|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Gimnazija Bežigrad | KROMATOGRAFIJA | Datum izvajanja vaje:  - 14. februar 2011 |

**Cilji vaje oz. poskusa**

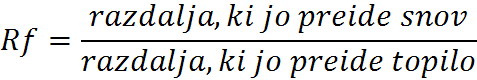
Namen vaje je bilo predvsem spoznavanje in razumevanje nove metode dela: papirne kromatografije, s katero smo ločevali barvila v listih zelenega bršljana.

**Uvod**

Kromatografija je metoda pri kateri ločujemo mešanico snovi na posamezne sestavine. **Mobilno fazo** oz. snov nanesemo na **stacionarno fazo**, ki je bila v našem primeru filtrirni papir. Mobilna faza potuje po stacionarni in za seboj vleče molekule zmesi. Različne snovi v zmesi se zaradi svojih različnih lastnosti različno hitro premikajo s topilom - se ločijo, zaradi kapilarnosti. Tako dobimo kromatogram.

Pot komponente v zmesi izražamo glede na pot topila, tako da izračunamo retencijski faktor, ki nam pove hitrost, s katero se snov giblje po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo. Retencijski faktor se giblje med 0 in 1.

(hitrost snovi po filtrirnem papirju, v primerjavi s hitrostjo topila)



**Materiali oz. aparature**

* filtrirni papir
* kapilara (vrsta kapalke – damo jo v epruveto, s kazalcem zapremo zgornjo odprtino, da zadržimo kapljico in jo prenesemo na filtrirni papir)
* ekstrakt zelenega bršljana
* petrijevka
* topilo (92% petroletra in 8% acetona)

**Metoda dela oz. navodila za delo**

/ opisano v prilogi /

Na sredino kroga filtrirnega papirja s svičnikom označimo središče. S kapilaro nanesemo 10 ali več kapljic na sredino filtrirnega papirja. Ko je papir še moker, na sredini izrežemo majhno luknjo v katero navpično postavimo dobro zvit tulec istega filtrirneega papirja. V petrijevko nalijemo zmes topil in nanjo položimo nosilec tako, da je zvitek namočen v topilo. Vse skupaj pokrijemo, da ne bi izhlapevanje preveč motilo našega poskusa. Ko topilo pride do roba petrijevke, papir vzamemo ven in ga posušimo.

**Rezultati**

/ opisani v prilogi /

Različna barvila se različno hitro topijo v topilu. Dobili smo vzorec sestavljen iz štirih odtenkov: dveh zelenih in dveh rumeno-rdečih. Temno zelen odtenek pripadata klorofilu A in svetlejši klorofilu B. Rumen odtenek najbliže središču pripada ksantofilom, rdečkasti odtenek na robu filtrirnega papirja pa pripada karotenom. Od središča do klorofila B smo dobili še nekaj različnih odtenkov, ki pa verjetno pripadajo raznim nečistotam. Ker pot nekaterih barvil ni povsem enakomerna, je treba pri računanju *Rf* vzeti povprečno vrednost poti.

Ker je pot topila 4.5 cm, so vrednosti *Rf* za posamezno barvilo takšne:

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | μ | Rf |
| klorofil B | 2,45 | 2,90 | 2,60 | 2,50 | 2,40 | 2,57 | 0,576 |
| klorofil A | 3,10 | 3,70 | 3,10 | 3,10 | 2,90 | 3,18 | 0,713 |
| ksentofel | 3,80 | 4,30 | 4,00 | 3,85 | 3,15 | 3,82 | 0,857 |
| karoten | 4,40 | 4,40 | 4,50 | 4,50 | 4,50 | 4,46 | 1 |

**Zaključek**

Ugotovili smo, da list bršljana ne vsebuje samo zelenih barvil, ampak tudi rumenkasta in rdečkasta. Med zelenimi barvili smo dokazali dva, in sicer klorofil A in B, nismo pa uspeli dokazati več različnih rumenih in rdečkastih barvil. To bi lahko naredili z bolj natančnimi metodami.

**Razgovor ali diskusija**

Mobilna faza potuje po stacionarni fazi oz. filtrirnem papirju, zaradi kapilarnosti. Štiri barvila, ki smo jih dokazali, so različnih barv in absorbirajo v različnih delih vidnega spektra, da lahko optimalno izkoristijo sončno svetlobo.

Če bi želeli ločiti barvila v rdečih algah, bi jih morali najprej ločiti s filtracijo in potem dodati toloen (snov, ki uničuje alge). Rastlina vsebuje veliko različnih barvil. Jeseni rastlina zeleni klorofil razgradi, zato pa ima bršljan tudi rumeno barvilo, ki jeseni absorbira svetlobo.