ΦΩΤΕΙΝΗ ΕΝΕΡΓΕΙΑ

Φύλλο οδηγιών

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ

13-5-2008 ΕΡΓΑΣΙΑ 1 Β

Χώρα:
Ομάδα:
Αριθμός θέσης:
Χρόνος εργασίας: 3 ώρες

1. Γενικές οδηγίες……..……..3
2. Κανονισμοί εργαστηρίου……..……..4
3. Κατάλογος απαιτούμενων οργάνων και αντιδραστηρίων……...…….5
4. Κανονισμοί ασφάλειας, S και R χαρακτηρισμοί ..……...……..5
5. Εισαγωγή και θεωρία ...……..……...…..…….7
6. Πειράματα…….……..10
   1. ΠΕΙΡΑΜΑ 1: Ρυθμός φωτοσύνθεσης παρουσία φωτός διαφορετικών τιμών έντασης ……....10
   2. ΠΕΙΡΑΜΑ 2: Εκχύλιση και ταυτοποίηση χρωστικών ουσιών, φύλλων κόκκινου λάχανου με χρήση χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας (TLC) ..…….....……..11
      Εισαγωγή και θεωρία……...……..……..11
      Υλικά για την εκχύλιση των χρωστικών.……12
      Υλικά για την χρωματογραφία TLC.……..12
      Μεθοδολογία……..…….……..13
   3. ΠΕΙΡΑΜΑ 3: Διαχωρισμός χρωστικών με εκλεκτική διαλυτοποίηση...17
      Εισαγωγή.…….…….17
      Υλικά……..……..……17
      Μεθοδολογία……..17
   4. ΠΕΙΡΑΜΑ 4: Καταγραφή των φασμάτων απορρόφησης των διαχωρισμένων κλασμάτων χρωστικών ουσιών ……..…..……19
      Υλικά……...19
      Μεθοδολογία……..……..19
   5. ΠΕΙΡΑΜΑ 5. Τι συμβαίνει όταν οι χρωστικές απορροφούν φως; Παγίδευση και απελευθέρωση φθορισμού ηλιακής ενέργειας ……...20
      Υλικά.…….....20
      Οδηγίες..……..20

1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΟΔΗΓΙΕΣ

- Έχετε στη διάθεσή σας τρία πακέτα φύλλων οδηγιών και απαντήσεων. Στο τέλος των πειραμάτων πρέπει να βάλλετε μέσα στο φάκελο ένα μόνο φύλλο εργασίας και ένα μόνο φύλλο οδηγιών υπογεγραμμένα από την παρατηρητή.
- Γράψτε όλα τα προσωπικά σας στοιχεία στο πλαίσιο της πρώτης σελίδας.
- Έχετε 3 ώρες για να τελειώσετε το τεστ. Βεβαιωθείτε ότι μελετήσατε το φύλλο οδηγιών και το φύλλο απαντήσεων πριν την έναρξη των πειραμάτων. Μπορείτε να κατανείμετε το χρόνο σας όπως νομίζετε. Οργανωθείτε επιτυχώς.
- Υπάρχουν 20 σελίδες του φύλλου οδηγιών 1 Β και 14 σελίδες του φύλλου απαντήσεων 1 Β.
- Γράψτε τις απαντήσεις και τους υπολογισμούς στις προβλεπόμενες γι αυτό περιοχές.
- Επιπλέον δείγματα και αναλώσιμα μπορούν να διατεθούν με ποινή 2 μορίων για κάθε θέμα.
- Καμία επιπλέον διευκρίνιση δεν προβλέπεται.
- η χρήση του Blanco καθώς και των προγραμματιζόμενων υπολογιστών τσέπης απαγορεύεται.
- Χρησιμοποιείτε μόνο μαύρο ή μπλε στυλό.
- Μπορείτε να πάτε στην τουαλέτα μόνο με άδεια.
- Στο τέλος της εργαστηριακής περιόδου, πρέπει να πετάξετε όλα τα απορρίμματα και να ξεπλύνετε τα ξαναχρησιμοποιούμενα υάλινα σκεύη με αιθανόλη (στο ειδικό δοχείο ξεβγάλματος).
- Τοποθετήστε όλα τα εξαρτήματα στον πάγκο και τσεκάρετε στην αντίστοιχη λίστα

2. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

- Φορέστε τα προστατευτικά γυαλιά, γάντια και ποδιά καθ' όλη τη διάρκεια παραμονής σας στο εργαστήριο
- ακολουθείστε τους κανονισμούς ασφάλειας R και S.
- Κατά την παραλαβή διαλυμάτων από τα δοχεία αποθήκευσης μην χρησιμοποιείτε ποτέ την ίδια πιπέτα δύο φορές.
- Μην μυρίζετε τα αντιδραστήρια.
- Πετάξτε τα χρησιμοποιημένα χημικά αντιδραστήρια κα διαλύματα στο πλαστικό δοχείο που φέρει την ετικέτα "WASTE" (απορρίμματα).
- Πετάξτε τους δοκιμαστικούς σωλήνες και σπασμένα γυαλιά στο ειδικό δοχείο γυάλινων απορριμμάτων "GLASS WASTE DISPOSAL".
- Δεν επιτρέπεται το φαγητό και ποτό στο εργαστήριο.
- Μην μετακινείστε από τη θέση σας και μην δανείζεστε αντιδραστήρια ή όργανα από τους άλλους διαγωνιζόμενους. Αν χρειάζεστε οποιαδήποτε βοήθεια μην διστάσετε να απευθυνθείτε στον βοηθό του εργαστηρίου.
- Μόρια θα αφαιρεθούν ως ποινή για κάθε παραβίαση των κανονισμών ασφαλείας (1 μόριο). Ακολουθείτε πάντα τις οδηγίες των παρατηρητών.
- Όταν δείτε έναν παρατηρητή!!!!!!.Στη θέση εργασίας σας, σηκώστε το χέρι σας και περιμένετέ τον να δει το πείραμα σας πριν ξεκινήσετε.
- Οποιαδήποτε άλλη στιγμή χρειαστείτε έναν υπεύθυνο απλά σηκώστε το χέρι σας και περιμένετε.

3. Α

ντιδραστήρια και όργανα

Αντιδραστήρια	**Ποσότητα**	**θέση**	**ετικέττα**
απεσταγμένο νερό	500mL	Υδροβολέας	Distilled Water
αιθανόλη	10 mL	γυάλινο φιαλίδιο	ETHANOL 99.8%
πετρελαϊκός αιθέρας		Γυάλινη φιάλη στον απαγωγό	Petroleum ether
πετρελαϊκός αιθέρας:χλωροφόρμιο:ακετόνη 3:1:1	20mL	Σε κωνική φιάλη με εσμιρισμένο πώμα	

Πρέπει να έχετε:	**Quantity**
εργαστηριακή ποδιά	1
γυαλιά ασφαλείας	1
μολύβι	1
στυλό	1
κομπιουτεράκι	1

4.ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ ΑΣΦΑΛΕΙΑς S ΚΑΙ R

PETROLEUM ETHER	R 11-45-65 και S 9-16-29-53-45
ETHANOL	R 11 και S 7-16
CHLOROFORM	R22-38-40-48 20/21/22 και S36-37
ACETONE	R 11-36-66-67 και S 9-16-26

Κανονισμοί ασφαλείας (R)

R 11 Πολύ εύφλεκτο.

R 22 Επικίνδυνο αν το καταπιείτε

R 26 Πολύ τοξικό αν το εισπνεύσετε.

R45 Καρκινογόνο.
R38 Ερεθίζει το δέρμα.
R40 Περιορισμένες ενδείξεις για καρκινογενέσεις.
R48 Παρατεταμένη έκθεση προκαλεί σοβαρά προβλήματα υγείας.
R65 Βλαβερό: κατάποση προκαλεί πρόβλημα στους πνεύμονες.
R66 Επαναλαμβανόμενη έκθεση προκαλεί ξηρότητα κα σπάσιμο της επιδερμίδας.
R67 Ατμοί μπορούν να προκαλέσουν νύστα και ζάλλη.

Συνδιασμοί κανονισμών ασφαλείας (R)

R20/ 21/22 Βλαβερό στην αναπνοή ,κατά την επαφή με το δέρμα και την κατάποση.

Κανονισμοί ασφαλείας (S)

S 9 Φυλάξτε το δοχείο σε καλά αεριζόμενο μέρος.
S7 Φυλάξτε το δοχείο ερμητικά κλειστό.
S 16 Φυλάξτε το δοχείο μακριά από πηγές ανάφλεξης-μην καπνίζετε.

S 22 Μην εισπνέετε τη σκόνη.

S 23 μην εισπνέετε το αέριο/καπνό/ατμούς/spray (η κατάλληλη λέξη να διευκρινιστεί από τον κατασκευαστή).

S 25 Αποφύγετε επαφή με τα μάτια.

S26 Σε περίπτωση επαφής με τα μάτια, ξεβγάλετε αμέσως με άφθονο νερό και συμβουλευτείτε γιατρό.
S29 Να μην αδειάζεται στο νεροχύτη.
S36 Δεν καταστρέφει τα ρούχα.
S37 Φοράτε ειδικά γάντια.
S 45 Σε περίπτωση ατυχήματος αν δεν νιώθετε καλά, συμβουλευτείτε γιατρό αμέσως(αν είναι δυνατόν δείξτε την ετικέτα).

S53 Αποφύγετε την έκθεση-λάβετε ειδικές οδηγίες πριν τη χρήση.

1.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΘΕΩΡΙΑ

Όλοι γνωρίζουμε ότι τα φυτά φωτοσυνθέτουν. Η λέξη αυτή προέρχεται από δύο **Ελληνικές** λέξεις **φώς** και **σύνθεση**. Τα φυτά χρησιμοποιούν το φώς σαν πηγή ενέργειας για να παράγουν γλυκόζη($C_6H_{12}O_6$). Στην πραγματικότητα φωτοσυνθετικοί οργανισμοί δεσμεύουν φώς και το μετατρέπουν σε χημική ενέργεια με τη βοήθεια του μορίου της γλυκόζης. Οι πρώτες ύλες που χρησιμοποιούνται από τα φυτά για να φτιάξουν γλυκόζη είναι CO_2 και H_2O.

Η χημική εξίσωση της φωτοσύνθεσης είναι : $6\ CO_2 + 6\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2$

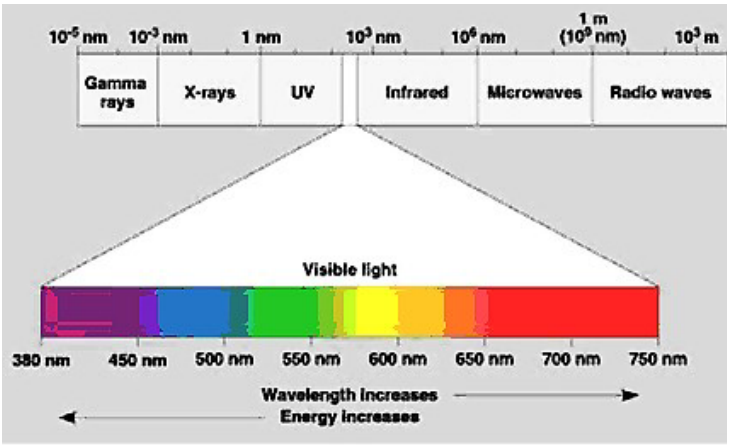
Το φώς είναι μια μορφή ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Το ορατό φώς είναι συνδυασμός πολλών μηκών κύματος με εύρος από 380 - 750 nm που βλέπουμε σαν διαφορετικά χρώματα. Κάθε μήκος κύματος αντιστοιχίζεται με ένα συγκεκριμένο φωτόνιο, δηλαδή ενεργειακό σωματίδιο . Η ενέργεια ενός φωτονίου υπολογίζεται από τον τύπο $E = h.c/\lambda$ όπου:

h είναι η σταθερά τ ου Plank = $6.626 \cdot 10^{-34}$ joules·sec, **c** είναι η ταχύτητα του φωτός $=3\cdot 10^{8}$ m/s,

και λ είναι το μήκος κύματος.

Γενικά, μικρότερα μήκη κύματος έχουν περισσότερη ενέργεια από τα μεγαλύτερα μήκη κύματος. Βλέπε σχήμα**Error! Reference source not found.**

σχήμα 1: ηλεκτρομαγνητικό φάσμα και φάσμα ορατού φωτός

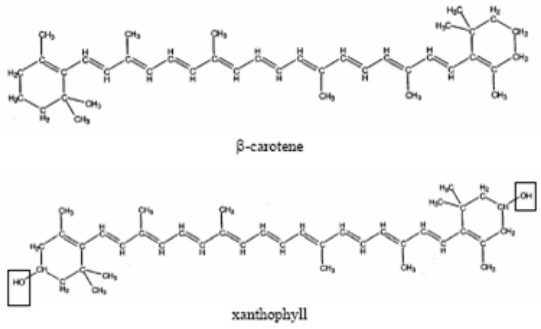
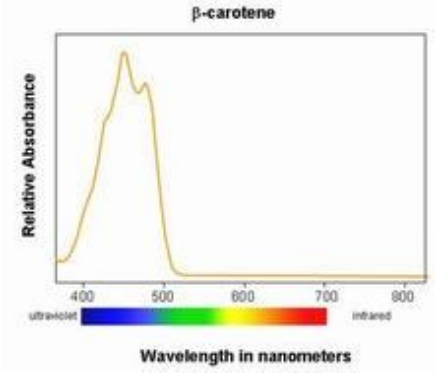
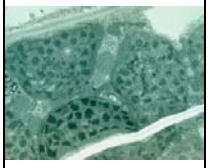
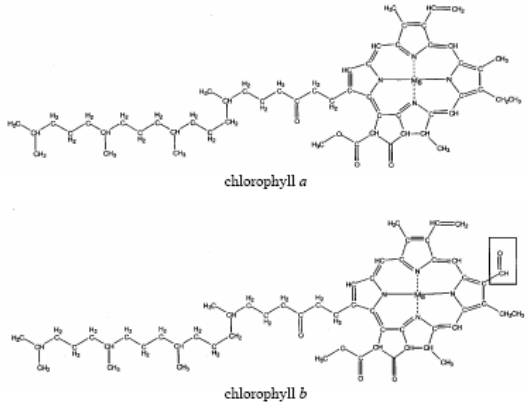
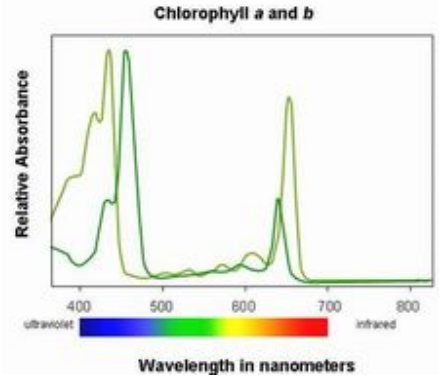
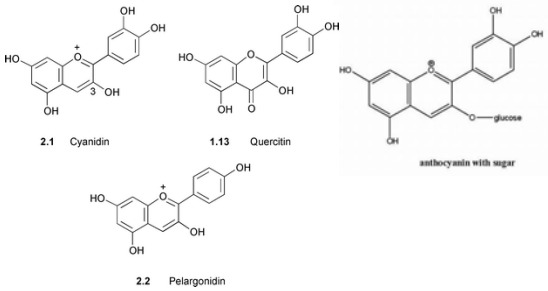
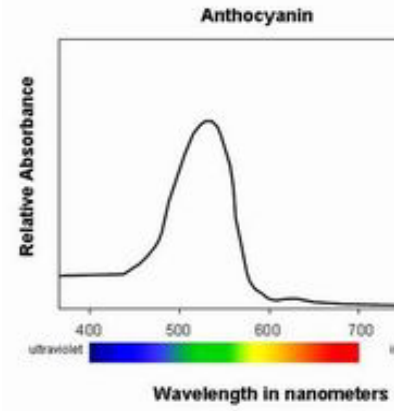


Ο μηχανισμός που χρησιμοποιούν τα ζωντανά φυτά για να δεσμεύουν το φώς, και να το μετατρέπουν σε χημική ενέργεια είναι κάποια χρωστικά μόρια που βρίσκονται σε μεμβράνες των χλωροπλαστών γνωστές σαν θυλακοειδή. Με απλά λόγια, αυτές οι χρωστικές απορροφούν φωτόνια. Η ενέργεια αυτών των φωτονίων διεγείρει κάποια από τα ηλεκτρόνια των χρωστικών από τις σταθερές, χαμηλής ενέργειας στοιβάδες τους σε υψηλότερης ενέργειας, ασταθείς στοιβάδες. Αυτά τα ηλεκτρόνια δεσμεύονται από άλλα γειτονικά μόρια στα θυλακοειδή, και μεταπίπτουν σταδιακά σε χαμηλότερης ενέργειας επίπεδα μετατρέποντας έτσι την αρχική φωτεινή ενέργεια σε ενέργεια ηλεκτρονίων. Αυτή χρησιμοποιείται στή πορεία στο σχηματισμό ομοιοπολικών δεσμών, χημικής ενέργειας, στη χρήση πρώτων υλών από τον αέρα (CO_2) και το έδαφος (H_20) για τη σύνθεση ενώσεων, με τελικό προϊόν τη γλυκόζη.

Από τις χρωστικές που έχουν βρεθεί στα φυτά, δεν χρησιμοποιούνται όλες στη δέσμευση της φωτεινής ενέργειας και την πραγματοποίηση της φωτοσύνθεσης. Οι χρωστικές των φύλλων έχουν την ιδιότητα να απορροφούν και να επανεκπέμπουν συγκεκριμένα μήκη κύματος , ενώ ανακλούν άλλα. Το «χρώμα» που βλέπουμε είναι συνδυασμός μηκών κύματος του φωτός που ανακλώνται από τα χρωστικά μόρια. Η περιοχή των μηκών κύματος που απορροφούνται από μια χρωστική (όπως η χλωροφύλλη) είναι γνωστή σαν **φάσμα απορρόφησης** (absorption spectrum) της συγκεκριμένης χρωστικής. Παρατηρείστε τον παρακάτω πίνακα και μελετήστε μερικές φυσικές χρωστικές. Το κόκκινο λάχανο (Lollo rosso, *Lactuca Sativa*) έχει πολύ σκούρα πράσινα/κόκκινα φύλλα, ενδεικτικά υψηλών συγκεντρώσεων φωτοσυνθετικών χρωστικών. Τι είδους χρωστικές υπάρχουν στο κόκκινο λάχανο; Ποιές είναι οι ιδιότητές τους; Συμμετέχουν όλες στη φωτοσύνθεση ή έχουν διαφορετικούς ρόλους; Υπάρχουν όλες αυτές οι χρωστικές στις μεμβράνες των χλωροπλαστών; Νομίζετε ότι όλα τα φυτά έχουν τις ίδιες συγκεντρώσεις σε χρωστικές και στις ίδιες αναλογίες; Σκεφτείτε όλες αυτές τις ερωτήσεις ώστε να εξάγετε (εκχυλίσετε) τα μυστικά του κόκκινου λάχανου.

Στο πρώτο στάδιο των πειραμάτων, θα πρέπει να εκχυλίσετε τις χρωστικές από τα φύλλα του λάχανου. στο επόμενο στάδιο αυτού του πειράματος θα προσπαθήσετε να ταυτοποιήσετε όλες τις χρωστικές στο κόκκινο λάχανο και μετά να τις διαχωρίσετε με βάση

τη διαλυτότητά τους σε μη πολικούς διαλύτες. Τέλος, θα διερευνήσετε τις ιδιότητες των χρωστικών και θα εξάγετε συμπεράσματα για τη χρησιμότητά τους στα ζωντανά κύτταρα.

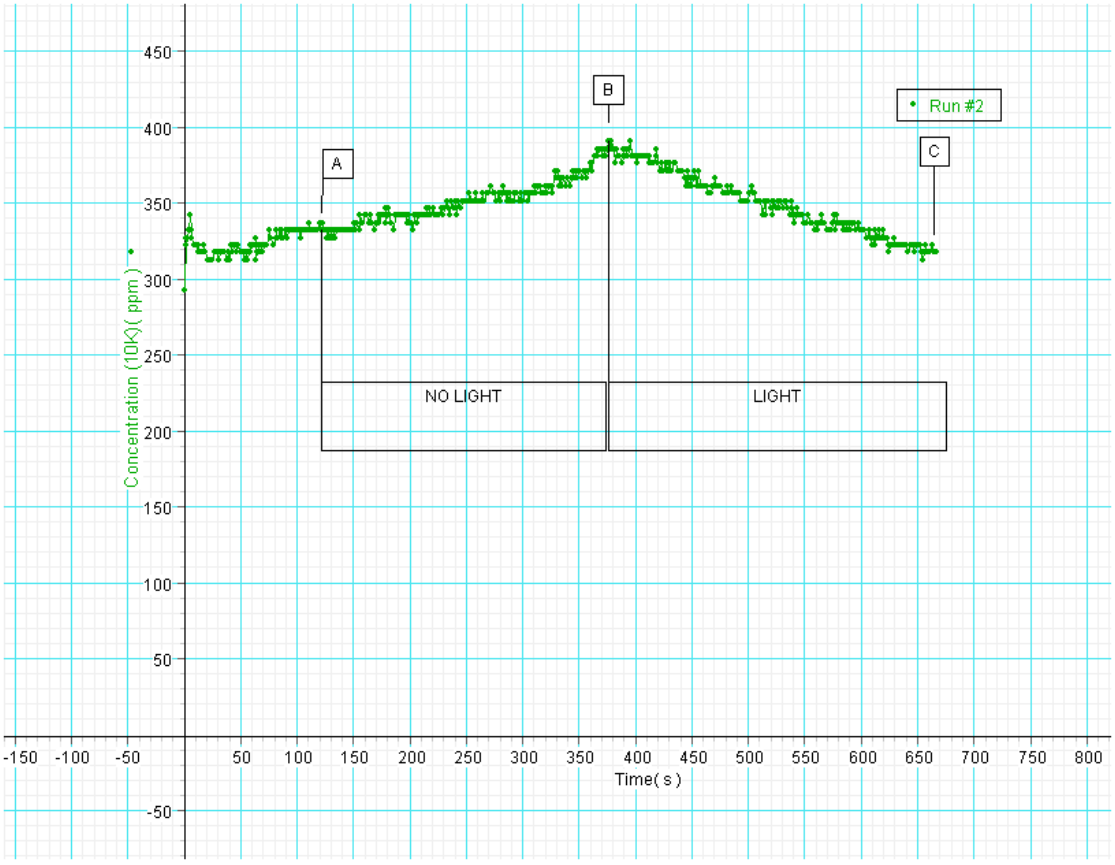
Κατηγορίες χρωστικών	**Χημική δομή γνωστών σκευασμάτων**	**Φάσμα απορρόφησης**
Carotenoids		
Chlorophylls 		
Anthocyanins		

Πίνακας 1: Φυσικές χρωστικές

6. Π ΕΙΡΑΜΑΤΑ

1. ΠΕΙΡΑΜΑ 1: Μεταβολή του ρυθμού της φωτοσύνθεσης όταν μεταβάλλεται η ένταση του φωτός

Το πείραμα 1 έχει ήδη γίνει για να σας διευκολύνει. Δοκιμάσαμε την ικανότητα του κόκκινου λάχανου να φωτοσυνθέτει. Δύο φύλλα τοποθετήθηκαν σε αεροστεγώς σφραγισμένο μπουκάλι μαζί με έναν αισθητήρα διοξειδίου του άνθρακα (CO_2). Η συγκέντρωση του CO_2 σε μέρη ανά εκατομμύριο (ppm, parts per million) στον αέρα που περιέχεται στο μπουκάλι, καταγράφηκε αντίστοιχα απουσία (από το σημείο Α έως το Β) και παρουσία (από το σημείο Β έως το C) τεχνητού φωτός σε συνάρτηση με το χρόνο. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στο διάγραμμα που ακολουθεί:



Ο άξονας των τιμών Y δείχνει τη συγκέντρωση του CO_2 σε ppm (parts per million)

Ο άξονας των τιμών X δείχνει το χρόνο σε δευτερόλεπτα.

A

πάντησε τις ερωτήσεις set 1 στο φύλλο απαντήσεων

2. Πείραμα 2: εκχύλισμα και προσδιορισμός των χρωστικών ουσιών από τα φύλλα κόκκινου μαρουλιού χρησιμοποιώντας την μέθοδο χρωματογραφίας λεπτής στοιβάδας.

περίπου 30 λεπτά

Εισαγωγή και θεωρία

Οι φυσικές χρωστικές είναι συνήθως οργανικά μόρια που έχουν διαφορετική μοριακή δομή, φυσικές και χημικές ιδιότητες. Παρατηρώντας τη δομή των μορίων μπορεί κανείς να διαπιστώσει αν είναι πολικές ή όχι. Για παράδειγμα τα λιπαρά οξέα είναι μη-πολικά μόρια και υδρόφοβες ουσίες (δεν αναμειγνύονται ή διαλύονται στο νερό) και διαλύονται σε μη-πολικούς διαλύτες. Σε αντίθεση τα νουκλεϊκά οξέα είναι γενικά πολικές ουσίες, υδρόφιλες και αναμειγνύονται ευκολότερα με το νερό. Με βάση τα παραπάνω είναι δυνατόν οργανικές ενώσεις να διαχωριστούν και να ταχτοποιηθούν (προσδιοριστούν) με βάση την πολικότητα σύμφωνα με το πόσο εύκολα αναμειγνύονται με τους διαφορετικούς μη-πολικούς διαλύτες και πόσο εύκολα προσκολλώνται πάνω σε πολική επιφάνεια. Η διαδικασία αυτή είναι γνωστή σαν **Χρωματογραφία Λεπτής Στοιβάδας (TLC)**. Ακόμα μια ελληνική λέξη! Σε λέξη προς λέξη μετάφραση σημαίνει χρωματιστή ταινία. Η TLC διαχωρίζει ένα μίγμα από ουσίες με βάση τη διαφορετική δυνατότητα προσκόλλησης σε μια πολική επιφάνεια (λεπτό στρώμα σιλικόνης σταθεροποιημένο πάνω σε ταινία) και τη διαφορετική διαλυτότητα τους σε μη-πολική φάση (υγρός οργανικός διαλύτης). Στη δική σας περίπτωση θα ξεχωρίσετε τη δυνατότητα πόλωσης και μη-πόλωσης των φωτοσυνθετικών χρωστικών ουσιών (που βρίσκονται μέσα στους χλωροπλάστες) στο κόκκινο λάχανο με τη μέθοδο TLC.

Υλικό για απομόνωση χρωστικών ουσιών

1 δοκιμαστικό σωλήνα 15 cm
1 ογκομετρικό κύλινδρο των 10 mL
Απορροφητικό χαρτί
1 μικρό δοχείο που περιέχει 10 mL απόλυτης Αιθανόλης, με την ετικέτα ethanol 99.8%
1 βάση δοκιμαστικών σωλήνων
1 μαρκαδόρο οινοπνεύματος
2 γυάλινα δοχεία των 5 mL με πώμα
1 γουδί με γουδοχέρι
2 κυκλικά διηθητικά χαρτάκια διαμέτρου 50 mm
1 γυάλινο χωνί
1 υδροβολέα με απιονισμένο νερό

Υλικά για TLC χρωματογραφία

1 ταινία TLC (μήκους 12 cm και πλάτους 2.5 cm) (αυτή η ταινία έχει λεπτό στρώμα σταθεροποιημένης σιλικόνης ως πολική φάση). Τυλιγμένο σε αλουμινόχαρτο.
1 μολύβι
1 λαβίδα (τσιμπίδα)
1 διαφανής ρίγα
Μικροπιπέτες p10
Πλαστικές πιπέτες Pasteur του 1 mL και 3 mL
Κωνική φιάλη των 250 mL (που θα χρησιμοποιηθεί) ως θάλαμος εμφάνισης με 15 mL κινητή φάση (πετρελαικός αιθέρας, ακετόνη, χλωροφόρμιο, 3:1:1.)

Πειραματική Διαδικασία

1. Πάρε ένα φύλλο λάχανου και κατέγραψε τη μάζα του στο φύλλο απαντήσεων.
2. Ξέπλυνε το φύλλο με απιονισμένο νερό και στέγνωσε πολύ καλά με απορροφητικό χαρτί χωρίς να το τραυματίσετε.
3. Ομογενοποίηση: Χρησιμοποιώντας το γουδί και το γουδοχέρι λιώστε το φύλλο όσο είναι δυνατόν ενώ προσθέτετε 2ml αιθανόλης χρησιμοποιώντας πλαστική πιπέτα. Προσεκτικά μεταφέρετε το μίγμα μέσα στο διηθητικό χαρτί που βρίσκεται στο χωνί διήθησης ώστε να πάρετε το εκχύλισμα του μέσα στον ογκομετρικό σωλήνα των 10 mL . Δείξτε ιδιαίτερη προσοχή καθώς φιλτράρετε να μην περάσει στερεό ή υγρό υλικό έξω από το διηθητικό χαρτί. Επαναλάβετε τη διαδικασία αυτή τρεις φορές μέχρι να ομογενοποιήσετε τα φύλλα τελείως (χρησιμοποιήστε το πολύ 6ml αιθανόλης).
4. Στο τέλος θα πρέπει να έχετε μέσα στον ογκομετρικό σωλήνα λιγότερα από 6ml διηθημένου εκχυλίσματος το οποίο περιέχει τις απομονωμένες χρωστικές. Αυτό είναι το **ΕΚΧΥΛΙΣΜΑ** σας. Σημειώστε τον όγκο του εκχυλίσματος σας στο φύλλο απαντήσεων.

Παρατηρητής!!!!!!!!!! Δείξτε στον παρατηρητή το διήθημα σας

5. Χρησιμοποιώντας μια βαθμολογημένη πιπέτα Pasteur μεταφέρετε 0.25 mL μέσα σε γύαλινο δοχείο, κλείσε το με το πώμα και σημείωσε πάνω σε αυτό **TLC** καθώς και τον **αριθμό της ομάδας** σας.
6. Μεταφέρετε άλλα 0.25 mL μέσα σε άλλο δοχείο και διαλύστε το προσθέτοντας 2 mL αιθανόλης. Κλείστε το δοχείο με το καπάκι και σημειώστε πάνω σε αυτό **total(ολικό)**, καθώς και τον **αριθμό της ομάδας** σας.
7. Μεταφέρετε το υπόλοιπο του εκχυλίσματος από τον ογκομετρικό σωλήνα μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα των 15 cm και κράτησε το ασφαλισμένο πάνω στη βάση.

Παρατηρητή !!!! Δείξε στο παρατηρητή τα δοχεία και το δοκιμαστικό σωλήνα από τα πιο πάνω βήματα 5, 6 και 7.

Κρατήστε τα δοχεία και το δοκιμαστικό σωλήνα από τα βήματα 5,6 και 7. Θα τα χρειαστείτε στα πειράματα που ακολουθούν.

A

πάντησε τις ερωτήσεις set 2 στο φύλλο απαντήσεων

Διαχωρισμός των χρωστικών με την μέθοδο της χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας.

ΠΡΟΣΟΧΗ!!! Την ταινία TLC πρέπει να την χειριστείτε με μεγάλη προσοχή. Η λευκή πλευρά της ταινίας δεν πρέπει να πιάνεται με τα χέρια σας, να χαραχθεί με μολύβι η με πιπέτα, δεν πρέπει να πέσει νερό πάνω της!!!

8. Φορώντας γάντια, πάρε την ταινία TLC από το κάλυμμα της. Κρατώντας την ταινία από τα άκρα, τοποθέτησε την στον πάγκο με την λευκή επιφάνεια από το πάνω μέρος(βλέπε σχήμα 2) πάνω σε ένα καθαρό χαρτιού.

9. Σε απόσταση 2 cm από την άκρη, με ένα μολύβι συρε απαλά μια ευθεία γραμμή κατά μήκος της ταινίας. Αυτό θα είναι το σημειο αναφοράς σου(σημείο μηδέν.) Με βαση αυτό το σημείο, βαθμολόγησε σε cm την ταινία με ένα μολύβι (εικόνα 2) .

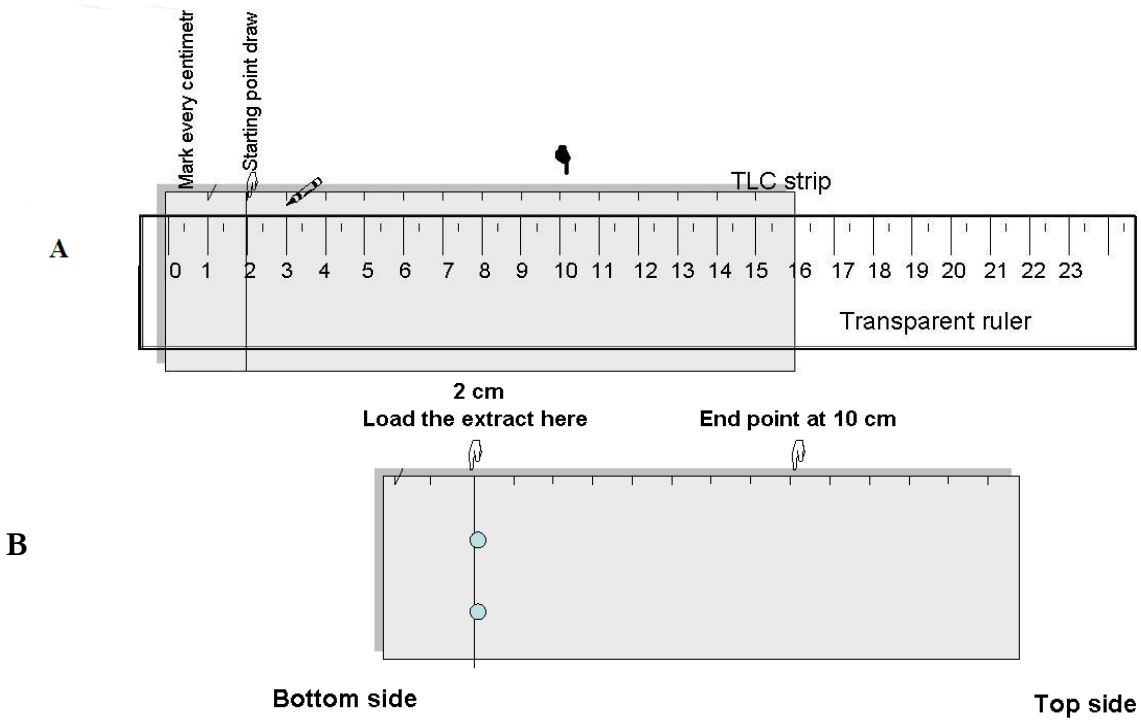


Figure 1: TLC preparation

10. Πάρε την ταινία TLC , το δοχείο με έτικέτα TLC, και τις μικροποπέτες p10 στον απαγωγό.

11. Κοίταξε την εικόνα 2 Β. Μόνο ένα άτομο από την ομάδα σας μπορεί να είναι στον απαγωγό κάθε φορά. Χρειάζεσαι την μικροπιπέτα για να «φορτώσεις» το εκχύλισμα στην TLC. Απλά ακούμπησε την μικροπιπέτα στο εκχύλισμα, και μετά ακούμπησέ την κάθετα στην γραμμή πού σχεδίασες με το μολύβι πάνω στην ταινία. Έτσι θα σχεδιάσεις μια κηλίδα. Τοποθέτησε και μια δεύτερη κηλίδα (διαμέτρου 2-3mm και σε απόσταση 5mm η μία από την άλλη) πάνω στη γραμμή που έχετε τραβήξει με το μολύβι.. Αφήστε τις κηλίδες να στεγνώσουν. Τοποθέτησε ξανά ουσία στις κηλίδες με την ίδια διαδικασία, μέχρι οι κηλίδες να αποκτήσουν ένα πολύ σκούρο χρώμα. Θα χρειαστούν περίπου 20 επαναλήψεις. Προσέξετε να μην τραυματίσετε το ζελέ σιλικόνης(silica gel). Γράψε το αριθμό της ομάδα σας στην κορυφή της ταινίας.

<u>Παρατηρητής!!! ! Δείξε την ταινία TLC στον παρατηρητή.</u>

12. Ο θάλαμος εμφάνισης σου είναι μέσα στον απαγωγό. Μην τον άνοιξεις μέχρι να είσαι έτοιμος να την χρησιμοποιήσεις. Περίστρεψε την φιάλη αργά , έτσι ώστε το διάλυμα της να περιβρέξει τα τοιχώματα. Χρησιμοποιώντας λαβίδα , σήκωσε την έτοιμη ταινία TLC από το πάνω άκρη της. Άνοιξε το καπάκι του θαλάμουι (φιάλης) εμφάνισης και τοποθέτησε προσεκτικά μέσα την ταινία TLC έτσι ώστε ο διαλύτης να βρέχει το κάτω άκρο της ταινίας αλλά όχι τη μολυβένια γραμμή. Κλείσε γρήγορα με το πώμα την φιάλη. **Μην μετακινήσεις την φιάλη**. .

13. Περίμενε μέχρι το διάλυμα να «ανέβει» στην ταινία και να φθάσει περίπου στην ένδειξη 4cm. Αυτά θα πάρει περίπου 5 λεπτά.

14. Ανοίξτε το καπάκι, πάρτε την ταινία και σημειώστε **αμέσως** το ‘ύψος στο οποίο έφτασε ο διαλύτης. Κατόπιν, όσο γρηγορότερα γίνεται σημειώστε με το μολύβι στο κέντρο της κορυφής κάθε στήλης, και σημειώστε στο φύλλο απαντήσεων το χρώμα τους, με τη σειρά που εμφανίζονται από την κορυφή προς τον πυθμένα. καθώς και το χρώμα τους. Όταν η ταινία στεγνώσει δύσκολα διακρίνονται τα χρώματα.

🗐 **A**

πάντησε τις ερωτήσεις set 2 στο φύλλο απαντήσεων

15. Περίμενε τη χρωματογραφία να στεγνώσει. Μετά να την επισυνάψεις στο φύλλο απαντήσεων..

---

3. Πείραμα 3: διαχωρισμός των χρωστικών ουσιών με τη μέθοδο της διαφορετικής διαλυτότητας.

Περίπου 10 λεπτά

εισαγωγή

Όπως γνωρίζετε από το προηγούμενο πείραμα, οι διάφορες χρωστικές έχουν διαφορετικές διαλυτότητες σε διαφορετικά μη- πολικούς διαλύτες. Σε αυτό το πείραμα θα διαχωρίσετε τις πολικές από τις μη-πολικές χρωστικές ουσίες.

υλικά

Το εκχύλισμα στο 15 cm δοκιμαστικό σωλήνα που βρίσκεται στην βάση από το πείραμα 2
2 δοκιμαστικούς σωλήνες 10 cm- και 2 δοκιμαστικούς σωλήνες 15 cm
Γυάλινες Πιπέτες Παστέρ με την κόκκινη φούσκα (μέσα στον απαγωγό)
Πλαστικές πιπέττες των 1 mL and 3 mL (μέσα στον απαγωγό)
Πετρελαϊκός αιθέρας (σε ένα φιαλίδιο με την επιγραφή μέσα στον απαγωγό)

Μέθοδος

1. το ολικό εκχύλισμα βρίσκεται στον δοκιμαστικό σωλήνα 15 cm –πάνω στην βάση. Η βάση πρέπει να έχει και 2 επιπλέον δοκιμαστικούς σωλήνες 10 cm and 15 cm. Μετάφερε την βάση και τους δοκιμαστικούς σωλήνες στον απαγωγό.

Η υπόλοιπη διαδικασία θα γίνει στον απαγωγό:

2. πρόσθεσε πετρελαϊκό αιθέρα στο εκχύλισμα μέχρι να γεμίσει ο δοκιμαστικός σωλήνας (λίγα εκατοστά από τα χείλη).

3. κάλυψε τον δοκιμαστικό σωλήνα με τον αντιχείρα (φορώντας γάντια) και αναποδογύρισε τον σιγά-σιγά 3 – 4 φορές μέχρι οι ουσίες να αναμειχθούν πλήρως. ΜΗΝ ΤΟ ΑΝΑΚΑΙΝΙΣΕΤΕ. Αφήστε το δάκτυλο σας απαλά για να απελευθερωθεί η πίεση που δημιουργήθηκε από τον πτητικό (εύκολα εξατμιζόμενο) αιθέρα (ΠΡΟΣΟΧΗ

απελευθερώστε με προφύλαξη για να αποφύγετε να χύσετε τον αιθέρα πάνω σας ή σε οποιονδήποτε είναι κοντά σας!).

4. Αφήστε το μείγμα να κατασταλάξει μέχρι να δημιουργηθούν τα δυο ευδιάκριτα στρώματα/φάσεις. Μην προχωρήσετε μέχρι να διαχωριστούν οι φάσεις πλήρως. **Παρατηρητής!!!!!! Παρατήρησε τα χρώματα των δυο φάσεων: της επάνω και κάτω φάσης και συμπλήρωσε τα φυλλάδια απαντήσεων του 3ου πειράματος.**

Απάντησε τις ερωτήσεις set 3 στο φύλλο απαντήσεων

5. Τώρα αυτό το στάδιο πρέπει να γίνει πολύ προσεκτικά. Χρειάζεται να διαχωρίσεις τις δυο φάσεις:

Χρησιμοποιώντας τις πιπέττες παστέρ μετέφερε προσεχτικά το επάνω στρώμα (φάση) μέσα στο δοκιμαστικό σωλήνα 15 cm . είναι σημαντικό να απομονώσετε ένα καθαρό τμήμα από το επάνω διάλυμα .**Μην μεταφέρετε οποιονδήποτε μέρος από το ενδιάμεσο στρώμα. Ονομάστε αυτό τον δοκιμαστικό σωλήνα με τη λέξη** Upper (πάνω).

Στο κάτω μέρος, πρόσθεσε περισσότερο πετρελαϊκό αιθέρα και επανέλαβε την διαδικασία 2-4. Αυτή τη φορά ρίξε την επάνω φάση στο δοχείο με την επιγραφή Waste(απόβλητα) και επίσης χρειάζεται να απομακρύνεις το ενδιάμεσο στρώμα το οποίο μπορεί να περιέχει ανεπιθύμητες ουσίες. Δεν πειράζει αν χάσεις και ένα κομμάτι από το κατώτερο στρώμα, αρκεί αυτό που θα παραμείνει να είναι καθαρό. .

Τώρα μετέφερε το κάτω στρώμα μέσα σένα καθαρό δοκιμαστικό σωλήνα 10 cm . τιτλοδότησε τον σαν Lower(κάτω)

Παρατηρητής!!!!! Τα διαλύματα των χρωστικών ουσιών πρέπει να είναι καθαρά και όχι θολωμένα. Χρειάζεσαι και τα δύο επάνω και κάτω φάσεις για το επόμενο στάδιο.

Απάντησε τις ερωτήσεις set 3 στο φύλλο απαντήσεων

EXPERIMENT 4: Καταγραφή του φάσματος απορρόφησης των δύο διαχωρισμένων χρωστικών.

10 min περίπου

Υλικά

Ο δοκιμαστικός σωλήνας με την πάνω φάση(τμήμα) του εκχυλίσματος. Μην απομακρύνετε το σωλήνα από τον απαγωγό.
Δοκιμαστικός σωλήνας με τη κάτω φάση (τμήμα) του εκχυλίσματος. Μην απομακρύνετε το σωλήνα από τον απαγωγό.
Το φιαλίδιο από το 2ο πείραμα που ονομάσατε ολικό
Τρεις πλαστικές κυψελίδες φωτομέτρου 1mL μέσα σε πλαστική βάση ονομασμένες με τον αριθμό της θέσης σας..

Πειραματική Διαδικασία

1. Χρειάζεται να μεταφέρεται 1 mL από κάθε ένα από τα τρία διαλύματα, επάνω, κάτω και ολικό! μέσα στις τρεις διαφορετικές κυψελίδες του φωτόμετρου.

   Προσοχή: **Μην πετάξετε το υπόλοιπο από τα τρία διαλύματα. Το επάνω Ιδιάλυμα της χρωστικής θα χρειαστεί σε επόμενο πείραμα.**

2. Ονόμασε(τιτλοδότησε) κάθε διάλυμα στις κυψελίδες.**1**, **2** και **3** για ολικό!, επάνω και κάτω αντίστοιχα. **Μάρκαρε αυτά με μικρά γράμματα για να τα ξεχωρίζεις στην κορυφή της κυψελίδας.**

3. Ένας από την ομάδα πρέπει να πάει τις τρεις κυψελίδες στον παρατηρητή για να καταγραφεί η τιμή απορρόφησης (σε Au μονάδες) του κάθε διαλύματος σε τιμές κύματος 400-700 nm

Παρατηρητή!!!!! **Ενημερώστε τους όταν είσαστε έτοιμοι για να μετρήσετε τις τιμές απορρόφησης.**

Ο συνεργάτης σας θα επιστρέψει με τα τυπωμένα αποτελέσματα από τα τρία φάσματα των διαλυμάτων

A

πάντησε τις ερωτήσεις set 4 στο φύλλο απαντήσεων

EXPERIMENT 5: Τι παρατηρείτε όταν χρωστικές απορροφούν φως; Φθορισμός, απορρόφηση και εκπομπή ενέργειας.

2 λεπτά περίπου

εισαγωγή

Τα μόρια των χρωστικών που βρίσκονται στο πάνω στρώμα, το οποίο διαχωρίστηκε από τη κυτταρική μεμβράνη του χλωροπλάστη , απορροφά φωτόνια που εκπέμπονται από την λάμπα αλογόνου. Τι συμβαίνει με την ενέργεια αυτών των Φωτονίων;

Υλικά

Λάμπα αλογόνου

Το υπόλοιπο εκχύλισμα του πάνω στρώματος του 3ου πειράματος.

Πειραματική διαδικασία.

Στον απαγωγό υπάρχει μια λάμπα αλογόνου. Τοποθέτησε τη λάμπα μακριά από τα μάτια σου και άναψε την. Πάρε το δοκιμαστικό σωλήνα που περιέχει το επάνω στρώμα και τοποθέτησε αυτό κοντά στη λάμπα .

Θα παρατηρήσεις μια αλλαγή όταν εκθέσεις το δοκιμαστικό σωλήνα με το πράσινο εκχύλισμα στο φως της λάμπας του αλογόνου..

Απάντησε τις ερωτήσεις set 5 στο φύλλο απαντήσεων

Τι όμορφο αποτέλεσμαl huh!!!

Τώρα απάντησε τις ερωτήσεις του φύλλου απαντήσεων.