

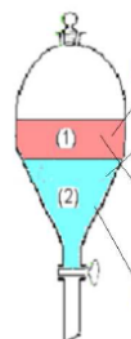
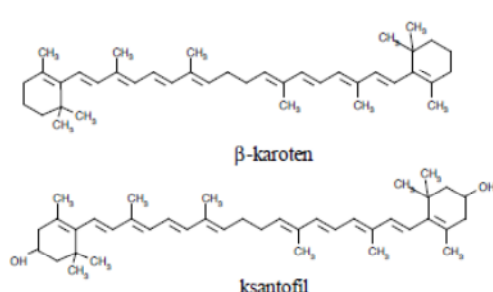
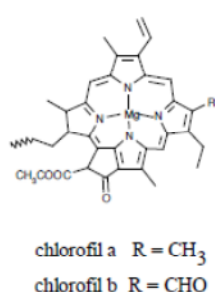
INSTRUKCJA I KARTA PRACY

WSZYSTKIE DOŚWIADCZENIA UCZNIOWIE WYKONUJĄ W ZESPÓŁACH DWUOSOBOWYCH.

ZACHOWUJEMY SZCZEGÓLNA OSTROŻNOŚĆ !

TEMAT: WĘDRÓWKA BARWNIKÓW CZYLI CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA

Podstawowym barwnikiem chloroplastów (liści) jest chlorofil - zielony barwnik istotny w procesie fotosyntezy. Obok niego występują m.in. barwniki z grupy karotenoidów, z których podstawowymi są karoteny i ksantofile.



Przykładowe wartości R_f barwników:

Układ rozwijający heksan : aceton (7:3)

Pigment	kolor	Wartość R _f
karoten	żółto-pomarańczowy	0.91
feofityna	szary	0.75
chlorofil a	niebiesko-zielony	0.63
chlorofil b	zielony	0.58
ksantofile	żółty	0.53
	żółty	0.47
	żółty	0.32

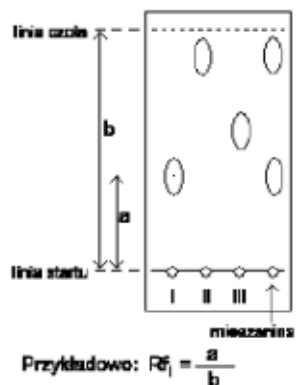
Wykonaj doświadczenia zgodnie z instrukcją.

1. IZOLACJA MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO

Okolo 5 g świeżych lub mrożonych, zielonych liści (z dowolnej rośliny) pokroić i ucierać w moździerzu porcelanowym z małą ilością (ok. 10cm³) acetonu. Acetonową zawiesinę przesączyć. Materiał roślinny jeszcze dwukrotnie ucierać z acetonem, sączyć. Połączone ekstrakty acetonowe umieścić w rozdzielaczu, ekstrahować kilkakrotnie heksanem do momentu, aż wszystkie barwniki przejdą do warstwy heksanowej (warstwa acetonowa powinna się odbarwić). Oddzielone frakcje heksanowe przenieść do rozdzielacza następnie przemyć trzykrotnie małymi porcjami wody. Oddzielić warstwę organiczną i wysuszyć ją za pomocą bezwodnego Na₂SO₄. Osuszony roztwór barwników zagęścić odparowując rozpuszczalnik pod zmniejszonym ciśnieniem.

2. CHROMATOGRAFIA CIENKOWARSTWOWA (TLC)

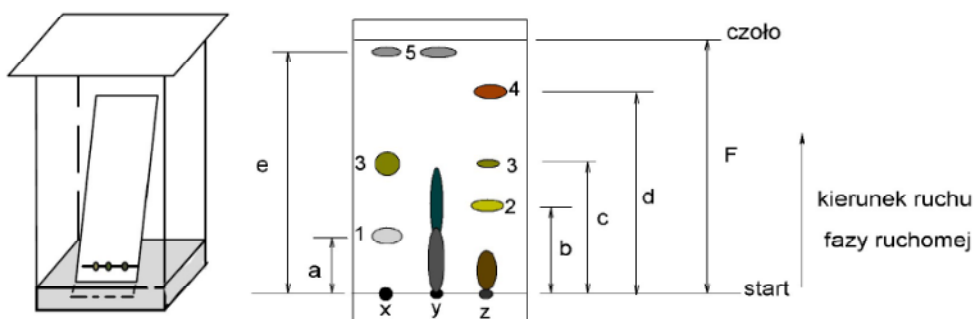
$$R_f = \frac{\text{odległość środka plamy od linii startu}}{\text{odległość czoła rozpuszczalnika od linii startu}}$$



Zagęszczony heksanowy ekstrakt barwników nanieść kapilarą na płytkę chromatograficzną. Czynność powtarzać (po wysuszeniu poprzedniej porcji dopóty, aż plamki będą intensywnie barwne. Resztę roztworu pozostawić do wykonania chromatografii kolumnowej. Płytkę wstawić do komory z roztworem rozwijającym (heksan : aceton 7:3). Rozwijać do momentu aż czoło rozpuszczalnika znajdzie się w odległości ok. 0.5 cm od górnej krawędzi płytki. Płytkę wyjąć z komory, zaznaczyć czoło rozpuszczalnika i wysuszyć w temperaturze pokojowej. Obliczyć wartość R_f dla poszczególnych barwnych plam. Przy identyfikacji barwników posługujemy się następującymi wskazówkami z szeregu wartości R_f :

karoteny > chlorofil a > chlorofil b > ksantofile

Wykonać szkic chromatogramu TLC notując przy każdej plamie jej barwę, obliczony R_f oraz nazwę zidentyfikowanego związku.



Rysunek 3. Komora chromatograficzna z zanurzoną płytką i chromatogram TLC uzyskany dla próbek x, y i z (interpretacja poniżej).