

## LABORATORIJSKA VAJA: BARVILA V ZELENIH LISTIH

Za potek fotosinteze so nujna fotosintetska barvila. Barvila se nahajajo v kloroplastih. Za ločevanje posameznih komponent zmeri uporabljamo različne kromatografske metode. Fotosintetska barvila so dobro topna v organskih topilih (petroleter in aceton), ker so barvila dobro raztopljena v topilu smo uporabili papirno kromatografijo, ki ločuje posamezne komponente (posamezna barvila) na osnovi njihove topnosti. Barvila, ki so boljše topna hitreje potujejo po papirju kot slabše topna barvila. Vzrok za to je kapilarnost papirja. Ker so snovi, ki smo jih opazovali barvila, smo jih lahko videli s prostim očesom. V zelenih rastlinah je glavno barvilo klorofil, ki je v kloroplastih in omogoča spremembo svetlobne energije v kemično. Poznamo več različnih vrst klorofila, klorofil a in klorofil b. Poleg klorofila so v rastlinah tudi druga barvila, to so karoten in ksantofil.

Spoznali bomo:

metode papirne kromatografije

ali je v zelenih listih samo eno barvilo, ali jih je več

določiti posamezno barvilo v ekstraktu glede na  $R_f$  vrednost

Material:

zeleni listi

petroleter

aceton

destilirana voda

kapilara

škarje

tehtnica

terilnica

kapalka

dve epruveti z zamaškom

kromatografski papir

kremenčev pesek

Potek vaje:

Najprej se pripravi ekstrakt:

Drobno smo zrezali 1g zelenih listov. Dali smo jih v terilnico, dodali malo kremenčevega peska in dobro strli. Pretresli smo epruveto in dodali 4 ml acetona, dobro pretresli in pustili stati 10 minut.

Po 10 minutah smo dodali 4 ml vode in ponovno pretresli. Dodali smo 3 ml petroletra in močno pretresli. Pustili smo stati toliko časa, da so se pigmenti ločili v zgornji fazo. Ekstrakt smo odpipetirali v drugo epruveto.

Nato smo izdelali kromatogram:

iz kromatografskega papira smo izrezali krog, ki je bil malo večji od pokrova petrijevke. S kapilaro smo nanašali ekstrakt na sredino kroga. Vedno v isto točko, naredili smo osem nanosov. Nato smo s škarjami napravili luknjico v sredino zelenega kroga in vanjo smo ustavili zavitek, ki smo ga naredili iz koščka kromatografskega papirja. V petrijevko smo nalili topilo (92% petroletra in 2% acetona). Kromatografski papir smo položili na petrijevko tako, da je zavitek iz papirja (stenj) segal v topilo. Petrijevko smo pokrili in počakali, da je topilo segalo do roba spodnjega dela petrijevke. Kromatogram smo vzeli iz petrijevke in ga posušili.

Rezultati:

Skica 1: Kromatogram

Zaključek: