

ΕΚΦΕ ΗΛΙΟΥΠΟΛΗΣ

Ενότητα πειραμάτων Β λυκείου

Φωτοσυνθετικές χρωστικές

Απομόνωση - διαχωρισμός - απορρόφηση ορατού φωτός

Απομόνωση - χρωματογραφικός διαχωρισμός των φωτοσυνθετικών χρωστικών -

Πείραμα 1 Απομόνωση των φωτοσυνθετικών χρωστικών από φύλλα σπανακιού

Σκοπός

- Η διαπίστωση της ύπαρξης των φωτοσυνθετικών χρωστικών μέσα στο κύτταρο.
- Η διαπίστωση ότι οι φωτοσυνθετικές χρωστικές είναι περισσότερες από μία και δεν έχουν όλες πράσινο χρώμα. (χλωροφύλλες – ξανθοφύλλες – καροτενοειδή)

Όργανα και υλικά απαραίτητα για το πείραμα

Όργανα - συσκευές	Υλικά - αντιδραστήρια
1. Δύο ποτήρια ζέσεως (Pyrex), το ένα 250 και το άλλο 600 mL ή μεγαλύτερο	1. Φρεσκοκομμένα φύλλα σπανακιού ή τσουκνίδας.
2. Δοκιμαστικοί σωλήνες	2. Νερό
3. Καμινέτο ή λύχνος υγραερίου.	3. Οινόπνευμα
4. Ξύλινη λαβίδα.	4. Βενζίνη
5. Ανατομική λαβίδα.	
6. Χοάνη διαχωρισμού ή εναλλακτικά δοκιμαστικός σωλήνας με πώμα	
7. Γυάλινη ράβδος για ανάδευση	

Πορεία του πειράματος

Η εκχύλιση των χρωστικών από τα φύλλα

1. Βράζουμε στο μεγάλο ποτήρι ζέσεως 250 mL νερό.
2. Ρίχνουμε στο βραστό νερό φύλλα σπανακιού και τα αφήνουμε να βράσουν για 5 λεπτά. Ανακατεύουμε τα φύλλα με τη ράβδο μία δύο φορές. Έτσι θα σπάσουν τα κυτταρικά τοιχώματα για να διευκολυνθεί η εκχύλιση των χρωστικών
3. Στο δεύτερο – μικρό- ποτήρι ζέσεως βάζουμε 50 mL οινόπνευματος ή περισσότερο αν χρειαστεί για να καλυφθούν τα βρασμένα φύλλα
4. Παίρνουμε με την ανατομική λαβίδα τα βρασμένα φύλλα και αφού τα στεγνώσουμε σε απορροφητικό χαρτί (κουζίνας), τα τοποθετούμε στο ποτήρι ζέσεως με το οινόπνευμα για να εκχυλιστούν οι χρωστικές.
 - Το ποτήρι με το οινόπνευμα και τα φύλλα το βάζουμε μέσα στο ποτήρι με το βραστό νερό προκειμένου να επιταχυνθεί η εκχύλιση.
 - Σκεπάζουμε το ποτήρι με αλουμινοχαρτό (για να περιορίσουμε κατά το δυνατόν την εξάτμιση του οινόπνευματος)
 - Ανακινούμε μία δύο φορές το ποτήρι ζέσεως για να για να διευκολύνουμε την εκχύλιση
 - Μετά από 8 λεπτά περίπου, η εκχύλιση των χρωστικών στο οινόπνευμα θα έχει προχωρήσει σε ικανοποιητικό βαθμό. Το οινόπνευμα θα έχει αποκτήσει τότε ένα βαθύ (σκούρο) πράσινο χρώμα

Ο διαχωρισμός των χρωστικών

5. Ρίχνουμε μέρος του εκχυλίσματος σε χοάνη διαχωρισμού ή δοκιμαστικό σωλήνα και προσθέτουμε βενζίνη, τόση ώστε η τελική αναλογία να είναι ένα μέρος οινόπνευματος προς δύο μέρη βενζίνης.
6. Πωματίζουμε τη χοάνη και την ανακινούμε πολλές φορές και δυνατά (το ίδιο αν χρησιμοποιήσουμε δοκιμαστικό σωλήνα).
7. Αφήνουμε το διάλυμα να ηρεμήσει και παρατηρούμε.

Ερωτήσεις:

Ποιες ζώνες ή στοιβάδες εκχύλισης δημιουργούνται ;

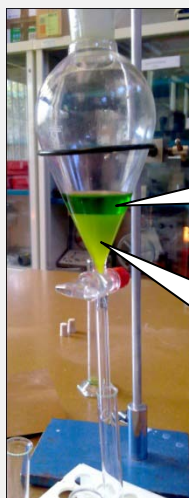
Ποια είναι η σύσταση κάθε στοιβάδας. Που οφείλονται τα διαφορετικά χρώματα κάθε στοιβάδας;



- Ανώτερη στοιβάδα της βενζίνης: Περιέχει τις χλωροφύλλες και τα μη πολικά καροτένια

- Κάτωτερη στοιβάδα του οινόπνευματος: Περιέχει τις ξανθοφύλλες (που φέρουν πολικές ομάδες) και μικρή ποσότητα χλωροφύλλης) Σημείωση: Η μοριακή μάζα M_r του οινόπνευματος (C_2H_5OH) είναι 46 και της βενζίνης (C_6H_6) 78. Όμως η κατώτερη στοιβάδα είναι η στοιβάδα του οινόπνευματος, εξαιτίας των διαμοριακών δεσμών Υδρογόνου, που αυξάνουν τη φαινομενική M_r

8. Διαχωρίζουμε και απομονώνουμε τη κατώτερη από την ανώτερη στοιβάδα.
9. Με την ανώτερη στοιβάδα της χλωροφύλλης θα μετρήσουμε το φάσμα απορρόφησης της χλωροφύλλης (και των καροτενοειδών), δηλ. τα μήκη κύματος του ορατού φωτός που απορροφούν (βλέπε στη συνέχεια).
10. Με την κατώτερη στοιβάδα μπορούμε να επαναλάβουμε τα βήματα 5 και 6 για να διαχωρίσουμε και να καθαρίσουμε τις ξανθοφύλλες (που κυρίως περιέχονται σ' αυτήν) από τις εναπομείνουσες χλωροφύλλες



Χλωροφύλλες και καροτένια

Ξανθοφύλλες και μικρή συγκέντρωση χλωροφύλλης



Ίχνη χλωροφύλλης

Ξανθοφύλλες

Πείραμα 2 Παρατήρηση του φάσματος απορρόφησης της χλωροφύλλης

- Ανάλυση του λευκού φωτός.
- Παρατήρηση και καταγραφή του φάσματος απορρόφησης της χλωροφύλλης.


ΣΤΟΧΟΙ

Στόχοι αυτής της εργαστηριακής άσκησης είναι οι μαθητές:

Να διαπιστώσουν ότι το λευκό φως αποτελείται από διάφορα χρώματα (ακτινοβολίες), που αποτελούν το συνεχές φάσμα.

Να παρατηρήσουν τα φάσμα απορρόφησης των χλωροφυλλών και να προσδιορίσουν τα μήκη κύματος της φωτεινής ακτινοβολίας που απορροφούν.

ΟΡΓΑΝΑ ΚΑΙ ΣΥΣΚΕΥΕΣ

1. Τροφοδοτικό λυχνιών φάσματος	2. Επιτραπέζιο φασματοσκόπιο
	

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ανάλυση του λευκού φωτός

1. Τοποθετείστε το τροφοδοτικό λυχνιών φάσματος στον πάγκο εργασίας της ομάδας σας και το βαλιτσάκι παρελκόμενων δίπλα του σε οριζόντια θέση



2. Ανοίξετε προσεκτικά το βαλιτσάκι και βγάλτε το φασματόμετρο και τοποθετήστε το στον πάγκο εργασίας.

3. Εντοπίστε στο τροφοδοτικό τους τρεις διακόπτες και κατανοήστε τη λειτουργία τους



Ο κόκκινος διακόπτης είναι ο γενικός διακόπτης
Ο άσπρος επιλέγει αν θα ανάψει η λάμπα πυρακτώσεως του τροφοδοτικού ή η λυχνία αερίου (δεν θα τη χρησιμοποιήσουμε στην άσκηση)
Το μαύρο στρογγυλό κουμπί αυξομειώνει την τάση στις λυχνίες.



4. Πλησιάστε το φασματόμετρο με τη σχισμή του (εντοπίστε την πρώτα) προς το λαμπάκι που φαίνεται μέσα στο τροφοδοτικό και σε απόσταση 10 cm, περίπου, από αυτό.



5. Συνδέστε το τροφοδοτικό με μια πρίζα του πάγκου εργασίας

6. Πατήστε τον άσπρο διακόπτη λυχνιών στη θέση λυχνία πυρακτώσεως και στρίψτε τον μαύρο ρυθμιστή της φωτεινής έντασης αριστερά.

7. Πατήστε το γενικό διακόπτη στη θέση ON.

8. Γυρίστε το ρυθμιστή φωτεινής έντασης σιγά – σιγά προς τα δεξιά μέχρι το φως του λαμπτήρα, να γίνει λευκό χωρίς να σας τυφλώνει.

9. Κοιτάζτε μέσα στη διόπτρα του φασματοσκόπιου. Στρέψτε το μάτι αριστερά και παρατηρήστε το φάσμα του λευκού φωτός του λαμπτήρα στη βαθμολογημένη κλίμακα του φασματόμετρου
Σημείωση: Ακριβώς μπροστά από τη σχισμή του φασματοσκόπιου, σε κατάλληλη εισδοχή, τοποθετούμε ένα χαρτόνι με μία μικρή οπή ώστε οι ακτινοβολίες που θα εισέλθουν στο φασματοσκόπιο να προέρχονται αποκλειστικά από τη χλωροφύλλη και όχι από άλλες πηγές π.χ. από διάχυση ή από τη λάμπα πυρακτώσεως

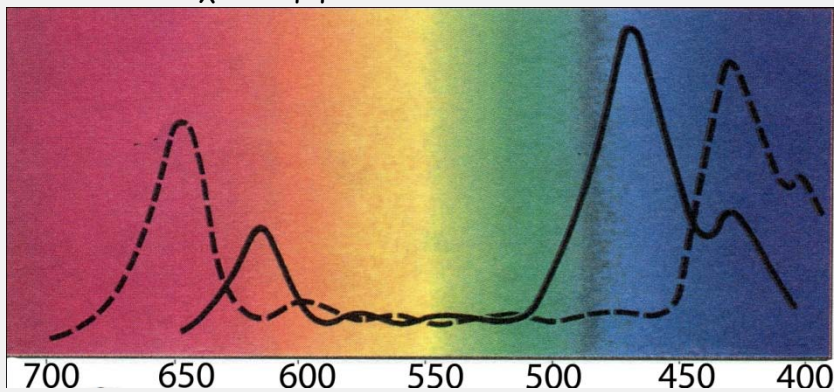
Για το φάσμα απορρόφησης της χλωροφύλλης



1. Παίρνουμε – σε δοκιμαστικό σωλήνα- μια ποσότητα από την ανώτερη στοιβάδα της χλωροφύλλης του 1^{ου} διαχωρισμού
2. Το δοκιμαστικό σωλήνα με το κλάσμα της χλωροφύλλης τον τοποθετούμε μπροστά από τη σχισμή του φασματόμετρου
3. Προχωρούμε στη παρατήρηση του φάσματος απορρόφησης της χλωροφύλλης

Πειραματικά αποτελέσματα

Οι καμπύλες απορρόφησης των χλωροφυλλών και τα μέγιστα τους, όπως δίνονται στο σχολικό βιβλίο



και το φάσμα απορρόφησης των χλωροφυλλών, όπως φαίνεται στο φασματόμετρο μας



Πείραμα 3 : Διαχωρισμός των φωτοσυνθετικών χρωστικών από φύλλα σπανακιού με χρωματογραφία χάρτου

Σκοπός

- Η γνωριμία και η κατανόηση των αρχών της χρωματογραφίας, διαχωρίζοντας χρωματογραφικά τις φωτοσυνθετικές χρωστικές
- Η διαπίστωση ότι οι φωτοσυνθετικές χρωστικές είναι περισσότερες από μία και δεν έχουν όλες πράσινο χρώμα.

Όργανα και υλικά απαραίτητα για το πείραμα

Όργανα - συσκευές	Υλικά - αντιδραστήρια
Για την εκχύλιση των χρωστικών <ol style="list-style-type: none">1. Δύο ποτήρια ζέσεως (Pyrex), το ένα 250 και το άλλο 600 mL ή μεγαλύτερο2. Δοκιμαστικοί σωλήνες3. Καμινέτο ή λύχνος υγραερίου.4. Ξύλινη λαβίδα.5. Ανατομική λαβίδα.6. Χοάνη διαχωρισμού ή εναλλακτικά δοκιμαστικός σωλήνας με πώμα7. Γυάλινη ράβδος για ανάδευση8. Γουδί και γουδοχέρι	<ol style="list-style-type: none">1 Φρεσκοκομμένα φύλλα σπανακιού ή τσουκνίδας .2 Νερό3 Οινόπνευμα4 Ακετόνη
Για τη χρωματογραφία <ol style="list-style-type: none">1. Χαρτί απορροφητικό (Whatman No1). Εάν δεν είναι δυνατόν να το προμηθευτούμε, μπορούμε να το αντικαταστήσουμε με χάρτινα φίλτρα, που χρησιμοποιούμε στις καφετιέρες.2. Ένα ψαλίδι.3. Μεγάλη ξύλινη τσιμπίδα4. Τσιμπιδάκι πλαστικό5. Ξύλινη λαβίδα6. Πολύ λεπτό πινέλο7. Πιστολάκι κομμωτηρίου	Για το χρωματογραφικό διαλύτικό μέσο <ol style="list-style-type: none">1. Μείγμα οινόπνευματος και βενζίνης (σε αναλογία 1:1)

Πορεία του πειράματος

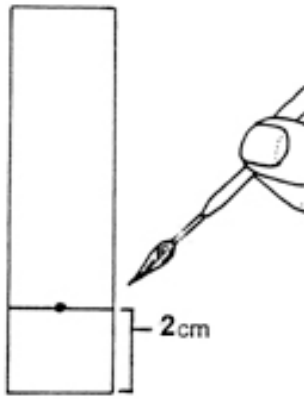
Φάση 1: Η εκχύλιση των χρωστικών

A. τρόπος (όπως στο πείραμα της απομόνωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών)

B. τρόπος: Λειοτριβούμε στο γουδί λίγα φύλλα σπανακιού με ακετόνη που προσθέτουμε σιγά σιγά ώσπου να σχηματιστεί ένα πυκνό πράσινο διάλυμα

Η διαδικασία της χρωματογραφίας

1. Κόβουμε από το απορροφητικό χαρτί μία ταινία πάχους 3,5 cm
2. Βουτάμε το πινέλο στο πράσινο διάλυμα (εκχύλισμα) και σχεδιάζουμε στην ταινία του χαρτιού μία λεπτή γραμμή – 2 cm από την μία άκρη της . Προσέχουμε η γραμμή να είναι όσο το δυνατόν πιο λεπτή.(για να μη απλώσει τη στεγνώνουμε με το πιστολάκι)
3. Επαναλαμβάνουμε τη διαδικασία αυτή αρκετές φορές, προσπαθώντας να μην απλωθεί ή να απλωθεί όρο το δυνατόν λιγότερο η γραμμη
4. Βάζουμε στο ποτήρι ζέσεως των 250 mL περίπου 25 mL από το χρωματογραφικό διαλύτη .



5. . Τοποθετούμε την ταινία του χαρτιού που φέρει τη γραμμή, στο ποτήρι ζέσεως, ώστε η άκρη της ταινίας στην οποία βρίσκεται η γραμμή των χρωστικών να βρέχεται ελάχιστα από τον χρωματογραφικό διαλύτη (να βυθίζεται σ' αυτόν περίπου 2 mm).

Σταθεροποιούμε την ταινία, με τη βοήθεια της ξύλινης λαβίδας και του τσιμπιδιού (όπως φαίνεται στη φωτογραφία), προσπαθώντας να μην ακουμπά στα τοιχώματα του δοχείου

6. Μετά από 15 περίπου λεπτά παρατηρούμε ότι οι διάφορες χρωστικές του φύλλου, παρασυρόμενες από το διαλυτικό μέσο, αρχίζουν να ανέρχονται στο χαρτί σχηματίζοντας ζώνες. Παρατηρούμε τα χρώματα που έχουν

οι ζώνες που σχηματίζονται.

Προσοχή: Όλα τα παραπάνω πρέπει να γίνονται σε καλά αεριζόμενο χώρο, γιατί χρησιμοποιούνται εύφλεκτα αντιδραστήρια.

Αποτελέσματα του χρωματογραφικού διαχωρισμού

- Από τις φωτοσυνθετικές χρωστικές οι ξανθοφύλλες διαλύονται στο οινόπνευμα, οι χλωροφύλλες στη βενζίνη και λιγότερο στο οινόπνευμα και τα καροτένια στη βενζίνη.
- Στο ανώτερο μέτωπο βρίσκονται οι ξανθοφύλλες γιατί το οινόπνευμα έχει τη μικρότερη μοριακή μάζα και τρέχει γρηγορότερα στο χαρτί της χρωματογραφίας. Στο κατώτερο επίπεδο βρίσκονται τα καροτένια (η βενζίνη είναι βαρύτερη και κινείται πιο αργά). Στα ενδιάμεσα μέτωπα βρίσκονται οι χλωροφύλλες

