

## Töötuba EKL ja EBÜ talvekonverentsil 8.jaan 2015 Tamme gümnaasiumis

### LEHEPIGMENTIDE ERALDAMINE

Rohelised taimelehed sisaldavad klorofüllid – rohelist pigmenti ning ksantofüllid ja karoteeni – kollaseid pigmente. Pigmentide eraldamine Krause meetodil (Aino Saar, 1989, Taimefüsioloogia praktikum, EMÜ Tartu) põhineb nende erineval lahustuvusel etanoolis ja bensiinis. Klorofüllid eraldamiseks kasutatakse estri leeliselise hüdrolüüsi ehk seebistamist. Katsete käigus saadakse 2 erinevate kihtidega tulemust – esimeses katses on roheline kiht pealpool, teise katse tulemusel aga allpool. Katseks võib kasutada igasuguseid taimelehti.

**Ohutusnõuded:** ära lase lahustitel silma pritsida; ettevaatust pigmentide lahustega, need määrivad riideid; NaOH on söövitav; soovitatav on kasutada kitleid, kummikindaid ja kaitseprille ning katsed teha kandikul.

#### Eelnev tööülesanne õpilastele:

Otsida molekulide struktuurivalemid ja informatsiooni kolme lehepigmenti tähtsuse kohta taimedes ja inimese tervisele.

#### Praktilise töö juhend:

- 1) Kõik nimetatud pigmendid lahustuvad etanoolis. Rebi lehtedest tükikesed ja pane uhmrisse. Lisa pipetiga 2 ml etanooli ja hõõru taimemass hoolega läbi, nii et eralduvad valged tugikoe osad.
- 2) Lisa veel 5 ml etanooli, sega taimemass läbi ja nõruta klaaspulka kasutades saadud lahus keeduklaasi. Kui lahus on püree moodi taimset massi täis, võiks selle enne järgmist etappi sõeluda või filtreerida.
- 3) Võta pipetiga pool lahusest katseklaasi. Lisa 5 ml bensiini, pane kork peale ja loksuta 1 minut, et pesta hüdrofoobsemad pigmendid välja. Ava katseklaas, lisa 1-2 ml vett, sulge korgiga ja loksuta veel 2-5 min. Lase lahustel kihistuda. Kui kihid hästi ei eraldu, lisa natuke vett. Kui lahusesse jääb palju tahkeid taimeosi sisse, muudab see tihedust ja lahus kihistub halvemini.

#### Selgitus:

Bensiin kui väiksema tihedusega lahusti kihistub peale ja selles on lahustunud hüdrofoobsemad klorofüllid ja karoteen; hüdrofiilsem ksantofüll jääb alumisse vee ja etanooli kihti. Ülemine kiht on klorofüllid tõttu roheline, alumine kiht on ksantofüllid tõttu kollane.

- 4) Eralda pipeti abil pealmine roheline kiht ja jätka reaktsioone uues katseklaasis klorofüllid ja karoteeni eraldamiseks.
- 5) Lisa rohelsele pigmentide bensiinilahusele 5 ml etanooli, loksuta korgi all hoolega segi.
- 6) Lisa teelusika otsaga mõned graanulid NaOH ja loksuta korgi all 1 minut. Lisa 1-2 ml vett ja loksuta veel korgi all hoolega mõned minutid. Kui jätad lahuse seisma ja see hakkab kihistuma kollane üleval ja roheline allpool, on klorofüllid seebistumine valmis.

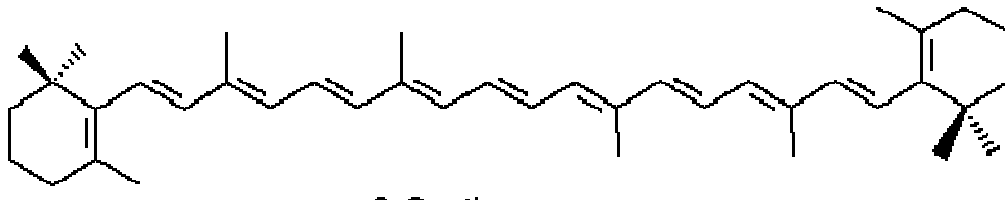
#### Selgitus:

NaOH toimel klorofüllid seebistub ja selle lahustuvus etanooli vesilahuses suureneb; seebistunud klorofüllid bensiinis ei lahustu ja vajub alumisse kihti, kollane pigment karoteen jääb ülemisse

bensiniikihti. Katse õnnestumiseks on vaja lisada ka vett, et seep eristuks hüdrofoobsest bensini kihist.

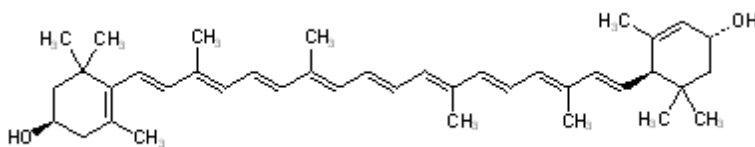
### Arutluseks:

Pigmentide lahustuvus sõltub molekulide struktuuridest. Lahustuvust etanoolis soodustavad polaarsed OH rühmad, samuti CO rühmad ja N molekulis. Lahustuvust bensiniis (alkaanide segu) soodustavad vähepolaarsed süsivesinikahelad. Molekuli „seebistumine“ leelise mõjul toimub estersidemete R-COO-R juures ja tekkinud naatriumsool muutub hüdrofiilsemaks ning paremini alkoholis lahustuvaks.



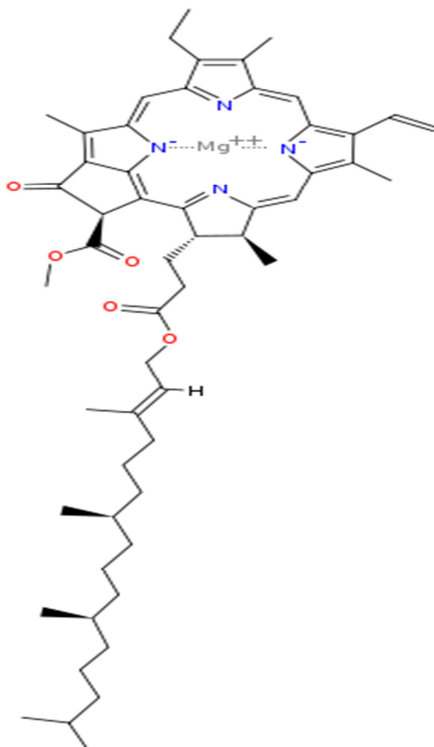
Joonis 1. Karoteen

Karoteen on polüküllastumata alkeen ning ei sisalda muid funktsionaalseid rühmi.



Joonis 2. Ksantofüll

Ksantofüll kuulub alkeenide ja alkoholide aineklassi, molekulis on kaks hüdrofiilset hüdroksüülrühma.



Klorofüll on küllastumata ühend, ester, amiin ja ketoon, mille teke on taimedel häiritud magneesiumipuudusel.

Joonis 3. Klorofüll