

# BARVILA V ZELENIH LISTIH

*poročilo*

## 1. TEORETIČNI UVOD:

Ali daje barvo zelenemu listu eno samo barvilo, ali pa je teh barvil morda več? To boste ugotovili s posebno laboratorijsko metodo, ki jo imenujemo papirna kromatografija. Izvajali je boste na dva načina - na traku in na krogu. Osnovni princip je v obeh primerih enak: različne snovi so različno topne v topilu. Tiste snovi, ki se v topilu bolje topijo, odnaša topilo hitreje, tiste, ki so slabše topijo, pa počaseje. Topilo se dviguje po filtrirnem papirju zaradi kapilarnosti - s seboj odnaša raztopljene snovi, ki so na filtrirnem papirju ločijo tako, da lahko opazujemo posamezne sestavine. Če so te sestavine barvila, jih lahko opazujemo s prostim očesom. Če so v vzorcu neobarvane snovi, si pomagamo z različnimi detektorji (UV svetloba, indikatorji....).

## 2. NAMEN VAJE:

Spoznati in razumeti metode ločevanja na osnovi različne topnosti – papirne kromatografije. Izvedeti, da je v listih več različnih barvil in določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi  $R_f$  vrednosti.

### **hipoteza**

Barvila v zelenem listu so klorofil a in klorofil b, ksantofili in karoteni.

## 3. MATERIALI IN PRIPOMOČKI:

zeleni listi (trava, kopriva, teloh, pelargonija,...), alkohol (etanol), zamašek s kavljem iz žice, škarje, topilo (8 % acetona, 92 % petroletra), epruvete, vroča vodna kopel, pipeta, pipeta s tanko konico (mikropipeta), velika epruveta ali stekleni valj z zamaškom, petrijevka, trak filtrirnega papirja ali okrogli filtrirni papir, kuhalnik, držalo za epruvete, stojalo za epruvete, urno steklo, kosom vate, kremenčev pesek

## 4. METODA:

### **a) Priprava listnega ekstrakta**

1. Drobno zrežite približno 10 g zelenih listov. Dajte jih v terilnico, dodajte malo kremenčevega peska in dobro strite.
2. Pretresite v epruveto, dodajte 4 ml acetona, dobro pretresite in pustite stati 10 minut.
3. Po 10 minutah dodajte 4 ml vode in ponovno pretresite.
4. Dodajte 3 ml petroletra in močno pretresite. Pustite stati toliko časa, da se pigmenti ločijo v zgornji plasti.
5. Ekstrakt odpipetirajte v drugo epruveto.

### **b) Papirna kromatografija na traku**

1. Trak filtrirnega papirja pritrdite na zamašek! Uporabite lahko lepilni trak, lahko vtaknete filtrirni papir v zarezan zamašek ali pa ga obesite na kavelj iz žice, ki ste ga vtaknili v zamašek. Trak mora viseti navpično v epruveti, tako da se skoraj dotika dna, ne sme pa se dotikati sten epruvete. Pri delu se ne dotikajte površine traku! Papir vedno prijemajte s pinceto!
2. Odstranite zamašek s trakom filtrirnega papirja. V epruveto nalijte topilo, tako da bo trak filtrirnega papirja segal v tekočino, ko boste epruveto spet zamašili.
3. S svinčnikom (ne s črnilom) naredite 2 črti na papirnat trak. Prvo približno 2 cm od spodnjega roba, drugo pa približno 2 cm pod zgornjim robom. Na spodnjo črto nanosite z drobno pipeto ali s stekleno palčko kapljico pigmentnega izvlečka! Papir naj so dobro osuši! Ta postopek ponavljajte tako dolgo, da bo na kromatografskem traku temna črta rastlinskega izvlečka.

4. Trak z barvno črto postavite v epruvoto. Prepričajte se, da konec traku res sega v topilo. Pazite, da se trak ne bo dotikal sten posode. Kromatografija je končana takrat, ko se topilo dvigne skoraj do vrha papirnega traku.

#### c) Papirna kromatografija na krogu

1. Iz kromatografskega papirja izrežite krog, ki naj bo male večji od pokrova petrijevke.
2. S kapilaro nanašajte ekstrakt v sredino kroga, vedno na isto točko. Med vsakim nanosom počakajte nekaj sekund, da se ekstrakt posuši. Ekstrakt nanašajte toliko časa, da dobite na sredini kromatografskega papirja temno zelen krog.
3. Ko so posuši, napravite v sredini kroga luknjico in vanjo vložite zvitek, ki ste ga naredili iz koščka kromatografskega papirja.
4. V petrijevko nalijte topilo. Kromatografski papir položite na petrijevko tako, da bo zvitek iz papirja (stenj) v topilu. Pokrijte petrijevko in počakajte toliko časa, da bo topilo doseglo rob kromatografskega papirja oz. rob dna petrijevke.
5. Kromatogram vzemite iz petrijevke in ga posušite na zraku.

### 5. REZULTATI:

#### a) Priprava listnega ekstrakta

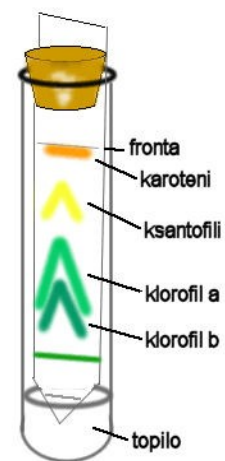
Dobili smo tekočino temno zelene barve, v kateri so bila raztopljena vsa barvila, ki so bila prej v listih.

#### b) Papirna kromatografije na traku

Rezultati, ki smo jih dobili prikazuje slika na desni. Najslabše topen je klorofil b, ki je temno zelen, sledi klorofil a, ki je svetlo zelen. Dokaj dobro topni so ksantofili, ki so blede rumene barve, najbolj topni pa so oranžno obarvani karoteni.

#### c) Papirna kromatografija na krogu

Rezultati, ki smo jih dobili tu so bili popolnoma enaki tistim na traku, tu se je kromatogram videl celo lepše. Različna barvila so si tu sledila v koncentričnih krogih, od temno zelenega klorofila b, ki je bil najbližje središču do karotenov, ki so bili najbolj oddaljeni in katerih krog je bil zato največji.



### 6. KOMENTAR REZULTATOV:

#### a) Priprava listnega ekstrakta

Ta del smo v šoli izvedli nekoliko drugače, kakor je napisano v navodilih in sicer nekoliko bolj enostavni. Vzeli smo nekaj listov in jih prekuhali in tako dobili popolnoma enako raztopino barvil. Ugotovimo lahko, da v listu prevladujejo zelena barvila (so močnejša kot ostala), kar pa nam je znano že iz narave.

#### b) Papirna kromatografije na traku

Rezultati, ki smo jih dobili niso bili presenetljivi, saj sem poznal sestavo barvil v zelenih listih, nisem pa vedel, kakšna bo razporeditev oz. katera barvila so bolj topna in katera manj. Kromatogram, ki smo ga v resnici dobili, ni bil tako lep in očitni kot je zgornji, saj se je vseeno dalo ugotoviti za katere barve gre.

#### c) Papirna kromatografija na krogu

Rezultat pri krožnem kromatogramu pa je bil lepše razviden, meje med barvami so bile ostrejše in očitnejše. Razloga za tako razliko ne vidim, res pa je da noben od kromatogramov ni bil tako lep kot tisti, ki sem ga dobil, ko sem pri vaji iz kemije kromatografiral črnilo iz črnega flomastra.

## **7. ZAKLJUČEK:**

Razlogi za oba dokaj slaba kromatograma so lahko slabo topilo, slabo pripravljen ali neprimeren ekstrakt listov ali pa smo se filtrirnega papirja prevečkrat dotaknili (dejstvo je, da smo ga se) inzato barvila niso tako lepo potovala. Hipotezo sem v celoti lahko potrdil, dodam lahko samo še to, da si po topnosti v našem topilu sledijo barvila takole: klorofil b, klorofil a, ksantofili in najbolj topni karoteni. Gre za po mojem mnenju zanimivo vajo, saj je očem prijazna (če dobiš lep kromatogram).