

آنالیز نهایی رنگیزه‌های گیاهی

روشی که در زیر می‌آید توسط گروهی از دانشمندان جهت استخراج و تخلیص رنگیزه‌های گیاهی براساس تفاوت حلالیت رنگیزه‌ها در حلال‌های مختلف طراحی شده است. در این روش هدف آن است که با استفاده از دکانتور یا قیف جداکننده به جداسازی رنگیزه‌ها از هم در حلال‌های مختلف نائل شویم.

بعد از انجام متد زیر طبق پروتکل تهیه شده، با استفاده از روش‌هایی نظیر کروماتوگرافی TLC یا استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین کنید هر کدام از محلول‌های نهایی دارای چه رنگیزه یا رنگیزه‌هایی هستند.

روش کار

- ۱- ۲۰ گرم پودر برگ خشک شده یا مقدار بیشتری برگ تازه را با ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ مخلوط کنید.
- ۲- وقتی استون به رنگ سبز تیره در آمد، آنرا بر روی پنبه یا با کاغذ صافی صاف کنید و محلول را برای استفاده در مراحل بعدی نگاه دارید.

الف- نخستین جداسازی

- ۱- در یک دکانتور ۲۵ میلی‌لیتر اتر نفت بریزید و به آن محلول رنگیزه دارای استون را بیفزایید.
- ۲- آمپول دکانتور را با حرکات چرخشی تکان دهید.
- ۳- ۳۵ میلی‌لیتر آب را از روی دیواره‌ی آمپول به آن اضافه کنید.
- ۴- دکانتور را با حرکات چرخشی تکان دهید.
- ۵- لایه‌ی زیرین باید کم رنگ تر باشد، بگذارید دو لایه از هم جدا شوند. لایه‌ی زیرین را که حاوی استون و آب است را دور بریزید.
- ۶- محلول اتر نفت را با ۲۵ میلی‌لیتر آب بشوید و دوباره فاز آبی را دور بریزید. بار دیگر این کار را تکرار کنید.
- ۷- به محلول شسته‌شده‌ی اتر نفت ۲۵ میلی‌لیتر متانول ۹۲٪ اضافه کنید. دکانتور را با چند حرکت چرخشی تکان دهید. (بخارات متانول سمی است)
- ۸- بگذارید جداسازی صورت بگیرد.
- ۹- محلول زیرین که حاوی متانول است را در یک بشر (محلول ۱) و محلول بالایی را در بشر دیگری جمع کنید. (محلول ۲)

ب- دومین جداسازی

- ۱- ۲۵ میلی‌لیتر محلول ۱ را در دکانتور بریزید.
- ۲- ۲۵ میلی‌لیتر اتر به آن اضافه کنید.
- ۳- با حرکات چرخشی آنرا مخلوط کنید.
- ۴- جداسازی صورت نمی‌گیرد، ۵ میلی‌لیتر آب از طول دیواره دکانتور به محلول اضافه کنید. پس از هر بار افزودن آب تکان دهید. برای ظاهر شدن دو لایه تقریباً ۱۵ میلی‌لیتر آب نیاز هست.
- ۵- محلول زیرین که حاوی الکل است را دور بریزید.
- ۶- اکنون رنگیزه‌ها به اتر منتقل شده اند.

ج- آخرین جداسازی

این مرحله را برای محلول ۱-تری و محلول ۲-تر نفتی انجام بدهید.

- ۱- در یک استوانه مدرج ۱۰۰ میلی لیتری، ۱۵ میلی لیتر محلول حاوی رنگیزه را بریزید.
- ۲- به کمک یک استوانه مدرج دیگر، ۵ میلی لیتر محلول پتاس الکلای تازه تهیه شده را از کناره‌ی ظرف در محلول حاوی رنگیزه بریزید.
- ۳- آنرا تکان دهید و بعد از ۱۰ دقیقه به آن توجه کنید و تغییر رنگ را یادداشت کنید.
- ۴- سپس ۱۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه کنید و تکان دهید. دولایه جدا می‌شوند.

از محلول ۱ به محلول ۳ و ۴ می‌رسیم و از محلول ۲ به محلول ۵ و ۶ می‌رسیم.

با استفاده از روش‌هایی نظیر کروماتوگرافی TLC یا استفاده از اسپکتروفتومتر تعیین کنید هر کدام از محلول‌های ۱ تا ۶ دارای چه رنگیزه یا رنگیزه‌هایی هستند؟

گزارش کاری از آزمایشات خود تهیه کنید.