

## Rostlinná listová barviva

V listech zelených rostlin se vyskytuje větší počet lipofilních barviv. Jejich charakteristickou vlastností je rozpustnost v tucích. Pro fotosyntézu mají rozhodující význam chlorofyl a, chlorofyl b a karotenoidy. K separaci listových barviv se používá plošná chromatografie (papírová - PC a tenkovrstvá - TLC).

**Princip:** Principem chromatografie je mnohonásobně opakované rozdělování látek mezi nepohyblivou (stacionární) fází a pohyblivou (mobilní) fází. Stacionární fází může být chromatografický papír nebo tzv. tenká vrstva, tvořená adsorpčním materiálem naneseným na skleněnou, hliníkovou nebo plastovou desku. Chromatografický papír je filtrační papír zvláště vyrobený z bavlněného odpadu. Tenkou vrstvou je nejčastěji jemně práškovitý oxid hlinitý nebo silikagel, které jsou na podložní desce nanесeny vhodným pojivem. Tloušťka vrstvy je 0,2 až 2 mm. Mobilní fází bývá směs organických rozpouštědel.

Při rozdělování látek mezi mobilní a stacionární fází se nejnižše zachycují ty látky, které mají největší schopnost adsorpce, nejvýše dospějí látky, jejichž schopnost adsorpce na adsorpční vrstvě je nejmenší. Výsledkem je chromatogram. Jednotlivá listová barviva mají charakteristické zbarvení: chlorofyl a – zelená, chlorofyl b – modrozelená, xanthofyly – žlutá, karotenoidy – oranžová, feofytin – šedá.

**Postup:** Přinesené listy a rostliny (jetelové listy, listy kopřiv, špenát, břečťan, sušená mrkev apod.) rozstříhejte na menší kousky, rozetřete ve třecí misce s malým množstvím propraného křemičitého písku, uhličitanem vápenatým (na špetku nože) a acetonem na hustou kaši. Směs zfiltrujeme do odpařovací misky, odpaříme do sucha na vodní lázni a po zchladnutí rozpustíme v několika kapkách acetonu.

Z chromatografické desky Silufol odstříhnete pruh (šířka pruhu se řídí šířkou vyvíjecí nádoby). Ve vzdálenosti asi 20 mm od jedné ušší strany vyznačte měkkou tužkou startovní čáru. Při manipulaci s chromatografickou deskou se nedotýkejte rukou nanesené vrstvy, pozor na poškození adsorpční vrstvy, desku přidržujte pouze za její okraj. Zahuštěný extrakt naneste kapátkem na startovní čáru a skvrnu nechte vyschnout. Pokud je nanesená skvrna po zaschnutí málo výrazná, do středu skvrny naneste novou dávku extraktu listových barviv.

Do vyvíjecí nádoby nalijte mobilní fází – směs rozpouštědel: benzín + 2-propanol + voda (100 : 10 : 0,25) tak, aby hladina sahala do výšky 8 – 10 mm. Připravenou chromatografickou desku vložte opatrně do vyvíjecí nádoby s mobilní fází a nádobu zakryjte sklem. Jakmile se čelo vyvíjecí soustavy - mobilní fáze – přiblíží k hornímu okraji desky vyjměte proužek z vyvíjecí nádoby a nechte na vzduchu uschnout. Po uschnutí obtáhněte měkkou tužkou obrysy skvrn a zaznamenejte jejich barvu.

Z rozdrcených listů můžeme barviva extrahovat také ethanolem (mobilní fáze) a rozdělit na filtračním papíře (stacionární fáze). Postup je podobný jako při použití Silufolu.

K rozdělení směsi barviv můžeme použít také i kousek školní křídly (chemicky to bývá napěněná sádra). Na kousek nové školní křídly naneste kapku listových barviv (podobně jako na Silufol). Místo listových barviv lze použít k dělení barev také fixy. Křídlo vložte do kádinky s vyvíjecí směsí (mobilní fází). Kádinku přikryjte hodinovým sklem.