

Papirkromatografering av plantepigmenter, samt analyse av de ulike plantepigmenter med spektrofotometer

Læringsmål:

Studere det totale absorpsjonsspekteret til et ekstrakt fra en plante og det samme spekteret fra de ulike pigmentene som denne blandingen består av.

Utstyr per gruppe

- 2 reagensrør
- Reagensrørstativ
- Aluminiumsfolie
- Morter
- Filtrerpapir
- Trakt
- Lite begerglass
- Kromatografipapir
- Etanol - løsningsstoff
- Spinatblader
- Løpefase – blanding 9:1 petroleumbensin og aceton
- Spektrofotometer, inkludert kyvetter
- Hårføner
- Pipette/kapillærrør

Fremgangsmåte

1. Knus spinatblader i en morter med litt (bruk så lite som mulig) etanol.
2. Overfør etanolløsningen til en trakt med filter og sett trakten på et begerglass slik at den filtrerte løsningen blir samlet opp.
3. Hell løsningen forsiktig over i en kyvette $\frac{3}{4}$ fullt
4. Test absorbans med spektrofotometer – merk dere formen på kurven og på hvilke bølgelengder det kommer toppe
5. Ta kyvetten ut
6. Klipp to strimler med filterpapir, med en spiss i enden, slik at den kommer helt ned i reagensrøret. Tegn en blyantstrek 2 cm opp på strimmelen (se tegning).
7. Bruk pipette/kapillærrør og avsett en liten dråpe av etanolløsning midt på blyantstreken.
8. Bruk hårføneren forsiktig slik at etanolen fordamper fra flekken.
9. Gjenta punkt 7 og 8 minst 5 ganger, gjerne flere.
10. Bruk en pipette og fyll ca. 1 cm dypt med løpemiddel i hvert reagensrør – pass på å ikke søle langs kanten. **DETTE MÅ GJØRES I AVTREKSKAP**



11. Mens rørene står i avtrekkskapet, sett papirstrimmelen helt ned, slik at spissen står i løpemiddelet. Pakk aluminiumsfolie godt rundt toppen av røret for å hindre at løpemiddelet damper ut.
12. Studer hvordan pigmentene beveger seg oppover på filterpapiret i ulik hastighet. Dere skal kunne se tre bånd: To grønne og et gult. Ta papiret ut av røret når de ulike pigmentene er godt separert. La filterpapiret ligge i avtrekkskapet til løpemiddelet har dampet av. Bruk ev. en hårføner til dette.
13. Klipp filterpapiret i biter slik at flekkene med de ulike pigmentene blir separert.

Følgende skal gjøres som et felles forsøk for alle grupper:

14. Alle biter med same type pigment dyppes, ved hjelp av en pinsett, ned i en kyvette med etanol, slik at så mye som mulig av pigmentet løses opp.
15. Test absorbans med spektrofotometer på de tre ulike kyvettene. Merk dere formen på kurven og på hvilke bølgelengder det kommer topper.
16. Sammenlign med absorbansmåling for hele løsningen. Klarer dere å identifisere hvilke pigmenter det er i løsningen?

