**PRIPRAVA KROMATOGRAMA LISTNEGA EKSTRAKTA**

1. Uvod

Kromatografija je metoda dela, ki nam omogoči ločevanje posameznih sestavin iz ekstrakta, kjer so prisotne v majhnih količinah. Uporabljajo jo v biokemiji, fiziologiji, kriminalistiki… V vsaki od naštetih panog je malce drugačna, saj imamo drugačne ekstrakte.

S kromatografijo lahko ločimo tudi fotosintetska barvila.

1. Hipoteza:

V listnem ekstraktu je prisotnih več vrst fotosintetskih barvil.

1. Mareial:

* listni ekstrakt
* kromatografski papir
* petrijevka
* kapilara
* škarje
* topilo (92 % petroletra in 8 % acetona)

1. Postopek dela

Iz kromatografskega papirja izrežemo krog, ki je malo večji od pokrova petrijevke. Na sredino kroga s kapilaro nanašamo listni ekstrakt in pri tem pazimo, da ga kanemo vedno na isto točko. Med vsakim nanosom moramo počakati par sekund, da se ekstrakt posuši. Nanašamo ga toliko časa, da se na sredini kromatografskega papirja pojavi temno zelen krog. Ko se slednji posuši, naredimo na sredino luknjico in vanjo vložimo svitek, ki smo ga prej naredili iz koščka kromatografskega papirja.

V petrijevko nalijemo topilo in nanjo položimo kromatografski papir tako, da je svitek iz papirja v topilu. Nato petrijevko pokrijemo in opazujemo kromatogram, ki nastaja. Ko topilo doseže rob papirja oz. rob dna petrijevke, je kromatogram končan. Zdaj dvignemo pokrov in vzamemo kromatografski papir iz topila ter ga posušimo na zraku.

1. Rezultati

Glej prilogo: Kromatogram

1. Razprava

Najprej je za kromatografijo pripraviti izvleček, ki mu strokovno pravimo ekstrakt. Le-tega dobimo tako, da razrežemo zelene liste in z organskimi topili se estrahirajo fotosintetska barvila.

Nato nanesemo izvleček na nosilec, ki je v našem primeru kromatografski papir. Slednji je porozen, zato se pojavi kapilarnost. Ker so v ekstraktu različna barvila bodo glede na različne molekule različno hitro potovale po nosilcu. Od vrste molekul je tudi odvisna začasna vezava na nosilec.

Barvila ločimo s topilom. Topilo, ki ga uporabljamo je gibljiva ali mobilna faza in potuje po papirju hkrati z barvili. Ker se barvila med seboj ločijo, se po določenem času ustavijo na določeni točki. Tako dobimo kromatogram.

Iz kromatograma lahko izračunamo tako imenovani Rf, ki ga izračunamo po naslednji formuli:



Rf je določen za določeno barvilo upoštevaje pogoje:

- nosilec - topilo - papir - barvilo - pogoji ločevanja

Barvila v kloroplastih:



Karoteni

Rumeni ksantofili

Klorofil A (modro-zelen)

Klorofil B (rumeno-zelen)

Nečistoče

1. Zaključki

Na kromatogramu smo res lahko videli različna fotosintetska barvila in s tem smo dokazali, da imajo rastline različne vrste fotosintetskih barvil in da le-ta niso le zelene barve. Fotosintetska barvil, ki se jih vidi pri tem ekstraktu so klorofil a in b, rumeni ksantofili in karoteni.

1. Literatura:

* Knez T.: *Biološki eksperiment v vzgojnoizobraževalnem procesu*; skripta. Ljubljana: Biološka fakulteta 1975.
* Simpkins J., Williams J.I.: *Advanced biology*. Third edition. London: Unwin Hyman 1989.
* Vardjan M.: *Biologij*a. Življenski procesi – asimilacija, disimilacija. Ljubljana: DZS 1984.

1. Priloga:

- Priprava kromatograma listnega ekstrakta

- Kromatogram