

**3. poročilo o laboratorijski vaji**

# **Barvila v zelenih listih**

## **Uvod:**

Pri tej laboratorijski vaji so bili v središču pigmenti v zelenem listu. Temeljno vprašanje je bilo ali je v listu le eno barvilo, ali pa je morda teh barvil več. To smo preverili z laboratorijsko metodo, imenovano papirna kromatografija. Obstajata dva načina: na traku in na krogu. Princip je pri obeh enak, zato je bilo vseeno za kateri način bi se odločili, a smo izbrali način s krogom. Vemo, da tiste snovi, ki se v topilu bolje topijo, odnaša topilo hitreje, tiste, ki pa se topijo slabše pa počasneje. Vzrok, da se topilo dviguje oz. potuje navzven je kapilarnost, s seboj pa odnaša raztopljene snovi, ki se na kromatografskem papirju ločijo, nato pa lahko opazujemo posamezne sestavine. V našem primeru so to barvila in jih lahko opazujemo s prostim očesom, v katerem drugem poizkusu pa so lahko tudi neobarvane snovi, tam pa si pomagamo z različnimi detektorji, kot so UV svetloba, indikatorji...

Namen vaje je bil:

- Spoznati in razumeti metode papirne kromatografije
- Zvedeti, da zeleni listi vsebujejo več različnih barvil
- Razlaga pojma retencijski faktor
- Znati določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi vrednosti retencijskega faktorja (ob pomoči dodatne literature)

## **Metode:**

Na začetku naj bi sami pripravili listni ekstrakt, a je to predhodno storila že gospa laborantka. Kot sem že omenil smo izbrali način s krogom, zato načina s trakom ne bom omenjal, sicer je pa princip enak. Vzeli smo krog, narejen iz kromatografskega papirja. Na sredino smo začeli nanašati kapljice ekstrakta z dolgo kapalko. Nanesli smo 12 kapljic, točno na sredino in po vsaki naneseni kapljici smo površino posušili s sušilcem za lase pravokotno na podlago zato, da se kapljice ne bi razlile. V resnici smo le pospešili postopek sušenja. Nato smo dobili še nogico tudi iz kromatografskega papirja, ki smo jo namočili v topilo in topilo je začelo prehajati po njej in postopek ločevanja se je začel. Čez papir smo položili zgornji del petrijevke z namenom, da bi preprečili izhlapevanje topila. Naknadno smo prejeli še drug kromatografski papir, kjer je bil uporabljen bolj svež ekstrakt in so bili rezultati bolj vidni. Retencijski faktor pa smo morali izračunati doma.

## Rezultati:

**Tabela 1: vrednost Rf za posamezno barvilo, označeno s črkami od a do e**

| barvna lisa | vrednost retencijskega faktorja |
|-------------|---------------------------------|
| a           |                                 |
| b           |                                 |
| c           |                                 |
| d           |                                 |
| e           |                                 |

## Diskusija:

Papirna kromatografija je klasična porazdelitvena, ki temelji na topnosti topila in kapilarnosti.

Poizkus je potekal v redu. V primeru, da kroga ne bi pokrili, bi topilo nemoteno izhlapevalo in morda ga ne bi bilo dovolj za končanje poskusa. Morda bi še dodatno hlapi kako vplivali na potek, saj bi bilo nekje topila več, nekje manj in ne bi enakomerno prehajalo po papirju. Morali smo tudi paziti, da smo postopek prekinili takrat ko se je najhitrejša barvilo približalo robu papirja ali petrijevke. Če ne bi postopka zaustavili, bi barvilo prešlo v nepokrit prostor in pogoji potem ne bi bili za cel poizkus enaki. Optimalen poizkus bi bil tak, da bi se ekstrakt razporedil v popoln krog, vendar pa tega ni moč doseči. Kapljice je bilo potrebno sušiti zaradi kapilarnosti, da ne bi nastal prevelik pas ekstrakta, saj bi bil tak papir neuporaben za ločitev.

V šoli smo dobili podatke o razporejenosti barvil po vrsti kot si sledijo od zunanega roba proti središču kroga. Najbolj zunanje barvilo je rdeče-oranžni  $\beta$  karoten, ki je tudi najbolj topen. Sledi mu siv feofitin, nato rumeni ksantofili (predvsem v narcisah, mačehah, perunikah), na koncu pa še modro-zelen klorofil a in rumeno-zelen klorofil b. klorofil a in b sta osnovni fotosintetski barvili. Na kromatografskem papirju se vsa barvila ne vidijo najbolje.

Omenili smo tudi pojem fotodestrukcija. Izraz uporabljamo, ko klorofil razpade na svetlobi. Na to moramo paziti tudi pri rezultatih, zato papirja ne smemo puščati na svetlobi in je boljše, da ga hranimo v temi, sploh če je papir rezultat kakšnega bolj pomembnega poizkusa.

Glavno barvilo je klorofil, zato so listi zeleni. Vendar pa v jeseni pridejo na dan druga barvila, ki list drugače obarvajo, saj klorofil takrat razpade in tako v listu ne prevladuje več zelena barva.

### Razlaga $R_f$ -retencijskega faktorja:

Retencijski faktor nam pove razmerje med razdaljo, ki jo prepotuje barvilo, v našem primeru določen pigment in razdaljo, ki jo prepotuje topilo. Retencijski faktor ima maksimalno vrednost 1, kar pomeni da barvilo potuje enako hitro kot topilo, ponavadi pa je manjši od 1, a vedno večji od 0. Razdaljo, ki jo preide snov merimo od startnega mesta (od srede kroga) do sredine določene barvne lise.  $R_f$  nima enote.

Faktor je zelo uporaben, sploh če želimo določiti vrsto barvila. Ob iskanju barvila pa moramo upoštevati ne samo vrednost  $R_f$ , temveč tudi vrsto topila in papirja, ki smo ju uporabili pri kromatografiji. Če bi želeli ločiti barvila, ki jih najdemo kje drugje (npr. pri rdečih algah), bi kromatografijo izvedli po podobnem principu, le da bi uporabili bolj primerno topilo in morda tudi bolj primeren papir. Podatke o barvilih in vrednostih retencijskega faktorja poiščemo v dodatni literaturi.

## **Zaključek:**

Dosegli in spoznali smo vse stvari, ki sem jih napisal v uvodu, kot namen vaje. S papirno kromatografijo sem se srečal že v osnovni šoli in tudi zdaj mi je bil to eden najlažjih poizkusov, dokaj zanimivih in lahko razumljivih. Spoznali smo tudi nova pojma – retencijski faktor in fotodestrukcija, kot dodatno stvar pa smo se pomenili še o tem kje mi vidimo, da barvila pridejo posebej do izraza.

## **Viri in literatura:**

- Smilja Pevec: Biologija- Laboratorijsko delo; DZS, 2004
- Biologija- Navodila za laboratorijsko delo; DZS, 2004