

# **Separation av plastidfärgämnen**

**Fiali Olander N3K  
Hvitfeldtska gymnasiet  
Göteborg  
3/12-07**

## Inledning

**Syfte:** Att skilja ut och bestämma de viktigaste plastidpigmenten hos olika växter och jämföra deras olika sammansättning av pigment.

**Tekniker:** Att genom papperskromatografi skilja ut olika organiska ämnen i vår lösning. Detta avläses sedan med hjälp av en spektrofotometer.

**Hypotes:** Troligen kommer flera olika pigment återfinnas i varje lösning från växterna. Olika pigment kan också förekomma och även i andra proportioner i de olika växterna eftersom dessa har olika levnadsmiljö vad gäller exempelvis tillgång till ljus.

## Material och metoder

### **Material**

Stort provrör

2 st gem

Kromatografipapper (fast fas)

Lösningsmedel, en blandning av aceton och petroleumeter (rörlig fas)

Aceton

Mortel

Sand

Pipetter

Centrifug

Kapillärrör

UV-lampa

Appendorfrör

4 st provrör

Spektrofotometer

Mossa

### **Metoder**

Vi följde i stort sett laborationsmanualen och hänvisar därför till denna med några små tillägg. Punkt 3: Samtidigt som vi gjorde en provlösning med homogeniserad mossa, aceton och natriumvätekarbonat gjorde vi även en lösning med homogeniserad mossa och vanligt kranvatten. Denna lösning hade något lägre koncentration av mossa. Dessa två lösningar centrifugerades sedan i 1 ½ min men då provröret som innehöll aceton gick sönder fick vi föra över denna till ett nytt provrör och centrifugera båda lösningarna i ytterligare 1 ½ min.

### **Resultat**

När papperskromatografen var färdig och pappret torkat tittade vi på det i UV-ljus. Vi kunde urskilja ett streck (band nr 1 dvs. graf nr 3) men Susanne Ottoson (lärare) såg ytterligare två. Dessa var alltså väldigt svaga men tre olika färgade fält bestämdes.

I spektrofotometern kördes sedan både vatten och acetonlösningen och de acetonlösningarna som de olika färgade fälten legat i. Dessa numrerades enligt följande ordning.

- 1 – Pigmentblandning i vatten
- 2 – Pigmentblandning i aceton
- 3 – band nr 1 nerifrån räknat
- 4 – band nr 2 nerifrån räknat
- 5 – band nr 3 nerifrån räknat

I graferna avläser vi att det finns klorofyll a och klorofyll b i vårt prov dvs. det med homogeniserade kryptogamer (mossa).

Nedan följer en förenklad tabell av de olika gruppernas resultat som visar på de tydligaste likheterna och skillnaderna mellan de olika växterna. Resultatet kommer från avläsning från spektrofotometerkurvorna.

	Klorofyll a	Klorofyll b	Phycobiliprotein
Blågröna bakterier	X		x
Rödalger	X		x
Brunalg	X		
Gröналg	X	x	
Kryptogam	X	x	
Monokotyledon fanerogam	X	x	
Marin dikotyledon fanerogam	X	x	
Terrester dikotyledon fanerogam	X	x	

### Diskussion

Absorbtiostoppen vid våglängden 670 nm tyder på att det finns klorofyll. Det är svårt att veta om det är a eller b eftersom topparna överlappar varandra. Vi kan dock dra slutsatsen att det finns både a och b eftersom det finns toppar på både 420 nm och 460 nm. Detta motsvarar tabell 5.1 i labbhandledningen. Enligt samma tabell borde det också finnas  $\beta$ -karoten vilket är möjligt men det är svårt att avläsa eftersom klorofyll b toppen finns på samma våglängd.

Strukturformlerna för klorofyll a och klorofyll b är mer lika den fasta fasen och dessa borde därför röra sig långsammare. Därför borde dessa bara funnits i den nedersta remsan men det kan vi inte se i vårt resultat. Skillnaden mellan klorofyll a och klorofyll b är att klorofyll b har en aldehydgrupp (-CHO) som påhängd grupp och den är mer lik den rörliga fasen (acetone) än klorofyll a. Klorofyll a har istället för aldehydgrupp en metylgrupp (-CH<sub>3</sub>) vilket gör den mer lik den fasta fasen (cellulosa). Detta borde göra att våra absorbanskurvor visade på mer klorofyll a i nedersta strecket men det är svårt att se.

Om vi nu jämför de olika gruppernas resultat främst genom att titta i ovanstående tabell finner vi slående likheter och skillnader. Terrester dikotyledon fanerogam, marin dikotyledon fanerogam, monokotyledon fanerogam och gröналg innehåller både klorofyll a och klorofyll b, liksom kryptogamerna. Detta tyder på ett ganska nära släktskap och att de har en kort skild evolutionär historia vilket stämmer med verkligheten.

Blågröna bakterier, rödalger och brunalger har alla klorofyll a. Blågröna bakterier saknar klorofyll b dock finns en topp vid 620 nm vilket tyder på phycocyanin. Rödalger saknar klorofyll b men toppen vid 560 nm tyder på phycoeritrin. Brunalger har klorofyll a men samtliga saknar troligen klorofyll b. Dessa är alltså närmare släkt med varandra än med tidigare nämnda arter. Resultatet följer uppställningen i tabell 5.1. I brunalger borde det inte finnas något klorofyll b, dock finns en svag topp på 460 nm men denna skulle kunna vara klorofyll c<sub>1</sub> och klorofyll c<sub>2</sub>.

Vid sammanfattning av ovanstående resultat kan man se tydliga skillnader och likheter vilket skulle kunna användas för att påvisa släktskap. När man jämför arternas pigmentuppsättning dels från mina resultat och dels från tabell 5.1 kan man se tydligt vilka som är mer eller mindre släkt med varandra. Tidigare har jag nämnt att fanerogamerna, kryptogamerna och

grönlagera är nära släkt (alla har klorofyll a och klorofyll b). Brunalgen särskiljer sig genom att den inte har några "primitiva" pigmentfärger (phycobiliprotein) alltså befinner denna sig släktskapsmässigt och utvecklingsmässigt närmare de högre växterna. Den blågröna bakterien saknar kloroplaster och utvecklades först och därefter utvecklades rödalgen.

**Felkällor:** Eftersom pigmentprovet med aceton gick sönder och därmed fick centrifugeras en gång till är möjligtvis detta prov inte lika pålitligt som det borde vara. Detta borde dock inte spela någon större roll eftersom våra volymmätningar var ganska osäkra. Graferna är ofta ganska svåra att avläsa och det är möjligt att jag har läst in för mycket eftersom jag förväntat mig toppar på speciella våglängder.

**Slutsats:** Stamträdet skulle kunna se ut såhär:

