

2. gyakorlat

A FOTOSZINTÉZIS SORÁN KELETKEZŐ KEMÉNYÍTŐ KIMUTATÁSA

A fotoszintézis során a kloroplasztiszokban képződő redukált szerves vegyületek keményítő formájában raktározódnak. Ez jóreakcióval láthatóvá válik, amennyiben a zöld színanyagokat a levélből kivonjuk. Ezen a módon bizonyítható, hogy a keményítő keletkezéséhez a zöld levelekben fény szükséges.

A kísérlet végrehajtása

Élénk anyagcseréjű, fiatal muskátlit 12-24 órára sötétbe helyezünk. A levelek keményítőtartalma ezalatt lebomlik, felhasználódik, vagy elvándorol más részekbe.

Ezután a növényről eltávolítjuk a leveleket – levélnyéllel együtt, gyenge, szórt fényben – majd mindkét felületére egymással szemben borotvapengét szorítunk, kapoccsal rögzítjük. A pengék jól simulnak a levél felületéhez, azt fénytől teljesen elzárják.

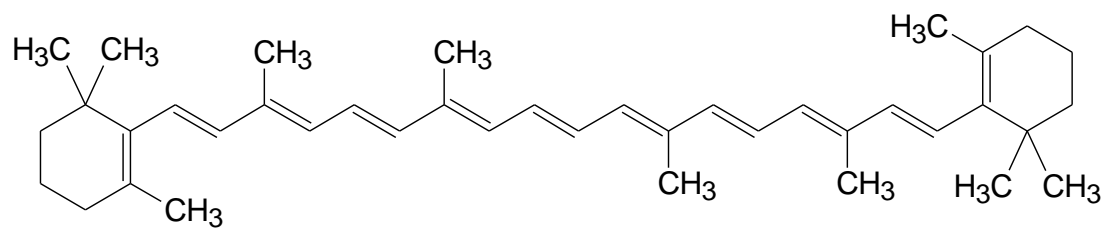
A leveleket petri-csészébe, vízzel átnedvesített szűrőpapírra, fényforrás alá helyezzük.

Több órás megvilágítás után a pengéket eltávolítjuk, a leveleket 96%-os alkoholban főzzük. Az alkoholt időközben cserélve a főzést addig folytatjuk, míg a levelek teljesen kifehérednek.

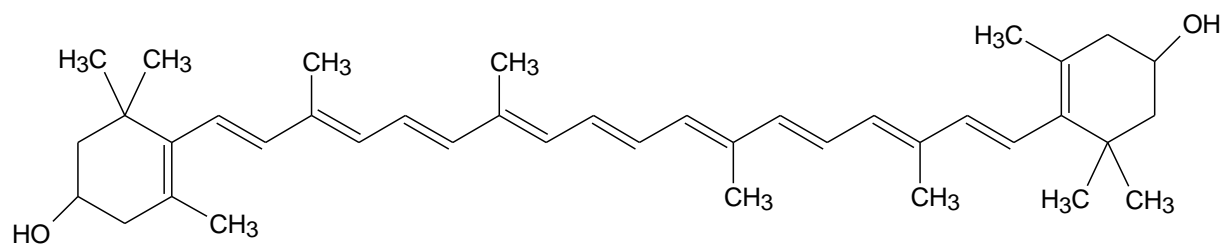
Az alkoholt leöntjük a levelekről, azokra kálium-jodidos jódoldatot öntünk, majd az oldattal együtt egy petri-csészébe helyezzük. Ha a fényérte levélrész megkékül, a levelet szűrőpapír közzé tesszük és lepréseljük.

Pigmentek

Karotinok



Xantofillok



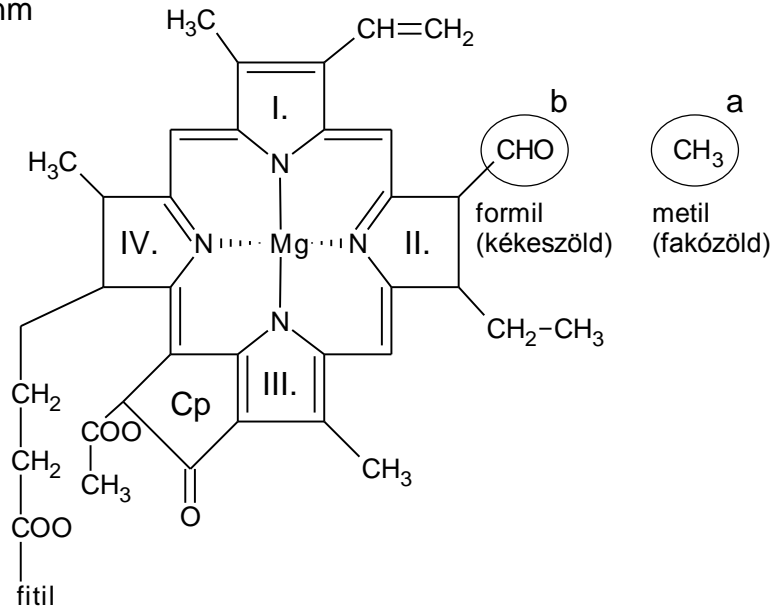
- Klorofilok:
- a kloroplasztiszból acetonnal vonhatók ki
 - kromatográfiával két frakcióra választhatók (a és b)
 - fehérjékkel komplexet alkotnak

Szerkezet:

4 pirrolgyűrű, melyek porfirinvázat alkotnak, középen Mg-atom + ciklopentanon gyűrű (Cp)

kl_a: 430 nm 662 nm

kl_b: 453 nm 642 nm



fitol: $C_{20}H_{39}OH$

Fikobilinek:

- szintén 4 pirrolgyűrű, de nem rendeződik porfirinvázba
- abszorpciós maximuma az 550 nm - 700 nm-es sávban van
- fikobiliproteinekhez kötődik

2. gyakorlat

A KLOROPLASZTISZ SZÍNANYAGAINAK RÉSZLEGES SZÉTVÁLASZTÁSA MEGOSZLÁSI PAPÍRKROMATOGRÁFIÁVAL

A kromatográfiás szűrőpapírt alkotó cellulózrostok vizet képesek megkötni és ez a cellulózhoz kötött víz képi – esetünkben – a megoszlási kromatográfia álló fázisát. A szűrőpapírba beszívódó benzol alkotja a mozgó oldószerfázist. Amikor eléri az elválasztandó anyagkeverék felcseppentésének helyét (startvonal), az anyagkeverék feloldódik, megoszlás jön létre a papírhoz kötött vizes fázis és a benzolos fázis között. Mire a benzol a papírcsík hosszában végigvándorol, nagy számú megoszlás játszódik le az álló és mozgó fázis között. A benzolos fázisban jól oldódó *xantofill* nagyobb utat tesz meg, mint a *klorofillok*. Az erősen apoláris jellegű *karotin* az oldószer frontjával együtt mozog, mivel az álló fázisban gyakorlatilag nem oldódik.

A kloroplasztisz színanyagainak kromatográfiájakor ügyelni kell arra, hogy a kivonat előállítását és az egész analízist a lehető leggyorsabban, gyenge szórt fényben végezzük, mivel a színanyagok fotooxidációra hajlamosak.

A kísérlet végrehajtása:

Szükséges a kromatografáló edény, amely esetünkben egy kb. 6 cm átmérőjű, 30 cm magasságú üveghenger. Tetejét lágy PVC lemezzel fedjük, amelyen átszúrunk egy 10 cm hosszúságú drótot, melynek végét horog alakúra képezzük. Scheicher-Schüll 2043 b (vagy Whatman No. 1) szűrőpapírból 4 cm-es csíkot vágunk, olyan hosszúra méretezzük, hogy az a drótra akasztva ne érje el az üveghengerbe előzőleg töltött benzolt.

Ezután elkészítjük a színanyagkivonatot. Muskátli leveleket kvarchomokkal összetörünk (kvarchomok, kalcium-karbonát, vízmentes nátrium-szulfát jelenlétében). Az összetört levelekhez kevés etanolt/acetont adunk, tovább dörzsöljük, majd a homogenátumot szűrjük.

A nyers klorofil-kivonatot pipetta segítségével visszük fel a startvonalra. Az elkészített papírt jól záródó edénybe függesztjük, amelynek légterét telítettük a futtatószer gőzeivel (annyi futtatószer kell az edénybe tölteni, hogy a kromatográfiás papír alsó széle 4-5 mm-re beleérjen). A kromatogramm kifejlődése során a szétválasztandó anyagok eltérő

oldékonyságuk alapján a start-és frontvonal között más-más helyen maradnak le.
Futtatószerként benzin:aceton:etanol = 30:1:0,03 arányú elegyét használjuk.

1-2 órás futtatás után a színanyagok jól elkülönülnek:

- sárgászöld – b-klorofill
- kékeszöld – a-klorofill
- citromsárga – xantofill
- narancssárga – karotin (ez a benzol frontjával együtt vándorol).

40-50 perces kromatografálás után értékeljük a látottakat! Jegyzőkönyvben rögzítjük!

2. gyakorlat
A FOTOSZINTÉZIS INTENZITÁSÁNAK MEGHATÁROZÁSA
BUBORÉKSZÁMLÁLÁSSAL

A Hill-reakció egyik terméke az oxigén. Termelésének intenzitása arányos a fotoszintézis fényreakciójának intenzitásával, normál körülmények között a nettó fotoszintézissel. A kísérlet alapja, hogy a vízi növények fotolízisekor keletkező oxigén buborék formában hagyja el a vágásfelületet.

A kísérlet menete:

Két vastagfalú üvegedény egyikét megtöltjük kiforralt csapvízzel, a másikat 0,1 %-os NaHCO_3 oldattal.

Az ép csúccsal rendelkező vízinövény darabot úgy helyezünk az üvegedénybe, hogy csúcsa lefelé, a vágásfelület felfelé nézzen, kb. 2-3 cm magas folyadékkal borítva. A növény üvegbottal rögzítjük. A két üvegedényt azonos fényintenzitásra helyezünk, 4 perces inkubációs időt hagyva 3 x 5 percig számoljuk a vágásfelületet elhagyó buborékok számát. A kapott eredményeket átlagoljuk. A kísérletet kiértékeljük, magyarázatot adva a két kezelésnél tapasztalt eltérő eredményre.