

4. VAJA

KROMATOLOGRAFIJA

1. CILJI EKSPERIMENTA:

Namen četrte vaje je bilo predvsem spoznavanje in razumevanje nove metode dela: papirne kromatografije, s katero smo ločevali barvila v listih rastlin.

Poleg praktičnega dela smo se seznanili s štirimi različnimi pigmenti, ki se nahajajo v listih zelenih rastlin.

2. UVOD:

S pomočjo kromatografije, smo želeli med seboj ločiti kemično podobne zmesi na posamezne snovi glede na različno topnost teh snovi.

Želeli smo dokazati, da se v listih zelenih rastlin nahaja več različnih barvil.

Z že vnaprej pripravljenim ekstratom Aralije in Hibiskusa, smo ločili vsa štiri barvila.

S tehniko kromatografiranja smo hoteli ugotoviti predvsem *kateri* fotosintetski pigment je najbolj topen v danem topilu in se bo posledično najbolj razširil po filtrirnem papirju.

Zaradi različno obarvanih krogov na filtrirnem papirju, so bili rezultati dovolj jasni ter prepričljivi že samo z opazovanjem.

3. MATERIALI:

- ◆ Okrogel kromatografski papir
- ◆ Ozek trak kromatografskega papirja
- ◆ Topilo (92% petroletra in 8% acetona)
- ◆ Epruveta z ekstraktom listnega barvila Aralije ter Hibiskusa
- ◆ Kapilara
- ◆ Petrijevka s pokrovom

4. METODE DE LA:

Že vnaprej pripravljen ekstrakt Hibiskusa in Aralije z acetonom smo s pomočjo kapilare previdno odpipetirali ter ga počasi nanašali na sredšče kroga, in s tem določili štartno mesto. Ko smo dobili temnejši zelen krog, smo z ostrim predmetom v središče kromatografskega papirja napravili luknjico in skozi njo vložili zvitek kromatografskega traka. Morali smo biti natančni, saj naj bi bila za točne rezultate dolžina na obeh straneh papirja enaka. Kromatografski papir smo nato položili v petrijevko- že napolnjeno s topilom acetona ter petroletra.

Zvitek papirja je prevzel nalogo stena sveče, saj je topilo skupaj z raztopljenimi snovmi zaradi kapilarnosti potovalo po nosilcu (namočenem v topilu) navzgor, proti papirju. Kapilarnost je povzročala površinska napetost tekočin v ozkih cevkah (kromatografski papir je zgrajen iz nešteto tankih cevk iz celuloze).

Različne snovi v zmesi se zaradi svojih različnih lastnosti premikajo različno hitro s topilom, kar lahko nazorno vidimo v kromatogramu. Snovi, ki se v topilu bolje topijo, odnaša topilo hitreje, tiste, ki se slabše topijo, pa počasneje.

Zaradi različnih topnosti posameznih komponent vzorca, se topilo in raztopljene snovi zaustavijo na različnih nivojih od štartnega mesta. Dobro topni pigmenti se tako nahajajo dlje od središča kroga, kakor pa slabše topni. Posledično smo dobili lep štiri barvni krožni vzorec, pretežno zelene in rumene barve, ki pri pigmentih tudi prevladujeta. Zelena odtenka pripadata klorofilu A (temnejši) in klorofilu B (svetlejši).

Ko se je filtrirni papir posušil smo izmerili razdaljo, ki jo je prepotovalo posamezno topilo. Slednjo smo delili s celotno dolžino prepotovanega in dobili retencijski factor, značilen za barvila.

$$R_f = \frac{\text{pot komponente}}{\text{pot topila}}$$

$$\text{pot topila} = 3,5 \text{ cm}$$

$$\text{pot zelenega barvila} = 1,3 \text{ cm}$$

$$R_{f_{\text{zel.}}} = 1,3 / 3,5 = 0,37 - \text{klorofil b}$$

$$\text{pot zeleno-modrega barvila} = 1,9 \text{ cm}$$

$$R_{f_{\text{z-m}}} = 1,9 / 3,5 = 0,54 - \text{klorofil a}$$

$$\text{pot rumenega barvila} = 2,4 \text{ cm}$$

$$R_{f_{\text{rum}}} = 2,4 / 3,5 = 0,68 - \text{ksantofil}$$

$$\text{pot rumene črte (barvila)} = 3,5 \text{ cm}$$

$$R_{f_{\text{orž}}} = 3,5 / 3,5 = 1$$

Fotosintetski pigmenti, ki se nahajajo v listih zelenih rastlin torej so:

- karoteni
- ksantofili
- klorofil A
- klorofil B

Listi rastlin so videti zeleni, ker oba (prevladujoča) klorofila odbijata zeleno bravo. Ksantofil in karoten omogočata rastlinam, da izkoristijo še svetlobo, ki je klorofil ne more absorbirati.

5. ZAKLJUČEK:

S papirno kromatografijo in različno obarvanimi kolobarji smo dokazali, da je v zelenih listih istočasno prisotnih več različnih barvil. Poleg svetlobe, ki jo izkoristita klorofila a in b, ostalo svetlobo rastline izkoristijo s pomočjo pomožnih fotosintetskih barvil, kot so ksantofili in karoteni, ki pa so poleg klorofilov, tudi prisotni v kloroplastih.

5. DISKUSIJA:

Poznamo več vrst kromatografij, in med kredno, plinsko, kolonsko(..) smo izbrali papirno, ki je za šolske pogoje najbolj ustrezna, vendar pa tudi ne najbolj natančna.

Nadvse primerna je, ker se da barvila dobro ločiti s prostim očesom.

Razlike med rezultati skupin so pogoste.

Ker nismo imeli vsi enake količine nanešenega ekstrakta in ker meritve radija pri vseh skupinah niso bile pri vseh natančne, so se rezultati med seboj kar dodobra razlikovali.

Odstopanja pri zapisovanju radija so velika, saj smo morali zaradi nepravilnih krožnic vzeti povprečno dolžino