

## Εργαστηριακή Άσκηση: Χρωματογραφικός διαχωρισμός φωτοσυνθετικών χρωστικών

### A. ΑΝΑΛΩΣΙΜΑ - ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΥΛΙΚΑ:

- Φρεσκοκομμένα φύλλα σπανακιού
- Δοκιμαστικός σωλήνας
- Πώμα για το δοκιμαστικό σωλήνα (μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε μεμβράνη)
- Διηθητικό χαρτί
- Μεταλλικό νόμισμα
- Ψαλίδι
- Στήριγμα για δοκιμαστικούς σωλήνες
- Κολλητική ταινία
- 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 χαρτί (ακίνητη φάση) τοποθετείται μια κηλίδα δείγματος. Το χαρτί βυθίζεται στον κατάλληλο διαλύτη (κινητή φάση) από την μεριά της κηλίδας, και όπως το χαρτί διαποτίζεται σιγά-σιγά από το διαλύτη, εκλούνται τα συστατικά του δείγματος και γίνεται διαχωρισμός.

### Γ. ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

1. Κόβετε 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.
2. Πάνω στη λωρίδα του χαρτιού χαράξετε οριζόντια μια γραμμή με μολύβι σε απόσταση 2cm περίπου από το άκρο της.
3. Διαλέξτε ένα φύλλο από σπανάκι, στεγνώστε το με χαρτί κουζίνας και κόψτε το σε μικρά κομμάτια (από περιοχή χωρίς «νεύρα»).
4. Τοποθετήστε το κομμάτι του φύλλου με την πάνω επιφάνεια του, πάνω στη γραμμή που έχετε χαράξει στη λωρίδα του χαρτιού και με το νόμισμα πιέστε ώστε να αφήσει ένα λεπτό, οριζόντιο, πράσινο ίχνος χωρίς να χαραχτεί το χαρτί.
5. 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.**
6. Στεγνώστε το αποτύπωμα των χρωστικών .
7. Ταυτόχρονα με την παραπάνω διαδικασία τοποθετήστε στο δοκιμαστικό σωλήνα 1-2 ml διαλύτη (μίγμα ακετόνης και πετρελαϊκού αιθέρα) και κλείστε το πώμα του σωλήνα, ώστε να κορεστεί με ατμούς (χρειάζονται περίπου 10 min).
8. Τοποθετήστε τη λωρίδα του χαρτιού μέσα στο δοκιμαστικό σωλήνα και στερεώστε την προσεκτικά με κολλητική ταινία, ώστε το μυτερό άκρο να βυθιστεί στο διαλύτη χωρίς η στάθμη του διαλύτη να φτάσει στο οριζόντιο ίχνος των χρωστικών. Η λωρίδα του χαρτιού δεν πρέπει να ακουμπά στα τοιχώματα του δοκιμαστικού σωλήνα. Σκεπάστε πάλι με τη διαφανή μεμβράνη.
9. Περιμένετε μέχρι το μέτωπο του διαλύτη να ανέβει τουλάχιστον τα  $\frac{3}{4}$  του χαρτιού, και το βγάζετε από το δοκιμαστικό σωλήνα. Η χρωματογραφία είναι έτοιμη.



Χρωματογραφία χάρτου

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