

Augalų pigmentų išskyrimas ir spektroskopinis charakterizavimas

Darbo užduotys:

1. Iš daržinio špinato lapų bei morkos šakniavaisių išskirti pigmentus, ekstrahuojant juos vandeniui (špinatai), etanolui (špinatai), acetoniui (špinatai, morkos) ir rafinuotu rapsų aliejumi (špinatai, morkos).
2. Užregistruoti gautų bandinių optinio tankio spektrus.
3. Užregistruoti gautų bandinių fluorescencijos spektrus, žadinant ties keliais bangų ilgiais (parenka dėstytojas pagal pateiktą sugerties spektrą).
4. Užregistruoti gautų bandinių fluorescencijos žadinimo spektrus ties keliais fluorescencijos bangų ilgiais (parenka dėstytojas pagal fluorescencijos spektrą).
5. Paaikškinti gautus rezultatus.

Darbo eiga:

1. Morkos šakniavaisius nuplauname, nuskutame, supjaustome gabalėliais peiliu ir sumalame smulkintuvu.
2. Užpilame gautą tyrę nurodytais tirpikliais (kiekvienam tirpikliui paimti maždaug po lygiai tyrės ir užpilti atskirame plastikiniame indelyje), užsukame indelį ir suplakę paliekame, kad ištirtų pigmentai.
3. Analogiškus veiksmus atliekame su špinatų lapais.
4. Praėjus 5-10 minučių, iš indelių pipete išsiurbiamo tirpiklį su ekstrahuotais pigmentais (stengiamės neimti didelių gabaliukų) ir supilame į centrifugos mėgintuvėlius. Mėgintuvėlius pilame poromis, stengdamiesi, kad poros mėgintuvėlių užpildymas skysčiu būtų vienodas (to reikia, kad centrifugos rotorius būtų subalansuotas).
5. Mėgintuvėlių poras priešpriešiais sudedame į centrifugą ir centrifuguojame 5-10 minučių.
6. Atsargiai išimame mėgintuvėlius, švaria pipete nusiurbiamo supernatantą ir supilame į spektrofotometro kiuvetes.
7. Bandinių aliejuje necentrifuguojame, bet gerai sumaišę paliekame 10 minučių. Tada švaria pipete atsargiai nusiurbiamo supernatantą (stengiamės neimti didelių gabaliuko nusėdusių dugne) ir supilame į spektrofotometro kiuvetes.
8. Išmatuojame paruoštų bandinių ir atraminio aliejaus sugerties spektrus, jei reikia – tirpalus praskiedžiame naudotu tirpikliu.
9. Išmatuojame fluorescencijos ir fluorescencijos žadinimo spektrus pagal dėstytojo nurodytus registravimo parametrus.
10. Atvaizduojame gautus optinio tankio spektrus ir paaikškiname, nuo ko priklauso užregistruotų spektrų forma.
11. Atvaizduojame ir palyginame bandinių fluorescencijos spektrus išmatuotus skirtinguose tirpikliuose, įvertiname spektrų intensyvumo, padėties ir formos pokyčius nuo žadinimo bangos ilgio.

12. Atvaizduojame ir palyginame bandinių fluorescencijos žadinimo spektrus išmatuotus skirtinguose tirpikliuose.
13. Įvardijame bandiniuose ekstrahuotus pigmentus naudojantis dėstytojo nurodytais literatūros šaltiniais.

Klausimai:

1. Koks turi būti bandinio optinis tankis, kad galėtume patikimai išmatuoti jo fluorescenciją?
2. Kuo skiriasi fluorescencijai registruoti naudojamos kiuvetės nuo tik optinio tankio matavimams skirtų kiuvečių?
3. Koks ryšys tarp bandinio fluorescencijos ir jos žadinimo spektrų?
4. Koks ryšys tarp bandinio fluorescencijos žadinimo ir optinio tankio spektrų?
5. Kaip priklauso fluorescencijos spektrų intensyvumas, maksimumo padėtis ir spektro forma nuo žadinimo bangos ilgio?
6. Kuo skiriasi bandiniai, gaunami špinatus ekstrahuojant vandeniu, etanolio ir acetonu? Kodėl?
7. Į kurį špinatų bandinį panašesnis špinatų ekstraktas aliejuje?
8. Kuo skiriasi bandiniai, gaunami morkas ekstrahuojant acetonu ir aliejumi? Kodėl?
9. Į kurį špinatų bandinį panašesnis morkų ekstraktas?
10. Kaip paaiškintumėte emisijos intensyvumo skirtumus tarp špinatų bandinių?
11. Kaip paaiškintumėte emisijos maksimumo padėties skirtumus tarp minėtų špinatų bandinių?