

Εργαστηριακή Άσκηση: Χρωματογραφικός διαχωρισμός φωτοσυνθετικών χρωστικών

A. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ - ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ

- Φρεσκοκομμένα φύλλα σπανακιού
- Δοκιμαστικός σωλήνας μεγάλος και στήριγμα
- Πώμα για το δοκιμαστικό σωλήνα (ή μεμβράνη)
- Διηθητικό χαρτί, ψαλίδι, κολλητική ταινία
- Μεταλλικό νόμισμα
- Διαλύτης: 1 μέρος ακετόνης 90% σε 9 μέρη πετρελαϊκού αιθέρα (αν δεν διαθέτουμε τα διαλύματα αυτά, μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε White spirit του εμπορίου)

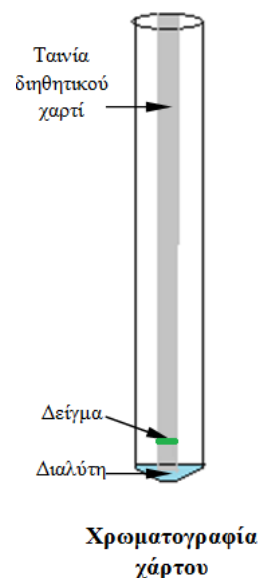
B. ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΓΝΩΣΕΙΣ

Οι κύριες φωτοσυνθετικές χρωστικές των φυτών είναι οι **χλωροφύλλες**, ουσίες που βρίσκονται στα πράσινα μέρη των φυτών, ο ρόλος των οποίων είναι η απορρόφηση της ηλιακής ενέργειας προκειμένου να πραγματοποιηθεί η διαδικασία της φωτοσύνθεσης. Υπάρχουν δύο τύποι χλωροφύλλης, η α (κυανοπράσινη σε διάλυμα) και η β (κιτρινοπράσινη σε διάλυμα). Εκτός από τις χλωροφύλλες στα πράσινα φύλλα υπάρχουν επίσης και κίτρινες, πορτοκαλί και καφέ φωτοσυνθετικές χρωστικές που είναι γνωστές ως **καροτενοειδή** και **ξανθοφύλλες**. Έχουν διαφορετικό χρώμα από τις χλωροφύλλες γιατί απορροφούν το ορατό φως σε διαφορετικό μήκος κύματος.

Οι φωτοσυνθετικές χρωστικές μπορούν να διαχωριστούν και να παρατηρηθούν με τη μέθοδο της **χρωματογραφίας**. Η χρωματογραφία είναι μια ευρύτατα διαδεδομένη εργαστηριακή τεχνική, η οποία προσφέρεται για την ανάλυση, αλλά και τον διαχωρισμό σύνθετων μιγμάτων οργανικών ενώσεων. Η **χρωματογραφία χάρτου** είναι η πιο απλή μορφή χρωματογραφίας. Στην άκρη από ένα κομμάτι διηθητικό χαρτί (ακίνητη φάση) τοποθετείται μια κηλίδα του δείγματος. Το χαρτί βυθίζεται στον κατάλληλο διαλύτη (κινητή φάση) από την μεριά της κηλίδας, και καθώς το χαρτί διαποτίζεται σιγά-σιγά από το διαλύτη, εκλούνται τα συστατικά του δείγματος και γίνεται ο διαχωρισμός τους.

Γ. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

1. Τοποθετήστε στον δοκιμαστικό σωλήνα 1-2 ml διαλύτη (μίγμα ακετόνης και πετρελαϊκού αιθέρα) και κλείστε τον με πώμα (ή μεμβράνη), ώστε ο σωλήνας να κορεστεί με ατμούς (χρειάζονται περίπου 10 min).
2. Κόψτε μια λωρίδα διηθητικού χαρτιού αρκετού μήκους, ώστε να φτάνει σχεδόν μέχρι τον πυθμένα του δοκιμαστικού σωλήνα και τέτοιου πλάτους, ώστε να μην ακουμπάει στα τοιχώματα του σωλήνα.
3. Πάνω στη λωρίδα του χαρτιού χαράξτε με μολύβι μια οριζόντια γραμμή σε απόσταση 2 cm περίπου από το άκρο της.
4. Διαλέξτε ένα φύλλο από σπανάκι, στεγνώστε το με χαρτί κουζίνας και κόψτε το σε μικρές λωρίδες (από περιοχή χωρίς «νεύρα»).
5. Τοποθετήστε το κομμάτι του φύλλου με την επάνω επιφάνεια του πάνω στη γραμμή του μολυβιού που έχετε χαράξει και πιέστε με το νόμισμα, ώστε να αφήσει ένα λεπτό, οριζόντιο, πράσινο ίχνος (χωρίς να χαραχτεί το χαρτί).
6. Επαναλάβετε τη διαδικασία **10-15 φορές**, επιλέγοντας κάθε φορά διαφορετική περιοχή του φύλλου. **Φροντίστε το ίχνος να παραμένει λεπτό, να μην καταστραφεί το χαρτί και να μην έχει κομμάτια φυτικού ιστού.**
7. Αφήστε για λίγο το αποτύπωμα των χρωστικών να στεγνώσει.
8. Τοποθετήστε τη λωρίδα του χαρτιού μέσα στο δοκιμαστικό σωλήνα και στερεώστε την προσεκτικά με κολλητική ταινία, ώστε το μυτερό άκρο της να βυθιστεί στο διαλύτη, χωρίς η στάθμη του διαλύτη να φτάνει στο οριζόντιο ίχνος των χρωστικών. Η λωρίδα του χαρτιού δεν πρέπει να ακουμπά στα τοιχώματα του δοκιμαστικού σωλήνα. Καλύψτε και πάλι το στόμιο του σωλήνα.
9. Περιμένετε μέχρι το μέτωπο του διαλύτη να ανέβει τουλάχιστον τα $\frac{3}{4}$ του χαρτιού και βγάλτε το από το δοκιμαστικό σωλήνα. Η χρωματογραφία είναι έτοιμη.



- Πανελλήνιος Μαθητικός Διαγωνισμός- EUSO 2012, Δοκιμασία στη Βιολογία
- <https://e-class.teilar.gr/modules/document/file.php/DIET146>