

5. vaja

KROMATOGRAFIJA

1. Cilji:

Glavni cilj vaje je tokrat bil, da se spoznamo z novo metodo dela – kromatografijo. Uporabili smo jo za ločevanje barvil, ki se nahajajo v listih zelenih rastlin. Poleg tega pa smo podrobneje spoznali tudi barvila, ki se nahajajo v zelenih rastlinah.

2. Uvod:

Kromatografija je metoda dela v biokemiji, ki se uporablja za ločevanje majhnih količin sestavin oz., sestavin ki so prvotno v zelo majhnih količinah (v našem primeru fotosintetska barvila). Za vsako barvilo smo izračunali tudi R_f .

Vsako barvilo ima svoj pigment po katerem smo jih ločili: zelena - klorofil B, modrozeleno - klorofil A, rumeno - ksantofili in oranžna - karoten.

3. Material:

- kromatografski papir
- škarje
- kapilara
- petrijevka
- topilo (92% petroletra, 8% acetona)
- listni ekstrakt

4. Postopek:

Na dobljeni kromatografski papir v obliki kroga smo s kapilaro nanašali ekstrakt v sredino kroga, vedno v isto točko. Med vsakim nansom smo počakali par sekund, da se je ekstrakt posušil. Nanašali smo ga toliko časa, da smo na sredi kromatografskega papirja dobili temno zelen krog. Ko se je posušil, smo napravili v sredino kroga luknjo in vanjo vložili zvitek, ki smo ga naredili iz koščka kromatografskega papirja. V petrijevko smo nalili topilo. Kromatografski papir smo položili na petrijevko tako, da je bil zvitek iz papirja (stenj) v topilu, pokrili smo petrijevko in počakali toliko časa, da je topilo doseglo roba kromatografskega papirja oz. roba dna petrijevke.

Kromatogram smo vzeli iz petrijevke in ga posušili na zraku, nato smo ga razstrigli na 4 enake dele.

5.

Vrsta barvila	Pot barvila [mm]	R_f
Klorofil B	5	0,22
Klorofil A	7	0,3
ksantofili	10	0,4

Rezultati:

Rf = pot barvila/pot topila

6. Zaključki:

Ugotovili smo, da se kljub temu da ob pogledu na liste zelenih rastlin vidimo le zeleno barvo v njegovi notranjosti skriva več barvil.

7. Diskusija:

Barvila potujejo različno hitro in različno daleč. Vsa barvila zečnejo iz iste točke im. start. Najprej so vsa barvila potovala z isto hitrostjo nato so se ena za drugim ustavila, do zadnjga karotena, ki je potoval s topilom do točke im. fronta.

Pri vaji je lahko hitro prišlo do težav. Če je bil stenj prekratek in ni segal do tal petrijevke, se nam je kromatografski papir lahko zasušil in potovanje barvil se je ustavilo pred končanim ločevanjem barvil. Potrebno je bilo tudi paziti, da med pripravo kromatograma nismo prijemali kromatografskega papirja, saj bi snovi iz naših rok spremenile potek kromatografije.