

1. LABORATORIJSKO DELO:

BARVILA V ZELENIH LISTIH



GIMNAZIJA KOČEVJE
Šolsko leto 2009/2010

1. UVOD

1.1. Teoretične osnove

Glavno vprašanje te laboratorijske vaje je bilo, če daje barvo zelenemu listu eno samo barvilo, ali pa je teh barvil morda več. To smo ugotavljali s papirno kromatografijo. Obstajata dva načina papirne kromatografije: na traku in na krogu. Mi smo si izbrali način s krogom. Sicer je osnovni princip je pri obeh 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. 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,...)

1.2. Nameni in cilji

- + spoznati in razumeti metode papirne kromatografije,
- + zvedeti in znati dokazati, da zeleni listi vsebujejo več različnih barvil,
- + znati določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi R_f vrednosti (retencijskega faktorja)

1.3. Delovna hipoteza

Zeleni listi vsebujejo več barvil. Tisto barvilo, ki ga topilo odnaša hitreje bo imelo večji retencijski faktor.

2. MATERIAL IN POSTOPEK

2.1. Material

Pri vaji smo uporabili naslednji material:

- zeleni listi (trava, kopriva, teloh, pelargonija,...)
- alkohol (etanol)
- škarje
- topilo (8 % acetona, 92 % petroletra)
- epruvete
- vroča vodna kopel
- pipeta
- velika epruveta ali stekleni valj z zamaškom
- petrijevka
- okrogli filtrirni papir
- kuhalnik
- držalo za epruvete
- stojalo za epruvete
- urno steklo

- kosem vate
- kremenčev pesek

2.2. Postopek

Najprej je laborantka naredila listni ekstrakt:

- Drobnno je zrezala približno 10 g zelenih listov, jih dala v terilnico, dodala malo kremenčevega peska in dobro strla.
- Nato je te liste dala v epruveto, dodala 4 ml acetona, dobro pretresla in pustila stati 10 minut.
- Po 10 minutah je dodala še 4 ml vode in ponovno pretresla.
- Nato je dodala 3 ml petroletra in vse skupaj močno pretresla. Pustila je stati toliko časa, dokler se pigmenti v zgornji plasti niso ločili.
- Ko so se pigmenti v zgornji plasti ločili, je laborantka ta ekstrakt odpipetirala v drugo epruveto.

Od tukaj naprej je pa naše delo:

- Iz kromatografskega papirja smo dobili izrezan krog, ki je bil malo večji od pokrova petrijevke.
- S kapilaro smo nanašali ekstrakt v sredino kroga, vedno na isto točko. Med vsakim nanosom smo počakali nekaj sekund, da se je ekstrakt posušil. Ekstrakt smo nanašali toliko časa, da smo v sredini kromatografskega papirja dobili temno zelen krog (približno 100 nanosov).
- Nato smo počakali, da se je ekstrakt posušil, in v sredini kroga smo naredili luknjico in vanjo vložili zvitek iz kromatografskega papirja.
- V petrijevko smo nalili topilo, kromatografski papir položili na petrijevko tako, da je bil zvitek iz papirja v topilu. Pokrili smo petrijevko in počakali toliko časa, da je topilo doseglo rob kromatografskega papirja oz. rob dan petrijevke.
- Kromatogram smo vzeli iz petrijevke in ga posušili na zraku.

3. REZULTATI

3.1. Kromatogram

3.2. Retencijski faktor

Za vsako barvilo smo izračunali R_f (retencijski faktor), ki so prikazani v tabeli. Retencijski faktor je hitrost, s katero se giblje določena snov po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo.

$R_f = \text{pot, ki jo preide posamezno barvilo} / \text{pot, ki jo preide topilo}$

Retencijski faktor ima vrednost 1 ali pa je manjši od 1, vendar v vsakem primeru večji od 0. Razdalja, ki jo preide snov, je razdalja od startnega mesta (od srede kroga) do sredine določene barvne lise.

Tabela 1: Retencijski faktor za barvne lise na kromatogramu

ime pigmenta	barva	retencijski faktor (R_f)
klorofil b	rumenozelen	0.38
klorofil a	modrozelen	0.57
ksantofil	rumenorjav	0.75
karoten	oranžen	0.98

4. RAZPRAVA

Potrdim lahko svojo hipotezo. Listi vsebujejo več barvil, od katerih sta v ospredju klorofil b in a, zato mi liste vidimo zelene. Klorofila, ki sta fotosintetski barvili 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.

Pozimi pa rastlina ne opravlja fotosinteze in zato ne potrebuje fotosintetskih barvil, zato le-ta razgradi. Jeseni, ko se razgradi zeleno barvilo (klorofil a in b) pa pridejo v ospredje tudi druga barvila, kot so karoteni in ksantofili. In prav zaradi tega pojava lahko jeseni spremljamo celo paleto barvnih odtenkov, ki jih povzroča počasen razpad določenih fotosintetskih barvil. Karoteni in ksantofili so t.i. pomožni ali antenski pigmenti, ki absorbirajo svetlobo različnih valovnih dolžin in jo prenašajo h glavnemu pigmentu, s tem pa je svetlobni spekter bolj izkoriščen.

5. 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 karoteini najbolj topni, manj so ksantofili in še manj klorofil a in b; slednji je bil najmanj topen.

6. LITERATURA

- delovni list: Barvila v zelenih listih
- ustno pri pouku