

Barvilo v zelenih listih

Uvod:

Namen te vaje je bil, da ugotovimo, ali daje barvo zelenemu listu eno samo barvilo ali več barvil skupaj. To se da ugotoviti s posebno laboratorijsko metodo, ki se imenuje papirna kromatografija. Kromatografija je metoda, s katero ločujemo sorodne snovi. Izvaja se lahko na dva načina; na traku ali 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 se slabše topijo, pa počasneje. Topilo se dviguje po filtrirnem papirju zaradi kapilarnosti – s seboj odnaša raztopljene snovi, ki se na filtrirnem papirju ločijo tako, da lahko opazujemo posamezne sestavine. Za posamezne sestavine preizkusnega vzorca lahko določimo vrednost retencijskega faktorja (R_f). To je hitrost, s katero se določena snov giblje po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo. R_f je količnik med razdaljo, ki jo preide snov (v našem primeru določen pigment) in razdaljo, ki jo preide topilo. Razdalja, ki jo preide snov, je razdalja od startnega mesta (od črte na traku, oz. od sredine kroga) do sredine določene barvne lise.

Namen vaje:

- * Spoznati in razumeti metode papirne kromatografije
- * Izvedeti, da je v zelenih listih več različnih barvil
- * Znati določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi R_f vrednosti

Materiali:

- * Zeleni listi (praprotni in ohrovt)
- * Zamašek s kavljem z žice
- * Škarje
- * Topilo
- * Aceton
- * petroleter
- * Epruvete
- * Pipeta
- * Steklen valj z zamaškom
- * Trak filtrirnega papirja
- * Kremenčev pesek

Postopek:

1. Priprava listnega ekstrakta

Drobno smo razrezali približno 10g zelenih listov praprotni ali ohrovta. Dali smo jih v terilnico, dodali malo kremenčevega peska in dobro strli. Vse skupaj smo nato dali v

epruveto, dodali 4 ml acetona, dobro pretresli in pustili stati 10 minut. Po desetih minutah smo dodali 4 ml vode in ponovno pretresli. Nato smo dodali 3 ml petroletra in močno pretresli. Pustili smo stati dokler se niso pigmenti ločili v zgornji plasti. Ekstrakt smo nato odpipetirali v drugo epruveto.

2. Kromatogram

Na trak filtrirnega papirja smo s svinčnikom potegnili črti 2 cm od zgornjega in spodnjega roba. Nato smo trak pritrdili na kaveljček zamaška. Trak je moral viseti navpično v valju, tako da se ni dotikal dna in sten valja. Pri delu se nismo smeli dotikati površine traku; papir smo vedno prijimali s pinceto.

Papir smo nato staknili z valja in na spodnjo črto s pipeto nanесли kapljico pigmentnega izvlečka. Papir smo nato dobro posušili. Ta postopek smo ponavljali dokler nismo imeli na kromatografskem traku temne črte rastlinskega izvlečka. Trak smo nato postavili v epruveto v katero smo že prej natočili topilo. Še enkrat smo se prepričali, da se trak ne dotika sten epruvete in sega v topilo. Kromatografija je končana, ko se topilo dvigne do zgornje črte.

3. Določanje retencijskega faktorja (Rf)

Pri papirni kromatografiji lahko za posamezne sestavine preizkusnega vzorca določimo Rf vrednost. To je hitrost, s katero se določena snov giblje po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo.

Vrednost Rf izračunamo:

$$\text{Retencijski faktor (Rf)} = \frac{\text{razdalja, ki jo preide snov}}{\text{razdalja, ki jo preide topilo}}$$

Retencijski faktor ima vrednost 1 ali pa ima vrednost med 1 in 0 ($0 < Rf < 1$)

Razdalja, ki jo preide snov, je razdalja od startnega mesta do sredine določene barvne lise.

RezultatiPapirna kromatografijaVrednost retencijskega faktorja (Rf)

Pigmenti	Prepotovana razdalja [cm]	Retencijski faktor(Rf)
Klorofil b	2.5	0.192
Klorofil a	7	0.538
Ksantofil	9.5	0.731
Karoten	12.5	0.962
Celotna pot, ki jo je prešlo topilo = 13 cm		

Tabela: Vrste barvil in njihovi retenacijski faktorji.

Diskusija

Papirno kromatografijo smo izvedli na traku. Osnovni princip je, da so različne snovi (barvila) različno topne v topilu. Barvila lahko opazujemo s prostim očesom.

Klorofili so fotosintetska barvila, v našem ekstraktu sta bila prisotna klorofil a in klorofil b. Klorofila absorbirata svetlobo podobnih valovnih dolžin – predvsem modro in rdečo. Ker odbijata svetlobo iz rumenega in zelenega spektra, liste, ki vsebujejo največ klorofila, vidimo zelene barve.

Največ klorofila je v rastlinah pomladi in poleti, jeseni pa, ko klorofil razpade, se izrazijo druga barvila. Če bi izdelali ekstrakt iz porumenelih listov, bi dobili drugačen rezultat; pasovi zelene barve bi verjetno bili precej ožji.

Karoteni odbijajo rumeno in rdečo svetlobo, zato jih vidimo oranžno rumenkaste. Ksanofili odbijajo svetlobo iz rumenega spektra, zato jih vidimo kot rumena barvila.

S tem ko rastlina vsebuje različna fotosintetska barvila, bolje izkoristi celotni spekter svetlobe, kot če bi vsebovala klorofil ene vrste.

Zaključek

Dokazali smo, da so v listih praproti prisotna različna barvila. Poleg zelenih (klorofil a in b), ki jih vidimo že na prvi pogled, najdemo še rumeni ksantofil in rdečkaste karoteine. Z metodo papirne kromatografije smo ta barvila tudi ločili. Tako smo dokazali, da so karoteni najbolj topni, manj so ksantofili in še manj klorofil a in b; slednji je bil najmanj topen.

Literatura

- * Pevec, S. (1999). BIOLGIJA – Laboratorijsko delo. Ljubljana: DZS
- * Drašler, J. et al. (2005). BIOLOGIJA – Navodila za laboratorijsko delo. Ljubljana: DZS