

EKSPERYMENT

„Barwniki w liściu”

Abstrakt

Szybka metoda izolacji barwników z liści i rozdział wyizolowanych barwników na pasku papieru przy pomocy domowej chromatografii bibułowej

Słowa kluczowe

fizjologia roślin, chlorofil, karotenoidy, fotosynteza, barwniki roślinne, chromatografia, rozdział, chloroplasty

Materiały

- 5–10 ciemnozielonych liści, np. różanych
- etanol (95%) lub aceton
- moździerz
- mały słoik ze szczelną zakrętką
- probówka lub mały kieliszek
- pędzelek
- kartka (najlepiej papier kredowego)
- słoik o objętości 250–300 ml (najlepiej wysoki i wąski)
- cienki patyczek
- spinacz lub klamerka do papieru
- nożyczki
- piekarnik, grzejnik lub gorące, suche powietrze

Uwaga: bezpieczeństwo 🚫! Należy unikać wdychania acetonu i etanolu.

Warunki szczególne

Procedura jest dość długa!

Najpierw trzeba wysuszyć liście. Można to zrobić w piekarniku, na kaloryferze albo na dworze w upalne dni (należy unikać bezpośredniego nasłonecznienia). Etap rozdziału może trwać kilka godzin, w zależności od rozpuszczalnika i grubości papieru.

Wykonanie

Z liści usuń ogonki i twarde włókna przewodzące z blaszki liściowej. Włóż liście do piekarnika i susz je w temperaturze ok. 110°C, aż staną się kruche (ok. 20 minut). Zmiażdż liście w moździerzu na drobny proszek. Wsyp proszek do małego słoiczka, zalej jak najmniejszą ilością etanolu lub acetonu, wystarczającą jednak, żeby w słoiku powstała zawiesina. Słoiczek zakręć i bardzo energicznie wstrząsaj nim przez kilka minut.

Zlej zielony płyn z nad większych resztek roślinnych do probówki i odstaw na ok. 20 minut. Gdy drobna zawiesina opadnie na dno, płyn z nad osadu bardzo delikatnie zlej do innego naczynka.

Z papieru wytnij pasek o szerokości ok. 2 cm i długości ok. 9 cm (długość papierka dostosuj do wysokości słoika przygotowanego do użycia w dalszych etapach doświadczenia). W odległości ok. 1–2 cm od dołu paska nanieś cienkim pędzelkiem niewielką ilość rozpuszczonego barwnika, rysując dość grubą, poprzeczną kreskę. Na dno słoika nalej etanolu lub acetonu na wysokość ok. 1 cm. Pasek papieru zamocuj na spinaczu (po przeciwnej stronie niż kreska) i zawieś na drewnianym patyczku. Patyczek połóż na brzegach słoika z etanolem, wprowadzając pasek do środka. Końcówka paska ma zanurzyć się w płynie, ale kreska barwnika nie może dotykać jego powierzchni. Odstaw słoik na kilka godzin i co pewien czas obserwuj, co się dzieje.

Rozpuszczalnik wędruje w górę paska, „zabierając” ze sobą barwniki wyizolowane z liści. Po pewnym czasie barwniki rozdzielają się – pojawiają się charakterystyczne prążki, jeden z nich jest żółty.

Wy tłumaczenie

W liściach występują różne barwniki. Przede wszystkim jest to chlorofil, który uczestniczy w procesie fotosyntezy. Chlorofil zgromadzony jest w chloroplastach, zagłębiany w błonach wewnętrznych tych organelli komórkowych. Chlorofil pochłania przede wszystkim światło o barwie czerwonej i niebieskiej, nie pochłania zaś światła o barwie zielonej, które jest odbijane – i dlatego widoczne. Oprócz zielonych chlorofili (których jest kilka rodzajów, u roślin wyższych – a i b) w liściach znajdują się inne barwniki, karotenoidy: pomarańczowe i czerwone karoteny oraz żółte i brązowe ksantofile. Karotenoidy pełnią funkcję wspomagającą w procesie fotosyntezy. Doświadczenie pozwala przekonać się, że zielony barwnik tylko „maskuje” obecność pozostałych barwników – na pasku papieru po pewnym czasie, obok zielonego, pojawia się żółty prążek. Obecność innych barwników w liściach w strefie klimatu umiarkowanego najlepiej widać jesienią, kiedy rośliny „wycofują” bardzo cenny chlorofil z przeznaczonych na straty liści do łodyg i korzeni.

Wymienione barwniki roślinne są słabo rozpuszczalne w wodzie, dlatego do wydobycia ich z pofragmentowanych tkanek używa się alkoholu lub acetonu. Zastosowana metoda rozdziału jest odpowiednikiem klasycznej metody rozdziału substancji używanej w badaniach naukowych, zwanej chromatografią. W metodzie tej substancje rozdziela się dzięki działaniu dwóch faz rozdzielających, ruchomej i nieruchomej. Fazą ruchomą mogą być płyny o różnych cechach chemicznych (rozpuszczalnik zwany eluentem) lub gazy, fazą nieruchomą – np. papier lub cienka warstwa substancji o ziarnistej strukturze. Substancje przenoszone są przez rozpuszczalnik poruszający się w fazie nieruchomej, tak jak w opisanym wyżej doświadczeniu, gdzie etanol z rozpuszczonymi barwnikami „wędruje” w górę paska papieru. Cząsteczki rozdzielanych związków różnią się wielkością, przez co

prędkość ich poruszania się w fazie nieruchomej jest inna – małe cząsteczki przesuwiają się szybko, duże – powoli. Po pewnym czasie rozdzielają się i widać je jako prążki.

Alternatywy

Warto wypróbować różne rozpuszczalniki (np. dodać parę kropli płynu do mycia szyb) i różne rodzaje papieru.

Rozwiązywanie problemów

Powodzenie doświadczenia zależy przede wszystkim od rodzaju papieru. Powinien on mieć jak najbardziej uporządkowaną strukturę i dość zwięzłą. W innym przypadku rozdział może się nie udać. Lepiej zastosować papier nieco grubszy niż zwykła kartka papieru.

Czasami prążki są pofałdowane, czego przyczyną może być niejednolita struktura papieru i krótki czas rozdziału.

Jeżeli roztwór barwnika jest zbyt rozcieńczony, można go zagęścić, ogrzewając próbkę (parowanie etanolu spowoduje zagęszczanie próbki) lub po prostu trochę odczekać. Można też nanieść barwnik na pasek papieru kilka razy, za każdym razem czekając aż wyschnie.

Naniesiony pędzelkiem prążek barwnika nie powinien być zbyt szeroki.

