

Vj.br.10.Određivanje pigmenata hloroplasta

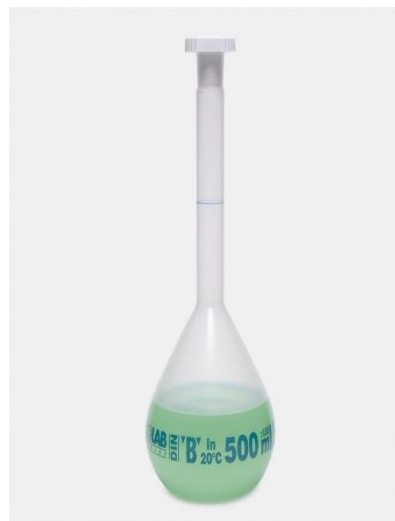
EKSTRAKCIJA



0,5 g biljnog materijala izmacerirati sa 10ml acetona uz
dodatak SiO_2 i CaCO_3



filtriranje



Dobijeni filtrat
prenjeti u
normalni sud od
25ml



Zatim filtrat razblažite u
epruveti 10 puta (1ml
filtrate + 9 ml acetona)

Spektrofotometrijsko odredjivanje koncentracije pigmentata



Spektrofotometar



Izračunavanje

- ▶ Wettstein (1957):
- ▶ Aceton (100%, v/v)
- ▶ $H_{la} = 9.784 A_{662} - 0.990 A_{644} = 0.623$
- ▶ $H_{lb} = 21.426 A_{644} - 4.650 A_{662} = 0.424$
- ▶ Karot. = $4.695 A_{440} - 0.268 (C_a + C_b)$
- ▶ $H_{la+b} = 5.134 A_{662} + 20.436 A_{644} = 0.252$

- ▶ Dobijenu koncentraciju pigmentata **u mg/L** treba preračunati na jedinicu svježe ili suve mase lista. Preračunavanje se vrši po formuli:

izračunavanje

▶
$$C = \frac{C_x * V * R}{G * 1000} \quad (\text{mg g}^{-1} \text{ mase lista})$$

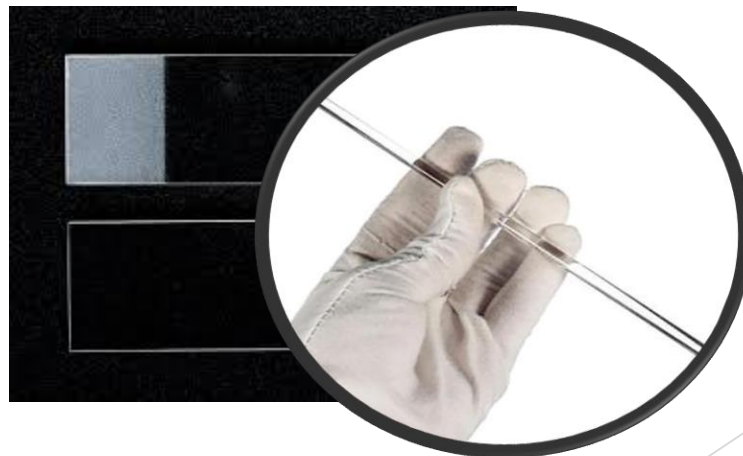
- ▶ **C** - koncentracija pigmenata u listu
- ▶ **C_x** (Hla, Hlb, kar)-koncentracija pigmenata u ekstratu (mg/L)
- ▶ **V**- zapremina ekstrata (25ml)
- ▶ **R**-faktor razblaženja (ukoliko je ekstrat razblažen prije očitavanja apsorcije)
- ▶ **G**-masa uzorka u gramima
- ▶ **1000**-faktor za prevodjenje g u mg

Br.uzora ka	Hlorofil a	Hlorofil b	Hlorofil a+b	Hlorofil a/b	Karoten oidi	Hlorofil a + b
						Karotenoidi

Koncentracija pigmenata i njihov odnos u mg/g

Vj.br.9. Dokazivanje K, P, Mg, Ca i Fe u pepelu

- ▶ Uzeti 2-3g pepela duvana i rastvoriti ga u 1-5% HCl (pepela trba uzeti toliko da njegova zapremina u menzuri bude 4 puta manja od zapremine rastvora tj . u odnosu 1:4)
- ▶ Ovako dobijeni rastvor lagano promućkati i profiltrirati preko filter papira.
- ▶ Dobijeni filtrat služi za dokazivanje K, P, Mg, Ca i Fe - na čisto i suvo predmetno staklo nanesimo staklenim štapićem kap ispitivanog rastvora (filtrata pepela) i kap odgovarajućeg reagensa. Zatim se te dvije kapi pažljivo spoje staklenim štapićem , a smiješane kapljice poklope pokrovnim stakalcetom. Poslije nekoliko minuta (oko 2-3) posmatrati kristale pod mikroskopom. (nacrtati ih).



▶ Dokazivanje K



▶ Kao reagens koristi se **15%perhlorna kiselina(HClO₄)**

▶ Kao rezultat djelovanja reagensa sa kalijum-hloridom iz pepela pojavice se bezbojni kristali kalijum-perhlorata(KClO₄), najčeš-e u obliku oktaedra



▶ Dokazivanje Ca

- ▶
- ▶ Kao reagens koristi **1% sumporna kiselina (H_2SO_4)**
- ▶ Kao rezultat reakcije soli Ca ($CaCl_2$) i sumporne kiseline najčešće se pojavljuju karakteristični igličasti kristali gipsa ($CaSO_4$), sniježno bijele boje.



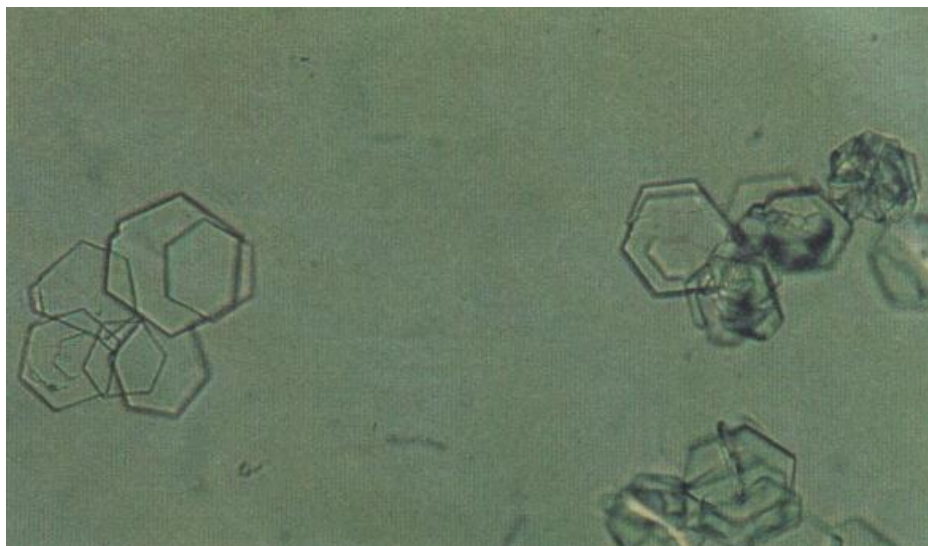
▶ Dokazivanje Mg

- ▶ Reagens je **amonijum -hidroksid (NH_4OH) i natrijum fosfat (Na_2HPO_4)**
- ▶ Ako je u pepelu prisutan Mg pojavit će se kristali amonijum-magnezijum fosfata (NH_4MgPO_4)- uobliku pahuljice



► Dokazivanje P

- Reagens je **1% amonijum-molibdat rastvoren u 1% azotnoj kiselini**
- Postupak je isti kao u prethodnim slučajevima , samo što se pažljivim zagrijevanjem predmetnog stakla može ubrzati kristalizacija. Kristali su obično oblika kocke ili oktaedra. (amonijum-fosfo-molibdat)



Dokazivanje Fe

U 5 kapi filtrata dodati 3 kapi kalijum-rodanida (**KSCN**)
Formirana crvena boja je indikator prisustva Fe u pepelu.

