Priprava kromatograma listnega ekstrakta

### 1. UVOD

1. Kromatografija je sklop metod za ločevanje substanc iz ekstrakta, po principu razlike v absorbciji do določenih materialov (papir za filtriranje), odvisno od razlike v topnosti med dvema sistemoma, ki se ne mešata. Različne metode kromatografije se uporabljajo za ločevanje naravnih vezi. (Leksikon JLZ)
2. Namen vaje je bil spozanavanje metode kromatografije (teoretične osnove in praktičnega dela), spoznavanje barvil v zelenih rastlinah in njihovih lastnosti ter izračun retencijskega faktorja za vsako barvilo.

### 2. METODE DELA

Vzeli smo petrijevko in nato vanjo nalili organsko topilo (malo pod robom). Ekstrakt (razrezani zeleni listi, ki so bili prekuhani v etanolu; klorofil se ne topi v vodi, etanol pa je organsko topilo) smo dobili že pripravljen. Nekaj kapljic smo nato nakapljali na sredino filtrirnega papirja. Nato smo v sredino papirja izrezali luknjico in vanjo vtaknili zvitek filtrirnega papirja. Nato smo papir položili na petrijevko. Topilo je preko zvitka prišlo na filtrirni papir (skica) in začelo enakomerno potovati. Hkrati s topilom so potovala tudi barvila in dobili smo lep vzorec. Vse to je potekalo v zaprti petrijevki, da se nebi vmešali zunanji dejavniki. Ko se je filtrirni papir posušil smo izmerili razdaljo, ki jo je prepotovalo posamezno topilo. Razdaljo, ki jo je prepotovalo posamezno barvilo smo nato delili s razdaljo, ki jo je prepotovalo topilo in dobili smo retencijski faktor.

Skica 1: prečni prerez petrijevke, ko smo v njej izvajali poskus


### 3. REZULTATI

Kot rezultat smo dobili lep kromatogram. Na podlagi njega smo nato izračunali retencijski faktor. Rezultati so

podani v spodnji tabeli

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **barvilo** | **pot topila** | **pot barvila** | **Rf** |
| *karoteni* | 4 | 4 | 1 |
| *ksantofili* | 4 | 2,4 | 0,6 |
| *klorofil A* | 4 | 2 | 0,5 |
| *klorofil B* | 4 | 1,7 | 0,425 |

### 4. DISKUSIJA

Različna barvila potujejo različno hitro. To je lepo razvidno iz kromatograma, ki pa na žalost po enem tednu že zelo obledi. Predvsem je iz kromatograma težko razbrati barvila, ki so si zelo podobna in imajo podobne retencijske faktorje. Vsako barvilo namreč potuje od starta, nato nekaj časa s fronto in nato »omaga« in se ustavi. Fronta je črta s katero potuje topilo. Prav tako je težko izmeriti dolžino, ki jo je barvilo prepotovalo. Črta, kjer se je barvilo ustavilo je namreč zelo neenakomerno (namesto krožnice dobimo razbrazdano črto). Tako smo lahko vzeli samo približno artimetični sredino, tukaj pa je spet nastal problem, ker je vsak dobil le četrtino kartograma. Tako so odstopanja lahko tudi do 30 odstotna. Na neenakomerno črto so vplivali tudi drugi dejavniki: filtrirni papir ni bil dobro steriliziran, tudi ekstrakt najbrž ni bil dobro zmešan, vplivala pa je tudi enakomernost nanosa.

### 5. SKLEPI

Dokazali smo, da so v zelenih listih različna barvila, ki se različno močno vežejo na nosilec. Iz tega sledi, da jih je mogoče tudi ločiti. Tako smo dobili, da karoteni (oranžnorumena barvila) potujejo s fronto, ksantofili (rumena barvila) se ustavijo že veliko prej, klorofil A (modrozelen) se ustavi še prej, najprej pa se ustavi klorofil B (rumenozelen). To lahko predstavimo s pomočjo retencijskega faktorja.

### 6. PRILOGE

Priloga 1: list z navodili za delo

Priloga 2: del kromatograma

### 7. LITERATURA

Leksikon JLZ, Zagreb, 1974