المختبر التاسع

اسم التجربة: استخلاص وفصل صبغات التركيب الضوئي بطريقة الفصل الورقي (الكروماتوكرافي).

يمكن استخلاص صبغات التركيب الضوئي من أي نسيج نباتي أخضر بتمزيق النسيج في مذيب عضوي (الأسيتون مثلاً) ومن ثم معاملة محلول الصبغات بطريقة الفصل الورقي لفصل مكوناته حيث يتم فصل الصبغات على أساس قابلية ادمصاص مكوناتها على جزيئات ورقة الفصل فضلاً عن قابلية ذوبانها في المذيب وذلك حسب أوزانها الجزيئية.

طريقة العمل:

1- يسحق بصورة جيدة (10) غم من أوراق نبات السبانخ مع كمية قليلة من كاربونات الصوديوم مع إضافة (20) مل من الأسيتون بواسطة ماكنة السحق وفي حالة عدم توفرها يستعمل المطحنة الخزفية ولكن يضاف إليها بضع غرامات من الرمل النظيف الجاف.
2- يرشح المزيج باستعمال قمع.
3- يقدر حجم الراشح بواسطة اسطوانة مدرجة.
4- ينقل الراشح إلى قمع الفصل.
5- يضاف إلى الراشح نفس الحجم من محلول البتروليوم ايثر ثم يمزج الخليط جيداً بتدوير قمع الفصل بهدوء.
6- يغسل الخليط ثلاث مرات بإضافة (25) مل من محلول، كلوريد الصوديوم بتركيز (10) % في كل مرة مع مزج الخليط جيداً ويجب التخلص من الطبقة المائية السفلى في كل مرة.
7- يضاف بعد ذلك (1) غم من كبريتات الصوديوم اللامائية إلى المحلول ويترك لبضع دقائق.
8- تحضر ورقة الفصل الكروماتوكرافي ثم يضاف قطرة من محلول الصبغات بواسطة أنبوبة شعرية وتترك لتجف وتكرر العملية (6-8) مرات.
9- يتكون المحلول من اسيتون وبترول ايثر بنسبة (10 : 1) ويترك لمدة ½ ساعة حتى يحصل التشبع.
10- تثبت ورقة الفصل الكروماتوكرافي في وعاء ويحكم سده (غلقه) بحيث تبعد مسافة (1) سم عن نهاية المحلول في قاعدة الوعاء (توضع في أنبوبة مدرجة كبيرة الحجم).
11- يترك الوعاء (أنبوبة مدرجة) لمدة زمنية معينة لكي يتحرك المحلول مع العينة لمسافة ¾ طول الورقة وذلك لإتمام عملية فصل الصبغات وذلك بتثبيت الوعاء في مكان مظلم.
12- تخرج ورقة الفصل الكروماتوكرافي ثم يلاحظ ألوان الصبغات المنتشرة عليها من الأعلى إلى الأسفل.

Scanned with CamScanner