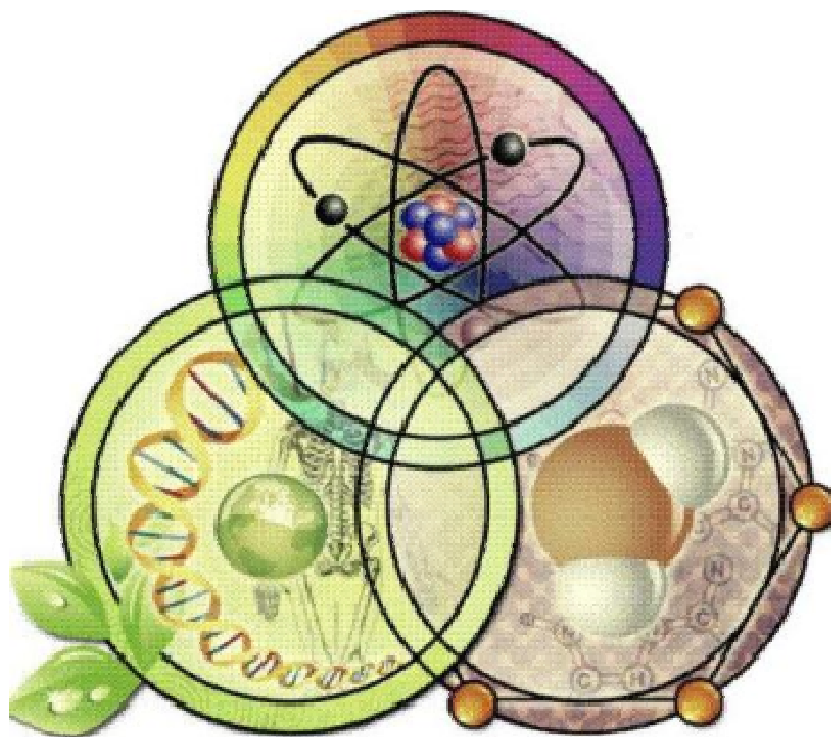


Πανελλήνιος Μαθητικός Διαγωνισμός  
για την επιλογή στη 10η Ευρωπαϊκή Ολυμπιάδα Επιστημών - EUSO 2012  
Σάββατο 21 Ιανουαρίου 2012

ΒΙΟΛΟΓΙΑ



Σχολείο:.....

Όνοματεπώνυμο μαθητών:

1).....

2).....

3) .....

# Προετοιμασία νωπού παρασκευάσματος και διαχωρισμός φωτοσυνθετικών χρωστικών με χρωματογραφία χάρτου

## Στόχοι

- Προετοιμασία νωπού παρασκευάσματος και απεικόνιση φυτικών κυττάρων με χλωροπλάστες.
- Διαχωρισμός φωτοσυνθετικών χρωστικών με χρωματογραφία χάρτου και υπολογισμός του λόγου  $R_f$ .
- Προσδιορισμός των χρωστικών.

## Θεωρητικές επισημάνσεις

Η διατήρηση της ζωής πάνω στη γη στηρίζεται στην ηλιακή ενέργεια. Τα φυτά έχουν τη μοναδική ικανότητα να μετατρέπουν την ηλιακή ενέργεια σε χημική. Η μετατροπή αυτή γίνεται στα πράσινα μέρη των φυτών με τη βοήθεια των χρωστικών που βρίσκονται στους χλωροπλάστες. Με τη διαδικασία της φωτοσύνθεσης από ανόργανα συστατικά παράγονται υδατάνθρακες(γλυκόζη). Οι βασικές χρωστικές που περιέχονται στους χλωροπλάστες είναι οι ξανθοφύλλες, οι χλωροφύλλες α, β και τα καροτένια.

Η χρωματογραφία εφαρμόστηκε για πρώτη φορά από το Ρώσο χημικό Μιχαήλ Σεμιόνοβιτς Τσβέτ(Tswett) που κατάφερε το 1906 να διαχωρίσει σε εκχύλισμα πράσινων φύλλων καροτένια και χλωροφύλλες σε ένα γυάλινο σωλήνα που περιείχε κονιορτοποιημένη κιμωλία. Επειδή η διαδικασία αυτή οδήγησε στην εμφάνιση κίτρινων και πράσινων ζωνών, ο Τσβέτ ονόμασε την τεχνική **χρωματογραφία**. Από τότε χρησιμοποιείται ευρύτατα σε διαχωρισμούς συστατικών διαλυμάτων. Είναι χαρακτηριστικό ότι δυο βραβεία Nobel για τη Χημεία το 1948 (A. Tiselius) και το 1952 (A.J.P. Martin, R.L.M. Synge) αφορούσαν έρευνα πάνω στη χρωματογραφία.

Βασική αρχή της χρωματογραφίας είναι η κατανομή συστατικών ενός διαλύματος, μεταξύ μιας κινητής και μιας στατικής φάσης. Η κινητή φάση μπορεί να είναι ένα υγρό ή ένα αέριο και η στατική στερεό ή υγρό. Στη σημερινή δραστηριότητα θα ασχοληθείτε με τη χρωματογραφία χάρτου. Η στατική φάση δηλαδή είναι το χαρτί και η κινητή ένας οργανικός διαλύτης.

Με τη χρωματογραφία χάρτου διαχωρίζονται συστατικά πάνω στο χαρτί, καθώς μετακινείται το διαλυτικό μέσο πάνω σε αυτό. Το διαλυτικό μέσο μπορεί να αποτελείται από ένα είδος διαλύτη ή από μίγμα διαλυτών. Τα συστατικά του μίγματος που είναι περισσότερο διαλυτά στο διαλύτη (παρασύρονται από αυτόν), μετακινούνται πιο γρήγορα και σε μεγαλύτερη απόσταση πάνω στο χαρτί από την αρχική θέση, σε αντίθεση με άλλα συστατικά που είναι λιγότερο διαλυτά και μετακινούνται με μικρότερη ταχύτητα και σε μικρότερη απόσταση. Έτσι το αποτέλεσμα είναι ο διαχωρισμός των συστατικών με το σχηματισμό περισσότερο ή λιγότερο διακριτών ζωνών, που κάθε μία αντιστοιχεί σε μια χρωστική, εάν τα συστατικά ενός μίγματος είναι έγχρωμα. Με τη χρωματογραφία μπορούν να διαχωριστούν συστατικά από μίγμα ακόμη και αν βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες.

Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν το διαχωρισμό, είναι το μέγεθος και το είδος των μορίων, η πολικότητά τους(αν έχουν φορτισμένες ομάδες), οι πιθανές επιδράσεις ανάμεσα στα μόρια του διαλύτη με αυτά των χρωστικών, μεταξύ των χρωστικών και του χαρτιού, του διαλύτη και του χαρτιού. Η επιλογή του κατάλληλου διαλύτη με γνωστή τη δομή των συστατικών ενός μίγματος, οδηγεί στον καλό διαχωρισμό των συστατικών και η χρήση ενός γνωστού διαλυτικού μέσου οδηγεί σε συμπεράσματα για τη φύση κάθε συστατικού ενός άγνωστου μίγματος.

Η απόσταση που διανύει κάθε συστατικό ενός μίγματος πάνω στο χαρτί, είναι χαρακτηριστική και εξαρτάται από τη φύση της στατικής φάσης, από το είδος και τη σύσταση του διαλύτη, από τις συνθήκες του πειράματος(θερμοκρασία περιβάλλοντος κλπ).

Μπορούμε να συγκρίνουμε την απόσταση που διανύει ο διαλύτης και κάθε συστατικό του μίγματος υπολογίζοντας το λόγο:

απόσταση που διανύει η χρωστική

απόσταση που διανύει ο διαλύτης

ο οποίος ονομάζεται  $R_f$ .

Ο λόγος  $R_f$  χρησιμεύει στην αναγνώριση μιας άγνωστης ουσίας με σύγκριση του  $R_f$  γνωστής. Βρίσκει εφαρμογές στον προσδιορισμό του αριθμού και την ταυτοποίηση των συστατικών ενός μίγματος, στον ποιοτικό έλεγχο, στην ανίχνευση ουσιών σε άγνωστο μίγμα κ.α.

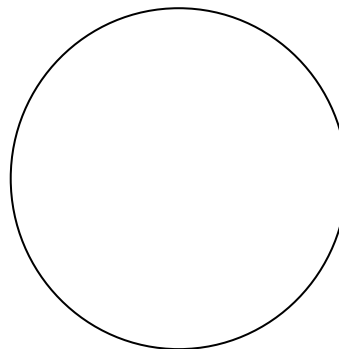
### Όργανα και υλικά

- Μικροσκόπιο, αντικειμενοφόρες πλάκες, καλυπτρίδες, κασετίνα μικροσκοπίας
- Πλαστικό μπουκαλάκι με νερό
- Οδοντογλυφίδες
- Μεγάλος δοκιμαστικός σωλήνας - Στήριγμα
- Χαρτί χρωματογραφίας
- Σπανάκι (φύλλα)
- Μεταλλικό νόμισμα
- Χαρτί κουζίνας – διαφανής μεμβράνη
- Οργανικός διαλύτης

### Πειραματική διαδικασία

#### A. Προετοιμασία νωπού παρασκευάσματος:

1. Για να παρατηρήσετε κύτταρα με χλωροπλάστες επιλέξτε δείγμα από το φυτικό ιστό (σπανάκι) που να μην περιλαμβάνει στόματα.
2. Απεικονίστε ένα τμήμα του παρασκευάσματος.



#### B. Διαχωρισμός χρωστικών – Χρωματογραφία χάρτου.

Αποφεύγετε να ακουμπάτε το χαρτί της χρωματογραφίας με τα δάκτυλά σας. Να πιάνετε το χαρτί από τις άκρες.

1. Πάνω στη λωρίδα του χαρτιού χαράξετε οριζόντια μια γραμμή με μολύβι σε απόσταση 2cm περίπου από το μυτερό άκρο.
2. Διαλέξτε ένα φύλλο από σπανάκι, στεγνώστε το με χαρτί κουζίνας και κόψτε το σε μικρά κομμάτια (από περιοχή χωρίς <νεύρα>).
3. Τοποθετήστε το κομμάτι του φύλλου με την πάνω επιφάνεια του, πάνω στη γραμμή που έχετε χαράξει στη λωρίδα του χαρτιού και με το νόμισμα πιέστε ώστε να αφήσει ένα λεπτό, οριζόντιο, πράσινο ίχνος χωρίς να χαραχτεί το χαρτί. Επαναλάβετε διαδικασία 10-15 φορές επιλέγοντας κάθε φορά διαφορετική περιοχή του φύλλου. Φροντίστε το ίχνος να παραμένει λεπτό, να μην καταστραφεί το χαρτί και να μην έχει κομμάτια φυτικού ιστού(διπλανή εικόνα).
4. Στεγνώστε το αποτύπωμα των χρωστικών .
5. Ζητήστε από τον υπεύθυνο να σας προσθέσει διαλυτικό μέσο στο δοκιμαστικό σωλήνα. Σκεπάστε αμέσως με τη διαφανή μεμβράνη.
6. Στερεώστε την πάνω άκρη του χαρτιού με την οδοντογλυφίδα, ανοίξτε τη διαφανή μεμβράνη και τοποθετήστε τη λωρίδα του χαρτιού στο δοκιμαστικό σωλήνα, έτσι ώστε το μυτερό άκρο να βυθιστεί στο διαλύτη χωρίς η στάθμη του διαλύτη να φτάσει στο οριζόντιο ίχνος των χρωστικών. Η λωρίδα του χαρτιού δεν πρέπει να ακουμπά στα τοιχώματα του δοκιμαστικού σωλήνα. Σκεπάστε πάλι με τη διαφανή μεμβράνη.



τη

7. Παρακολουθήστε τη μετακίνηση του διαλύτη και των χρωστικών πάνω στη λωρίδα του χαρτιού για 10 λεπτά. Απομακρύνετε το χαρτί από το δοκιμαστικό σωλήνα. Σκεπάστε το στόμιο του δοκιμαστικού σωλήνα με τη διαφανή μεμβράνη.

8. Πριν στεγνώσει σημειώστε οριζόντια γραμμή με μολύβι, στην κορυφή κάθε χρωστικής και την τελική απόσταση του διαλύτη (διπλανή εικόνα).

Χαρακτηρίστε κάθε χρωστική από τη βάση προς την κορυφή με τα γράμματα Α, Β, Γ, Δ. Μετρήστε με το χάρακα την απόσταση που έχει διανύσει ο διαλύτης και κάθε χρωστική από την αρχική θέση των χρωστικών.

9. Υπολογίστε το λόγο  $R_f$  για κάθε χρωστική. Συμπληρώστε τον πίνακα 2. Με τη βοήθεια του πίνακα 1 προσδιορίστε το όνομα των χρωστικών Α, Β, Γ και Δ.

Ο πίνακας 1 περιλαμβάνει τις τιμές  $R_f$  για κάθε χρωστική με χρήση του διαλύτη που χρησιμοποιήσατε στη συγκεκριμένη χρωματογραφία.

(πετρελαϊκός αιθέρας: ακετόνη).



ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Όνομα χρωστικής	Χρώμα	Λόγος $R_f$
Χλωροφύλλη α	πράσινο	0.65
Καροτένια	πορτοκαλί	0.95
Χλωροφύλλη β	πράσινο-κίτρινο	0.45
ξανθοφύλλες	κίτρινο	0.71

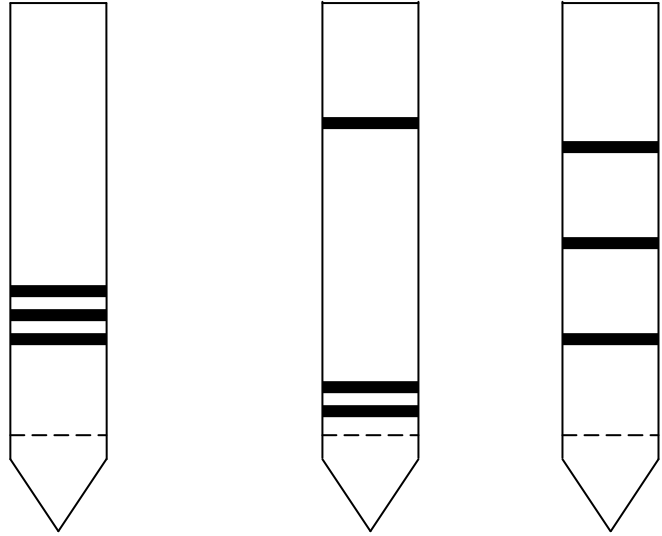
ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Χρωστικές	Απόσταση (cm) από το ίχνος	Λόγος $R_f$	Όνομα χρωστικής
Δ			
Γ			
Β			
Α			

Απόσταση (cm) που διανύθηκε από το διαλύτη:.....

## Ερωτήσεις

1. Κατά την προετοιμασία ενός πειράματος χρωματογραφίας οι ερευνητές πειραματίστηκαν με τρεις διαφορετικούς οργανικούς διαλύτες. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν για το διαχωρισμό μίγματος τριών ουσιών με διαφορετικά χαρακτηριστικά φαίνονται στο διπλανό σχήμα. Ποιο διαλύτη επιλέγουν για τα πειράματα τους; Να δικαιολογήσετε την απάντησή σας.



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

2. Καταγράψτε και δικαιολογήστε τις παρατηρήσεις σας σχετικά με τη θέση που έχουν οι χλωροφύλλες και τα καροτένια στο χαρτί της χρωματογραφίας.

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

3. Τα φύλλα από το σπανάκι φαίνονται πράσινα, αλλά στη χρωματογραφία σας παρατηρείτε την ύπαρξη και άλλων χρωστικών. Γιατί δεν βλέπετε και τις άλλες χρωστικές.

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

4. Ποιες χρωστικές υπάρχουν στα φθινοπωρινά φύλλα των φυλλοβόλων;

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

### Ενδεικτικές πηγές:

<http://www.hsu.edu/pictures.aspx?id=1653>

[http://www.phschool.com/science/biology\\_place/labbench/lab4/intro.html](http://www.phschool.com/science/biology_place/labbench/lab4/intro.html)

[http://www.funsci.com/fun3\\_en/exper1/exper1.htm#chlorophyll](http://www.funsci.com/fun3_en/exper1/exper1.htm#chlorophyll)

**ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΣ ΕΥΣΟ 2012****ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΕΠΙΤΗΡΗΤΕΣ**

	<b>ΜΟΡΙΑ</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 1η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 2η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 3η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 4η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 5η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 6η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 7η</b>	<b>ΟΜΑΔΑ 8η</b>
<b>Επιλογή περιοχής</b>	<b>10</b>								
<b>Καλή ποιότητα</b>	<b>05</b>								
<b>Απεικόνιση, ενδείξεις, μεγέθυνση</b>	<b>10</b>								
<b>Σύνολο</b>	<b>25</b>								

## ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΟΣ ΕΥΣΟ 2012

### ΠΙΝΑΚΑΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΑΠΟ ΤΟΥΣ ΒΑΘΜΟΛΟΓΗΤΕΣ

		ΜΟΡΙΑ	ΟΜΑΔΑ 1η	ΟΜΑΔΑ 2η	ΟΜΑΔΑ 3η	ΟΜΑΔΑ 4η	ΟΜΑΔΑ 5η	ΟΜΑΔΑ 6η	ΟΜΑΔΑ 7η	ΟΜΑΔΑ 8η
Πίνακας 35	Σωστές αποστάσεις	08								
	Υπολογισμός Rf	07								
	Όνομα χρωστικής	4x05								
Ερώτηση 1η		04+04 +02								
Ερώτηση 2η		02+03+03 +01+01								
Ερώτηση 3η		10								
Ερώτηση 4η		10								
<b>Σύνολο</b>		<b>75</b>								

### Απαντήσεις

**Ερώτηση 1<sup>η</sup>:** Επιλέγω το διαλύτη που δίνει το 3<sup>ο</sup> χρωματογράφημα **(04)**, διότι διαχωρίζονται πολύ καλά οι χρωστικές **(04)** και υπολογίζονται καλύτερα τα R<sub>f</sub> **(02)**.

**Ερώτηση 2η:** Τα καροτένια είναι στην κορυφή σε μεγάλη απόσταση από τις χλωροφύλλες **(02)**, διότι έχουν διαφορετικό μέγεθος **(03)**, διαφορετική διαλυτότητα **(03)**, διαφορετική δομή **(01)**, διαφορετικές επιδράσεις ανάμεσα στο χαρτί, στο διαλύτη και στη χρωστική **(01)**.

**Ερώτηση 3η:** Επειδή είναι σε μεγάλη ποσότητα και επικαλύπτεται το χρώμα των άλλων χρωστικών **(10)**.

**Ερώτηση 4η:** Καροτένια και ξανθοφύλλες **(10)**.