Podsumowanie zajęć – omówienie wyników, wyciąganie wniosków, zadawanie dodatkowych pytań przez uczestników zajęć.



Załączniki

Załącznik nr 1

Instrukcja przebiegu doświadczenia

Ekstrakcja flawonoidów z roślin (na ciepło)

- Ziele mięty pieprzowej, ziele skrzypu, ziele skrzypu
- Alkohol etylowy

Sprzęt

- Kolby stożkowe o objętości 100 ml
- Moździerze porcelanowe, tłuczki porcelanowe

- Zlewki o objętości 100 ml
- Lejki
- Filtry
- Probówki

Wykonanie

1. Utarte np. ziele mięty pieprzowej przenieś do kolby.
2. Zalej małą ilością etanolu.
3. Kolbę umieść w gorącej łaźni wodnej, mieszaj zawartość kolby delikatnie, nią kołysząc.
4. Zawartość kolby przesącz przez sączone do zlewki.

Załącznik nr 2

Instrukcja przebiegu doświadczenia

Chromatografia TLC - rozdział chromatograficzny flawonoidów roślinnych

Odczynniki:

- Wyizolowany barwnik
- Octan etylu, alkohol etylowy, toluen, kwas mrówkowy, kwas octowy, chlorek glinu

Sprzęt

Płytki chromatograficzne (TLC), pipety automatyczne i końcówki do pipet, komory chromatograficzne, dygestorium, probówki typu Eppendorf, statywy do probówki typu Eppendorf, suszarka 100°C, lampa UV.

Wykonanie

1. Na płytki chromatograficzne o wymiarach 8 cmx 10 cm należy nanieść ekstrakty roślinne w ilości ok. 20 µl w odległości ok. 1 cm od dolnej krawędzi płytki.
2. Do komory chromatograficznej z zawartym wewnątrz układem rozwijającym przenieść płytki i ustawić je opierając o ścianki komory.
3. Chromatogram rozwijać na wysokość 2/3 długości płytki.
4. Chromatogram wysuszyć w suszarce 100°C. Chromatogram obejrzyć używając lampy UV, a następnie wywołać związkami chemicznymi.



Piśmiennictwo

1. Przeciwtleniacze w żywności. Aspekty zdrowotne, technologiczne, molekularne i analityczne. W. Grajek (red.), WNT, Warszawa, 2007.
2. Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie. G. Bartosz, PWN, Warszawa, 2003.
3. Hanna Cieczot Biologiczna aktywność flawonoidów. Pol. J. Food Nutr. Sci. 2000, 50, 4, 3-13.
4. Strzelecka, H.; Kamińska, J.; Kowalski, J.; Malinowski, J.; Walewska, E. Chemiczne metody badań roślinnych surowców leczniczych. Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1987.
5. Link do filmu https://youtu.be/rbp_Qc4jMAc