

جامعة تكريت  
كلية التربية للبنات



فسلجة نبات

استخلاص وفصل الصبغات النباتية بواسطة الكروماتوغرافي الورقي

م.م. شيماء علي حسن

## المحاضرة التاسعة

### استخلاص وفصل الصبغات النباتية بواسطة الكروماتوغرافي الورقي

طريقة العمل :

- 1- اسحق 1 غرام (gm1) من الاجزاء الخضرية لاوراق النبات (السلق او السبانغ ) وضع النموذج في هاون خزفي.
- 2- اضع كمية قليلة جدا من كاربونات الكالسيوم  $\text{CaCO}_3$  (لمعادلة الحامضية في الخلايا ولمنع ازالة المغنيسيوم من نواة الكلوروفيل ).
- 3- اسحق جيدا مع اضافة  $\text{cm}_3$  5-6 من الاسيتون 85% .
- 4- باستعمال قطارة دقيقة انقل السائل الى قمع الفصل الذي يحوي على  $\text{cm}_3$  10 اثير ايثيلي.
- 5- اسحق نسيج الورقة مع كمية اخرى من الاسيتون 85% وانقل السائل الى القمع اضع بعد ذلك حجمين متساويين من الاسيتون النقي واثير الايثيلي الى النسيج واسحقه مرة ثالثة.
- 6- انقل السائل الى القمع .
- 7- بعد ذلك استعمل الايثر الايثيلي لوحده واسحق النسيج في الهاون الخزفي ثم انقل السائل مرة اخرى الى القمع واضف  $\text{cm}_3$  100 ماء مقطر الى القمع بهدوء (لمنع تكون مستحلب ) ثم حرك القمع دائريا بدون رج لنقل الاسيتون والمواد المذابة فيه الى طبقة الماء وبعد تكون طبقتين تزال طبقة الاسيتون.
- كرر العملية اي عملية الغسل بالماء ثلاثة مرات لازالة الاسيتون .
- 8-انقل الايثر والصبغات الى قنينة حجمية او اسطوانية القياس واكمل الحجم الى  $\text{cm}_3$  10 اذا كان الحجم اكثر فاترك قسم من الايثر يتبخر .
- 9-انقل السائل الى قنينة ذات غطاء واضف له 2 gm (2غم ) من كبريتات الصوديوم اللامائية لامتصاص الماء المتبقي مع الايثر وبعد استقرار المحلول يلاحظ ترسب الملح الى الاسفل .
- 10-حضر ورقة ترشيح واقطعها بشكل مربع او مستطيل وارسم خط بقلم رصاص على بعد 10 cm من احد الحافات .
- 11-ضع مسطرة تحت الحافة لكي لا تلامس الورقة سطح المنضدة .
- 12- باستعمال انبوب زجاجي شعري انقل السائل و ارسم خط على الخط المرسوم في الورقة حتى تجف او جففها بواسطة تيار هواء ساخن قليلا ثم ارسم خط اخر ويجف ايضا كرر العملية حتى يتكون خط اخضر غامق مع ملاحظة جفاف الخط في كل مرة قبل رسم الخط الاخر .
- 13-ضع في قنينة ذات غطاء محكم كمية من رابع كلوريد الكربون  $\text{CCl}_4$  الى ارتفاع نصف الى واحد سم (1-2/1) سم وكمية من كبريتات الصوديوم اللامائية ثم اثني الورقة لتكون بشكل اسطوانة ثبتها

بالدبابيس وادخلها بالقنينة واغلقها باحكام . عند وصول المذيب قبل نهاية الورقة العلوية اخرجها ولاحظ الصبغات التي تكون فيها من الاعلى الى الاسفل :

- 1- الكاروتين : اصفر برتقالي.
- 2- الزانثوفيل : اصفر.
- 3- الكلورفيل a : اخضر مزرق .
- 4- الكلورفيل b : اخضر مصفر .

ملاحظة :يمكن استخلاص الصبغات باستعمال اسيتون 85% واستعمال الايثر الايثيلي كمذيب بدلا من رابع كلوريد الكربون وكبريتات الصوديوم اللامائية .