

# Kromatografija

## 1. CILJ VAJE

Glavni cilj vaje je bilo spoznavanje nove metode dela, kromatografije. To metodo smo uporabili za ločevanje barvil v listih zelenih rastlin.

## 2. UVOD

Kromatografija je metoda, s katero ločujemo sestavine. Zmes snovi nanesemo na nosilec in ga v isti točki namočimo v topilo. Le-to potuje po nosilcu zaradi kapilarnosti in za seboj vleče molekule iz zmesi. Različne snovi v zmesi se zaradi svojih različnih lastnosti različno hitro premikajo s topilom - se ločijo. Tako dobimo kromatogram. Točka, kjer smo začeli nanašati zmes, se imenuje start, črta, do kamor je topilo prišlo, pa fronta. Pot komponente v zmesi izražamo glede na pot topila, tako da izračunamo faktor  $R_f$ :

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

Seveda moramo tu navesti še temperaturo in toplio, s katerim smo delali, ker v različnih topilih pri različnih temperaturah dobimo različne vrednosti  $R_f$ .

## 3. MATERIALI:

- filtrirni papir
- kapilara
- ekstrakt (v etanolu prekuhani nasekljani listi črnega teloha)
- petrijevka
- topilo (92% petroletra in 8% acetona)

## 4. METODA DELA

Iz filtrirnega papirja smo izrezali krog in nanj na sredino s pomočjo kapilare nanesli ekstrakt. Medtem, ko smo čakali, da se posuši, smo iz koščka filtrirnega papirja naredili zvitek, ki smo ga vtaknili čez v sredini preluknjan nosilec. V petrijevko smo nalili zmes topil in nanjo položili nosilec tako, da je bil zvitek namočen v topilo. Vse skupaj smo pokrili, da ne bi izhlapevanje preveč motilo našega poskusa. Ko je topilo prišlo do roba petrijevke, smo papir vzeli ven in ga posušili.

## 5. REZULTATI

Dobili smo zanimiv vzorec, ki je sestavljen iz štirih odtenkov: dveh zelenih in dveh rumeno-rdečih. Zelena odtenka pripadata klorofilu A (temnejši) in klorofilu B (svetlejši). Rumenkasti odtenek bližje startu pripada ksantofilom, rdečkasti odtenek na fronti pa pripada karotenom. Od starta do klorofila B smo dobili še nekaj različnih odtenkov, ki pa verjetno pripadajo raznim nečistotam. Ker pot nekaterih barvil ni povsem enakomerna, je treba pri računanju  $R_f$  vzeti povprečno vrednost poti. Ker je pot topila 4.8 cm, so vrednosti  $R_f$  za posamezno barvilo takšne:

Barvilo	$R_f$
Korofil B	0.5903
Klorofil A	0.7135
Ksantofili	0.7521
Karoteni	0.98

## **6. ZAKLJUČEK**

Ugotovili smo, da list črnega teloha, kljub temu, da je na pogled samo zelen, ne vsebuje samo zelenih barvil, ampak tudi rumenkasta in rdečkasta. Med zelenimi barvili smo dokazali dva, in sicer klorofil A in B, nismo pa uspeli dokazati več različnih rumenih in rdečkastih barvil. To bi lahko naredili z bolj natančnimi metodami.

## **7. KRITIKA**

Nismo vedeli za količino ekstrakta, ki smo ga nanesli. Pravtako nismo vedeli za količino suhe snovi v ekstraktu. Kapilara ni bila prava, ampak improvizirana: kapalka brez gumjaste pumpice. Kljub temu, da smo uporabljali petrijevko, je bilo izhlapevanje še zmeraj kar veliko.

## **8. DISKUSIJA**

Obstaja več vrst kromatografije: papirna, kredna, tankoslojna, kolonska... Imenujejo se po nosilcu. Mi smo uporabljali papirno. Naš nosilec, filtrirni papir, je sestavljen iz celuloze, ki je polimer glukoze. Ta ima veliko hidroksilnih skupin in zato se na celulozo dobro vežejo snovi, ki imajo polarne skupine (npr. OH), nepolarne snovi pa se ne vežejo. Naše topilo je pretežno nepolarno in zato dobro raztaplja nepolarne snovi.

Na kromatogramu so najhitreje potovali karoteni, kar pomeni, da se dobro topi v topilu in hkrati slabo veže na celulozo. Zato lahko sklepam, da imajo karoteni med vsemi barvili v ekstraktu najmanj polarnih skupin. Nekoliko bolj polarni so ksantofili, zato potujejo počasneje. Še bolj polarna sta klorofila, ki sta med temi barvili potovala najpočasneje.

Kromatografija da ob poznavanju njenih značilnosti tudi podatke o lasnoti posameznih sestavin v vzorcu, predvsem pa je viden polarni značaj spojnin. Ta metoda je tudi dovolj občutljiva, tako da nam ni treba uporabiti velikih količin zmesi, ki jo želimo ločiti. Pravtako se da barvila dobro ločiti s prostim očesom, česar ne morem trditi za druge snovi, ki so pravgotovo še na papirju. Štiri barvila, ki smo jih dokazali, so različnih barv in absorbirajo v različnih delih vidnega spektra, da lahko optimalno izkoristijo sončno svetlobo.

## **9. VIRI**

J. DRAŠLER in sodelavci: BIOLOGIJA 1 Laboratorijsko delo, DZS Ljubljana 1991