

Wykorzystanie chromatografii cienkowarstwowej do rozdzielania barwników zawartych w warzywach

Cel ćwiczenia – rozdzielenie i identyfikacja barwników zawartych w liściach szpinaku i korzeniu marchewki. Podstawą identyfikacji będzie obliczona wartości współczynnika retencji (R_f).

Barwniki zielone, znane jako chlorofile, są znane jako barwniki fotosyntetyczne, fotoreceptory obecne w roślinach. Karotenoidy, barwniki żółte, pełnią pomocniczą rolę w procesie fotosyntezy. Oprócz tego w chloroplastach obecne są barwniki ksantofilowe.

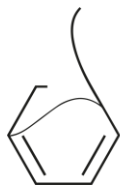
Barwnik	Kolor	R_f
karoten	żółto-pomarańczowy	0.91
feofityna a	szary	0.75
feofityna b	jasno szary (może nie być widoczny)	0.63-0.75
chlorofil a	niebiesko-zielony	0.63
chlorofil b	zielony	0.58
ksantofil a	żółty	0.53
ksantofil b	żółty	0.47
ksantofil c	żółty	0.32

SPRZĘT, ODCZYNNIKI I SZKŁO

Płytki TLC (pokryte żelalem krzemionkowym), komora chromatograficzna, moździerz i pestel, linijka i ołówek, probówki Eppendorfa o obj. 1.5 ml, pipety Pasteura, komora jodowa, szpinak, marchewka, mieszanina heksan:aceton (7:3).

WYKONANIE ĆWICZENIA

1. Przygotować dwie kapilary.
2. Liście szpinaku rozdrobnić i umieścić w moździerzu.
3. Dodać około 2 ml acetonu i starannie utrzeć liście z acetonem. Ucieranie kontynuować do momentu aż aceton przybierze ciemno-zielony kolor.
4. Dodać około 2 ml heksanu i ponownie starannie utrzeć.
5. Przenieść uzyskany ekstrakt do probówki Eppendorfa. Uważać, aby nie przenieść rozdrobnionych kawałków liści.
6. Powtórzyć czynności z punktów 2÷5 używając startego korzenia marchwi.



7. Przygotować płytkę TLC. W tym celu używając ołówka (nie długopisu!) narysować w odległości ok. 1 cm od krawędzi płytki cienką linię. Zaznaczyć na linii dwa punkty, każdy w odległości ok. 1/3 od bocznych krawędzi płytki:

(UWAGA: nie dotykać powierzchni płytki palcami!!!)



8. Zanurzyć końcówkę kapilary w probówce zawierającej ekstrakt ze szpinaku. Ostrożnie dotknąć końcówką kapilary pierwszego punktu zaznaczonego na płytce TLC. Po naniesieniu próbki pozwolić na jej wyschnięcie. Powtórzyć czynność nanoszenia kilkakrotnie w celu uzyskania małej, ciemnej plamki.
9. Powtórzyć czynności opisaną w punkcie 8 stosując ekstrakt z marchwi. Tym razem nanieść próbkę w drugim punkcie na płytce TLC.
10. Napełnić komorę chromatograficzną mieszaniną rozpuszczalników do wysokości ok. 0.5 cm.
11. Ostrożnie umieścić płytkę w komorze. Plamki badanych substancji muszą znajdować się powyżej poziomu rozpuszczalników w komorze.
12. Pozwolić na niezakłócone rozwijanie chromatogramu do czasu aż faza ruchoma osiągnie odległość ok. 1 cm od górnej krawędzi płytki.
13. Wyjąć płytkę w komory i natychmiast zaznaczyć ołówkiem czoło eluentu.
14. Większa ilość plamek można spróbować zauważyć wywołując chromatogram w komorze jodowej.

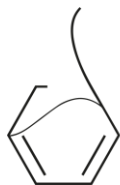
OPRACOWANIE WYNIKÓW

1. Zmierzyć odległość od linii startu do czoła eluentu.
2. Zmierzyć odległość każdej z plamek po przemieszczeniu od linii startu.
3. Dla każdej z plamek policzyć wartość R_f . Na podstawie uzyskanych wartości zidentyfikować poszczególne składniki mieszanin.
4. Wyniki umieścić w poniższych tabelach:

Odległość od linii startu do czoła eluentu:

Szpinak

Kolor plamki	Droga przebyta przez substancję	R_f	Zidentyfikowana substancja



Katedra Chemii



Oddział PAN
w Olsztynie
i Białymstoku

Marchewka

Kolor plamki	Droga przebyta przez substancję	R _f	Zidentyfikowana substancja