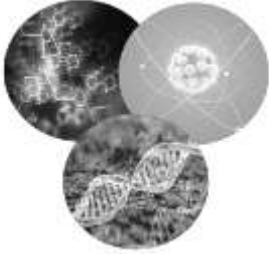


Πανελλήνιος Μαθητικός Διαγωνισμός για την επιλογή στη
Ευρωπαϊκή Ολυμπιάδα Πειραμάτων Φυσικών Επιστημών

EOES 2024



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΣΤΗ
ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Σάββατο 27 ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΥ 2024



(Διάρκεια εξέτασης 60 min - Βάρδιαη)

Μαθητές:	Σχολική Μονάδα
1.	
2.	
3.	

Το χρώμα στη φύση

Γενικές Οδηγίες

1. Μπορείτε να χωρίσετε τα 2 μέρη των θεμάτων και να ασχοληθείτε με αυτά παράλληλα.
2. Φροντίστε να αφήσετε τους πάγκους, όπως τους βρήκατε.

Μέρος Α: Απομόνωση και διαχωρισμός χρωστικών από φυτικά κύτταρα με χρωματογραφία στήλης

Θεωρητικό Υπόβαθρο-Σκοπός πειράματος

Η χρωματογραφία είναι μέθοδος διαχωρισμού χημικών ουσιών, η οποία στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ μιας κινούμενης και μιας στατικής φάσης. Τα συστατικά του μίγματος που έχουν μεγαλύτερη χημική συγγένεια με τον διαλύτη εκκλύονται πρώτα, ενώ εκείνα που έχουν μεγαλύτερη συγγένεια με τη στατική φάση εκκλύονται τελευταία.

Στο σημερινό πείραμα θα χρησιμοποιήσετε τη «χρωματογραφία ξηρής στήλης» για τον διαχωρισμό φυτικών χρωστικών ουσιών, που βρίσκονται στα κύτταρα των φύλλων ή των πετάλων των φυτών. Οι χρωστικές ουσίες των φυτών δεν έχουν μόνο ελκυστικά χρώματα, αλλά και σημαντικές βιολογικές λειτουργίες στον κόσμο των φυτών. Είναι, επίσης, ουσιαστικής σημασίας για την ανθρώπινη ζωή, καθώς έχουν σημαντικά οφέλη στην υγεία. Ακόμη, αυτές οι χρωστικές χρησιμοποιούνται και ως χρωστικές τροφίμων και ως δείκτες στη χημεία.

Η μεγάλη ποικιλία χρωμάτων που εμφανίζουν τα φύλλα, τα άνθη και οι καρποί των φυτών οφείλεται στον συνδυασμό τριών τύπων χρωστικών: τις χλωροφύλλες, τις ξανθοφύλλες και τις ανθοκυανίνες. Οι χλωροφύλλες είναι οι κύριες φωτοσυνθετικές χρωστικές που προσδίδουν στα φυτά το χαρακτηριστικό πράσινο χρώμα. Οι ξανθοφύλλες προσδίδουν κίτρινο χρώμα. Οι ανθοκυανίνες χρησιμεύουν στην προστασία των φυτών από την ηλιακή ακτινοβολία και διακρίνονται σε διάφορους τύπους, ενώ ανάλογα με τον τύπο και την ποσότητά τους, οι φυτικοί ιστοί μπορεί να έχουν μωβ, κόκκινο, ροζ ή μπλε χρώμα.

Στη χρωματογραφία ξηρής στήλης το στερεό προσροφητικό υλικό τοποθετείται σε μία ξηρή, από γυαλί ή πλαστικό, στήλη. Το μίγμα των ουσιών που θέλουμε να διαχωρίσουμε αναμιγνύεται με μια μικρή ποσότητα από το υλικό της στήλης, η οποία στη συνέχεια τοποθετείται στην κορυφή της. Ο διαλύτης αφήνεται να κατέβει τη στήλη από την κορυφή μέχρι το κάτω μέρος της. Οι χρωστικές του μίγματος διαχωρίζονται ανάλογα με τον βαθμό διαλυτότητάς τους σε διαφορετικούς διαλύτες ή μίγματα διαλυτών.

Για την ανίχνευση της χλωροφύλλης στα εκκλυόμενα κλάσματα αξιοποιούμε την ιδιότητά της να απορροφά ακτινοβολία στην κυανή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος και να εκπέμπει ερυθρή ακτινοβολία (φθορισμός). Ένα πράσινο λείζερ παρέχει αρκετή ενέργεια για να διεγείρει τη χλωροφύλλη.

Το ελαιόλαδο επίσης περιέχει χλωροφύλλη (επομένως φθορίζει στην κόκκινη περιοχή) και για τον λόγο αυτό θα χρησιμοποιήσετε δείγμα ελαιόλαδου ως μάρτυρα, προκειμένου να παρατηρήσετε τον φθορισμό. Επιπλέον, θα ελέγξετε δείγμα αραβοσιτέλαιου, το οποίο –αν και μοιάζει οπτικά με το ελαιόλαδο σε διάχυτο φως- δεν έχει χλωροφύλλη.

Στο παρόν πείραμα θα χρησιμοποιήσουμε το φυτό τηλέγραφος (*Tradescantia pallida*), φύλλα από τον οποίο έχετε μπροστά σας .

Εισαγωγική Ερώτηση

Ποιες χρωστικές πιστεύετε ότι θα απομονωθούν από τη χρωματογραφία στήλης που θα πραγματοποιήσετε και γιατί;

.....
.....

Απαιτούμενα υλικά και όργανα για το Α' μέρος

Στον κοινό πάγκο

- Ζυγαριά 0,1 g
- Διάλυμα HCl 1 M
- Πράσινο Laser

Στον πάγκο της ομάδας σας

• Εκχύλισμα φυτικών χρωστικών με ακετόνη	• Πετρελαϊκός αιθέρας
• Αποξηραμένος πουρέ πατάτας	• Ακετόνη
• Σύριγγα μιας χρήσης 20 ml	• κουτάλι
• Ράβδος με βάση και λαβίδα (ορθοστάτης)	• 6 πλαστικά ποτήρια
• Βαμβάκι	• Αιθανόλη 70%
• Άμμος	• ογκομετρικός κύλινδρος 10 ml
• Σύριγγα μιας χρήσης 1 ml	• Ελαιόλαδο
• Ύαλος ωρολογίου	• Αραβοσιτέλαιο
• Γυάλινη ράβδος	• μαρκαδόρος
• δοχείο για απόρριψη άχρηστων υγρών και αντικειμένων	

Πειραματική διαδικασία

1. Για την προετοιμασία της στερεάς φάσης, ζυγίστε 2 g **αποξηραμένο πουρέ** πατάτας σε ύαλο ωρολογίου (χρησιμοποιήστε τη ζυγαριά που υπάρχει στον κοινό πάγκο), πάρτε 2 ml από το έτοιμο **εκχύλισμα** χρωστικών του φυτού τηλέγραφος με τη σύριγγα του 1 ml, αφού πρώτα το ανακατέψετε, προσθέστε το στην ύαλο με τον πουρέ και ανακατέψτε. Αφήστε το μίγμα να στεγνώσει, έως ότου η ακετόνη του εκχυλίσματος εξατμιστεί πλήρως (περίπου 5 λεπτά). Έτσι, δημιουργείται το **«στερεό εκχύλισμα»**.

2. Μέχρι να εξατμιστεί η ακετόνη, μπορείτε να προετοιμάσετε τη στήλη που θα χρησιμοποιήσετε, ακολουθώντας την εξής διαδικασία:

- Τοποθετήστε ένα στρώμα **βαμβάκι** στον πάτο της σύριγγας των 20 mL, με πάχος περίπου 0,5 cm.
- Έπειτα, τοποθετήστε ένα στρώμα **άμμου** πάχους περίπου 1 cm.
- Στηρίξτε τη στήλη σε κατακόρυφη θέση, όπως στη φωτογραφία, και προσθέστε **πουρέ πατάτας** αργά, μέχρι περίπου τα τρία τέταρτα του συνόλου, πιέζοντας ελαφρά με τη ράβδο, ώστε να κατανομηθεί ομοιόμορφα.

Καλέστε κάποιον/κάποια επιτηρητή/επιτηρήτρια να δει και να αξιολογήσει τη στήλη σας.

3. Αριθμήστε τα 5 από τα 6 κενά ποτήρια με τον μαρκαδόρο από το 1 έως το 5.

4. Βάλτε ένα ποτήρι κάτω από τη στήλη (**ποτήρι 1**).

5. Προσθέστε με τη βοήθεια του ογκομετρικού κυλίνδρου 10 ml **πετρελαϊκού αιθέρα** στη στήλη και αφήστε το υγρό να διατρέξει όλο το μήκος της.

6. Προσθέστε στην άνω επιφάνεια της στήλης το **στερεό εκχύλισμα** που παρασκευάσατε στο βήμα 1.

7. Προσθέστε στη στήλη με τη βοήθεια του ογκομετρικού κυλίνδρου ακόμη 10 ml **πετρελαϊκού αιθέρα**, συλλέξτε το πρώτο κλάσμα στο ποτήρι 1 και συμπληρώστε το χρώμα του στον πίνακα 1.



8. Αλλάξτε ποτήρι (**ποτήρι 2**).

9. Παρασκευάστε 10 ml μίγματος **πετρελαϊκού αιθέρα/ακετόνης 90:10**, χρησιμοποιώντας τον ογκομετρικό κύλινδρο των 10 ml. Προσθέστε το μίγμα στη στήλη, ώστε να συλλέξετε το δεύτερο κλάσμα. Έπειτα, συμπληρώστε το χρώμα του στον πίνακα 1.

10. Αλλάξτε ποτήρι (**ποτήρι 3**).

11. Κατόπιν, προσθέστε στη στήλη άλλα 10 ml μίγματος **πετρελαϊκού αιθέρα/ακετόνης 90:10**, που έχετε παρασκευάσει όπως περιγράφεται στο βήμα 9. Συλλέξτε το τρίτο κλάσμα και συμπληρώστε το χρώμα του στον πίνακα 1.

12. Αλλάξτε ποτήρι (**ποτήρι 4**).

13. Παρασκευάστε 10 ml μίγματος **πετρελαϊκού αιθέρα/ακετόνης 75:25**, χρησιμοποιώντας τον ογκομετρικό κύλινδρο των 10 ml, και προσθέστε το μίγμα στη στήλη για την απομόνωση του επόμενου κλάσματος. Μετά απομακρύνετε το ποτήρι και συμπληρώστε το χρώμα του στον πίνακα 1.

14. Με τη βοήθεια του κυλίνδρου περάστε 5 ml **ακετόνης** διαμέσου της στήλης για την απομάκρυνση του πετρελαϊκού αιθέρα στο μη αριθμημένο ποτήρι και πετάξτε το υγρό αυτό.

15. Στη συνέχεια, αλλάξτε ποτήρι (**ποτήρι 5**) και με τη βοήθεια του ογκομετρικού κυλίνδρου των 10 ml προσθέστε 20 ml **αιθανόλης 70°**. Συμπληρώστε το χρώμα του υγρού που παίρνετε στον **πίνακα 1**.

Καλέστε κάποιον/κάποια επιτηρητή/επιτηρήτρια να ελέγξει τον πίνακα 1 ΠΡΙΝ το επόμενο βήμα.

16. Σε αυτό το τελευταίο κλάσμα ζητήστε από κάποιον/κάποια επιτηρητή/επιτηρήτρια να προσθέσει 3 σταγόνες από το διάλυμα **HCl 1 M**. Έπειτα, παρατηρήστε την αλλαγή χρώματος και ολοκληρώστε τον **πίνακα 1**.

 **Πίνακας 1**

Ποτήρι	Ποτήρι 1	Ποτήρι 2	Ποτήρι 3	Ποτήρι 4	Ποτήρι 5 (πριν την προσθήκη HCl)	Ποτήρι 5 (μετά την προσθήκη HCl)
Χρώμα						

17. Φωτίστε οριζόντια με το λείζερ που θα ζητήσετε από κάποιον/κάποια επιτηρητή/επιτηρήτρια [**Προσοχή! Μη στρέψετε τα λείζερ προς τα μάτια τα δικά σας ή άλλου ατόμου (επιτηρητή ή συνδιαγωνιζόμενου)**] το ελαιόλαδο, το αραβοσιτέλαιο και το υγρό μέσα στα ποτήρια έκλουσης 1 έως 4 και καταγράψτε τις παρατηρήσεις σας στον **πίνακα 2**. (Τι χρώμα εμφανίζει η δέσμη; Πόσο έντονο είναι το χρώμα της δέσμης σε σχέση με τα άλλα ποτήρια στα οποία η δέσμη εμφανίζει το ίδιο χρώμα;).

 **Πίνακας 2**

	Παρατηρήσεις
Ποτήρι 1	
Ποτήρι 2	
Ποτήρι 3	
Ποτήρι 4	
Ελαιόλαδο	
Αραβοσιτέλαιο	

Καλέστε κάποιον/κάποια επιτηρητή/επιτηρήτρια να ελέγξει τους πίνακές σας.

 **Ερωτήσεις:**

A1. Σε ποιο από τα ποτήρια έκλουσης 1 έως 4 βρίσκεται η χλωροφύλλη σε μεγαλύτερη συγκέντρωση; Πώς καταλήξατε στο συμπέρασμα αυτό;

.....
.....
.....

Καλέστε έναν επιτηρητή προς επιβεβαίωση της απάντησής σας.

A2. Πού πιστεύετε ότι οφείλεται η αλλαγή χρώματος στο ποτήρι 5 μετά την προσθήκη του HCl;

.....

A3. Τελικά, σε ποιες κατηγορίες ανήκουν οι χρωστικές που παρατηρήσατε ότι απομονώθηκαν, με βάση τα αποτελέσματα του Πίνακα 1 και του Πίνακα 2; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

.....
.....
.....
.....
.....

A4. Να δικαιολογήσετε το χρώμα της δέσμης σε κάθε έλαιο.

.....
.....
.....

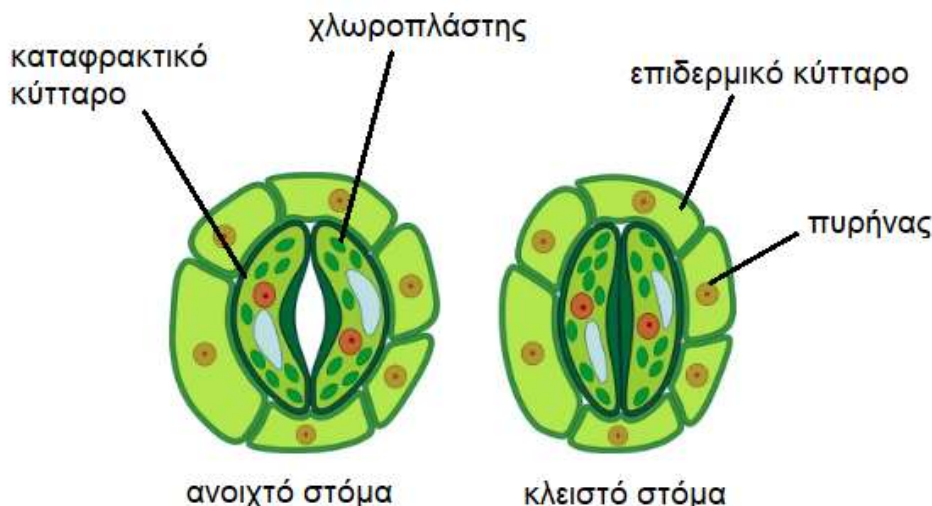
Μέρος Β: Παρατήρηση στομάτων και χλωροπλάστων

Θεωρητικό Υπόβαθρο-Σκοπός πειράματος

Στο Μέρος Β θα παρατηρήσετε στόματα και χλωροπλάστες από το φυτό τηλέγραφος (*Tradescantia pallida*), που ευδοκίμει κύρια τους καλοκαιρινούς μήνες.

Τα στόματα, όπως φαίνεται στην εικόνα, είναι δομές που μπορούν να ανοίγουν (εικόνα α) και να κλείνουν (εικόνα β) με τη βοήθεια ειδικών κυττάρων, των καταφρακτικών κυττάρων, τα οποία, όταν απομακρύνονται μεταξύ τους, ανοίγει ο πόρος π.χ. σε συνθήκες υγρασίας και, όταν έρθουν κοντά, κλείνει ο πόρος π.χ. σε συνθήκες ξηρασίας. Εντοπίζονται στην επιφάνεια των φυτικών φύλλων, των νεαρών πράσινων βλαστών και άλλων φυτικών οργάνων και παίζουν καθοριστικό ρόλο στις διαδικασίες της φωτοσύνθεσης και της κυτταρικής αναπνοής, επιτρέποντας την ανταλλαγή αερίων, όπως το διοξείδιο του άνθρακα και το οξυγόνο, με το περιβάλλον, αλλά και στη διαδικασία της διαπνοής, επιτρέποντας την απομάκρυνση νερού

Η κατανομή των στομάτων μπορεί να διαφέρει μεταξύ διαφορετικών φυτικών ειδών και επηρεάζεται από την οικολογική θέση του φυτού και τις εξελικτικές προσαρμογές του στο συγκεκριμένο περιβάλλον. Έτσι, στα φύλλα ορισμένων φυτών τα στόματα βρίσκονται τόσο στην άνω όσο και στην κάτω επιφάνειά τους (αμφιστοματικά), σε άλλα φυτά, όπως και ο τηλέγραφος (*Tradescantia pallida*), στόματα υπάρχουν μόνο στην κάτω επιφάνεια των φύλλων (υποστοματικά), ενώ σε φύλλα υδρόβιων φυτών, όπως το νούφαρο, στόματα υπάρχουν μόνο στην άνω επιφάνεια του φύλλου, καθώς η κάτω επιφάνεια είναι βυθισμένη στο νερό (επιστοματικά).



Απαιτούμενα υλικά και όργανα για το Β' μέρος

2 φύλλα από τηλέγραφο	μικροσκόπιο
2 αντικειμενοφόρες πλάκες	4 καλυπτρίδες
σετ μικροσκοπίας (βελόνα, λαβίδα, νυστέρι, σταγονόμετρο)	ποτηράκι με νερό

Πειραματική διαδικασία

1. Σκίστε με τη βοήθεια και των δύο χεριών σας ένα φύλλο, ώστε στο σημείο τομής να αποκολληθεί η επιδερμίδα και να βλέπετε λεπτά διαφανή τμήματα.
2. Σύμφωνα με το θεωρητικό υπόβαθρο που διαβάσατε, επιλέξτε την πάνω ή την κάτω πλευρά του φύλλου και με ένα νυστέρι κόψτε και αφαιρέστε ένα όσο πιο λεπτό γίνεται τμήμα της επιδερμίδας του φύλλου. Απαντήστε στο ερώτημα Β1 (στην επόμενη σελίδα).
3. Με τη βοήθεια μίας λαβίδας και μίας ανατομικής βελόνας τοποθετήστε το δείγμα από το φύλλο σας σε μία αντικειμενοφόρο πλάκα.
4. Ρίξτε μία σταγόνα νερό στο δείγμα σας και καλύψτε το προσεκτικά με μία καλυπτρίδα.
5. Τοποθετήστε την αντικειμενοφόρο πλάκα με το δείγμα στο μικροσκόπιο, ξεκινώντας από τη μικρότερη μεγέθυνση.

6. Παρατηρήστε στο παρασκεύασμά σας τις διάφορες δομές του φύλλου και προχωρήστε σε μεγαλύτερες μεγεθύνσεις.
7. Επιλέξτε μία μεγέθυνση και απαντήστε στις ερωτήσεις B2, B3, B4.
8. Στη μεγαλύτερη μεγέθυνση του μικροσκοπίου σας εντοπίστε στόματα στο φύλλο. Επιλέξτε ένα στόμα που να είναι ευδιάκριτο και απαντήστε στις ερωτήσεις B5 και B6.

Καλέστε έναν/μία επιτηρητή/επιτηρήτρια για να δει το παρασκεύασμά σας!

 **Ερωτήσεις**

B1. Από ποια πλευρά του φύλλου (πάνω ή κάτω) παρατηρήσατε στόματα;

.....

B2. Κατά την παρατήρηση του δείγματός σας στη μεγαλύτερη μεγέθυνση στο μικροσκόπιο, εντοπίσατε κάποιες δομές με χρώμα; (ΝΑΙ/ΟΧΙ)

Αν ναι, να αναφέρετε τα χρώματα που εντοπίσατε.

.....

.....

B3. Τα χρώματα, που παρατηρήσατε στο μικροσκόπιο, ταυτίζονται με τα χρώματα του φύλλου, όπως αυτά τα βλέπατε με γυμνό μάτι; (ΝΑΙ/ΟΧΙ)

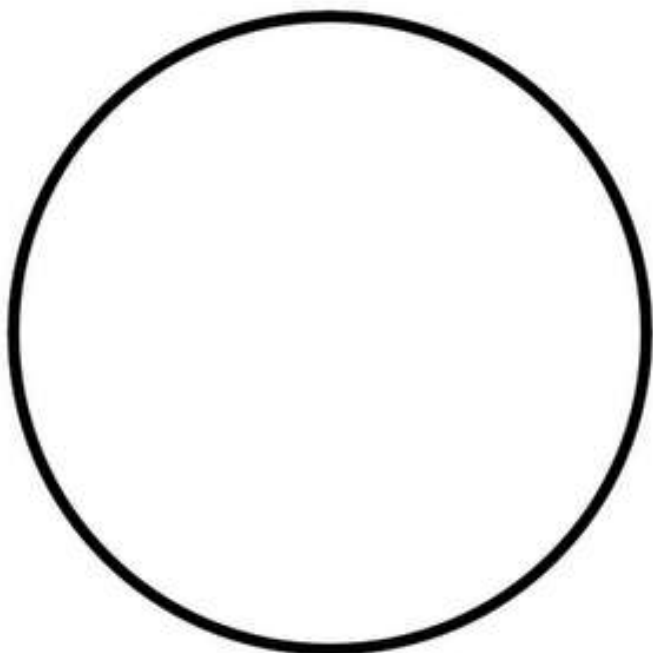
B4. Τα χρώματα που αναφέρατε στο B2 ερώτημα μπορούν να ταυτιστούν με αντίστοιχες χρωστικές που παρατηρήσατε κατά την απομόνωσή τους με τη χρωματογραφία στήλης στο Μέρος Α των πειραμάτων σας; (ΝΑΙ/ΟΧΙ)

Αν ναι, με ποιες;

.....

.....

B5. Να σχεδιάσετε ένα ευδιάκριτο στόμα του παρασκευάσματός σας και χλωροπλάστες μέσα στον κύκλο που ακολουθεί. Συμπληρώστε τις τιμές των μεγεθύνσεων που χρησιμοποιήσατε.





Μεγεθυντική ικανότητα προσοφθάλμιου φακού:

Μεγεθυντική ικανότητα αντικειμενικού φακού:

Τελική μεγέθυνση παρασκευάσματος:

.....

B6. Αξιοποιώντας τις πληροφορίες από τον πίνακα που ακολουθεί, υπολογίστε το μήκος και το πλάτος του στόματος που επιλέξατε να παρατηρήσετε, με τη βοήθεια και της βελόνας του προσοφθαλμίου φακού.

Μεγέθυνση	Μεγάλη υποδιαίρεση 	Μικρή υποδιαίρεση 
X 40	111 μm	22 μm
X 100	44 μm	8,9 μm
X 400	11 μm	2,2 μm



.....

Ευχόμαστε επιτυχία & καλή διασκέδαση!!!!

* Η εργαστηριακή άσκηση του Α' μέρους αποτελεί προσαρμογή άσκησης που πρωτοπαρουσιάστηκε στο ΘΕΡΙΝΟ ΣΧΟΛΕΙΟ ΠΑΝ.Ε.Κ.Φ.Ε. - ΜΕΤΩΠΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ. Την επιμέλεια των θεμάτων είχαν οι: Ελένη Κάτανα - Υπ. Ε.Κ.Φ.Ε. Ν. Φιλαδέλφειας, Βασιλική Κωνσταντινοπούλου - Υπ. Ε.Κ.Φ.Ε. Χαλανδρίου & Μιχαήλ Φιλιόγλου - Υπ. Ε.Κ.Φ.Ε. Αιγάλεω, οι οποίοι βασίστηκαν στην Εργαστηριακή Δραστηριότητα της Κ. Σάλτα και του ΕΚΦΕ Ηλιούπολης με τίτλο "Βιομόρια, συστατικά τροφίμων: απομόνωση, ανίχνευση και προσδιορισμός τους αξιοποιώντας ιδιότητες του φωτός".