

ЗАНЯТИЕ 2 ПИГМЕНТНЫЕ СИСТЕМЫ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

Лабораторная работа 2.1 Получение спиртового раствора пигментов фотосинтеза

Пигментная система хлоропласта высших растений представлена двумя типами пигментов: хлорофиллами и каротиноидами. Основным функциональным пигментом хлорофилл *a* обнаружен у всех фотосинтезирующих организмов за исключением бактерий. У большинства наземных высших растений содержание хлорофилла *a* в 2,5 – 3,5 раза выше, чем содержание хлорофилла *b*. По химической природе хлорофиллы – сложные эфиры дикарбоновой кислоты хлорофиллина и двух спиртов – метанола и фитола. Каротиноиды – это полиеновые углеводороды красного, желтого и оранжевого цветов. Каротиноиды содержат 40 атомов углерода и представляют собой цепи, обладающие сопряженными двойными связями. Каротиноиды присутствуют в хлоропластах всех растений.

Цель работы: ознакомиться с методами экстракции пигментов фотосинтеза.

Материалы и оборудование: весы технические, ножницы, ступка с пестиком, воронка, насос Камовского, колба Бунзена, воронка Бюхнера, колба на 50 мл с пробкой, этанол, CaCO₃, песок.

Растения: зеленые листья любых растений.

Ход работы:

Навеску листьев в 5-10 г измельчают ножницами, переносят в фарфоровую ступку, прибавляют на кончике шпателя CaCO₃ (для нейтрализации кислот клеточного сока), небольшое количество кварцевого песка (для лучшего растирания) и 1-2 мл спирта. Все это тщательно и быстро растирают в ступке, постепенно добавляя (после получения гомогенной массы) спирт несколькими порциями (в целом 10-15 мл).

Гомогенат вместе с осадком аккуратно по пестику переносят на стеклянный фильтр воронки Бюхнера, установленный в колбе Бунзена. Фильтруют с помощью насоса. После окончания фильтрования пестик и стенки ступки обмывают спиртом (3-5 мл) и профильтровывают (повторить 2-3 раза). Прозрачную вытяжку пигментов количественно переносят в коническую колбу на 50 мл, обмывая стенки колбы Бунзена небольшой порцией спирта (общий расход спирта на получение вытяжки не более 50 мл).

Задание: описать порядок извлечения пигментов фотосинтеза из растительного материала.

Лабораторная работа 2.2 Изучение химических свойств пигментов фотосинтеза.

Цель работы: ознакомиться с химическими свойствами пигментов фотосинтеза.

Материалы и оборудование: этиловый спирт в капельнице; бензин, гексан, или толуол; NaOH или KOH кристаллический; 10% соляная кислота в капельнице;

укусноокислая медь; спиртовка; штатив с пробирками; воронки; фильтровальная бумага; стеклянные палочки.

2.2.1 Разделение пигментов по Краусу. Метод основан на различной растворимости пигментов в спирте и бензине. Эти растворители при сливании не смешиваются, а образуют две фазы верхнюю бензиновую и нижнюю спиртовую, благодаря чему и разделяются компоненты смеси пигментов.

Ход работы:

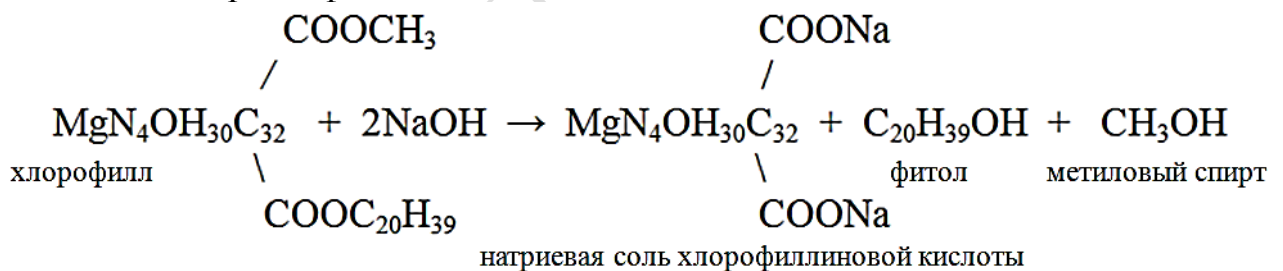
В пробирку налить 2-3 мл спиртового экстракта пигментов и добавить 3-4 мл бензина. Содержимое пробирки сильно встряхнуть, предварительно закрыв ее пробкой или большим пальцем, и оставить отстояться. Для лучшего разделения добавить 1-2 капли воды.

По мере расслоения эмульсии верхний бензиновый слой будет окрашиваться в зеленый цвет, из-за лучшей растворимости в нем хлорофиллов. Кроме того, в бензин переходит каротин, но его окраска маскируется хлорофиллом. Ксантофилл остается в нижнем спиртовом слое, придавая ему золотисто-желтую окраску.

Если пигменты разделяются недостаточно четко, добавить 1-2 капли воды и снова встряхнуть. При избытке воды возможно помутнение нижнего слоя, тогда следует прилить немного этилового спирта и взболтать содержимое пробирки.

Задание: описать ход работы. Зарисовать распределение пигментов в спирте и бензине, сделать выводы о различной их растворимости.

2.2.2 Омыление хлорофилла щелочью. При обработке хлорофилла щелочью происходит омыление эфирных групп, т.е. отщепление остатков метилового спирта и фитола:



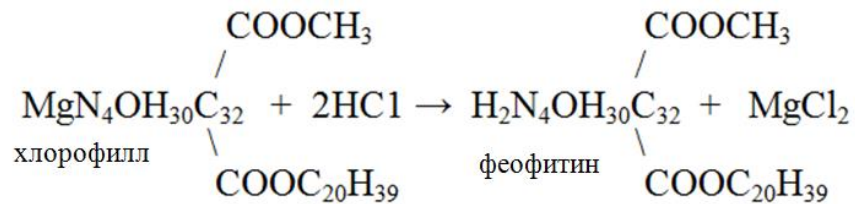
Образуется натриевая соль хлорофиллиновой кислоты, сохраняющая зеленую окраску и оптические свойства хлорофилла, но отличающаяся большей гидрофильностью, по сравнению с неизмененным пигментом.

Ход работы:

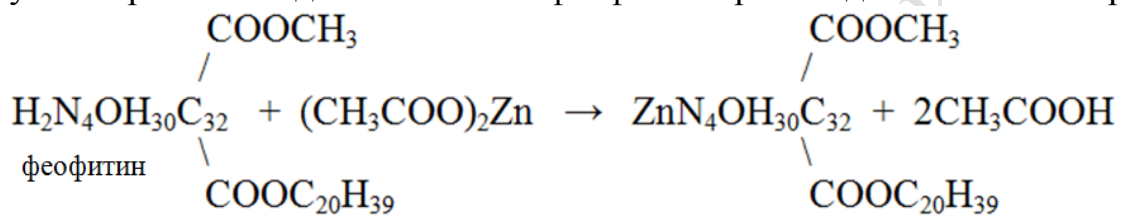
В пробирку с 2-3 мл спиртового раствора пигментов поместить небольшой кристалл КОН или NaOH и взболтать. К раствору прилить равный объем бензина и несколько капель воды для лучшего разделения смеси. Затем содержимое пробирки резко встряхнуть и дать ему отстояться. В бензиновый слой перейдут каротин и ксантофилл, а в спиртовой – натриевая соль хлорофиллиновой кислоты.

Задание: описать ход работы. Зарисовать окраску слоев, указав распределение пигментов, записать уравнение реакции омыления хлорофилла щелочью.

2.2.3 Получение феофитина и обратное замещение водорода атомом металла. Атом магния слабо удерживается в порфириновом ядре хлорофилла и при осторожном воздействии сильных кислот легко замещается двумя протонами, что приводит к образованию феофитина – вещества бурого цвета.



Если на феофитин подействовать солями меди, цинка или ртути, то вместо двух протонов в ядро входит соответствующий металл и вновь восстанавливается зеленая окраска. Однако она несколько отличается от окраски хлорофилла. Следовательно, цвет хлорофиллов зависит от металлоорганической связи в их молекуле. Обратное введение магния в феофитин происходит с большим трудом.



Ход работы:

В пробирку налить 2-3 мл спиртовой вытяжки пигментов и прибавить 1-2 капли 10%-го раствора соляной кислоты. В ходе реакции зеленый цвет меняется на бурый, при этом хлорофилл превращается в феофитин. Содержимое пробирки разлить в две пробирки.

Одну пробирку с феофитином оставить для контроля, а во вторую поместить несколько кристаллов уксуснокислой меди и нагреть раствор на спиртовке до кипения. После нагревания бурый цвет раствора меняется на зеленый в результате образования хлорофиллоподобного производного меди.

Задание: описать ход работы. Зарисовать окраску феофитина и медьпроизводного хлорофилла, записать уравнения реакций.