

OSNOVNA ŠOLA LJUBEČNA

BARVILA JESENSKIH LISTOV

Avtorice:

PATRICIJA BANOVŠEK, 9. A
LUCIJA PODVRŠNIK, 9. B
MAJA VINTER, 6. A

Mentorica:

MARJETA GRADIŠNIK MIRT,
predmetna učiteljica

Mestna občina Celje, Mladi za Celje
Celje, 2009

KAZALO

SEZNAM SLIK, TABEL IN GRAFOV.....	2
1 UVOD.....	5
1.1 NAMEN NALOGE	5
1.2 HIPOTEZE	6
1.3 METODE DE LA	6
2 TEORETIČNE OSNOVE.....	7
2.1 ZGRADBA LISTA.....	7
2.2 ZGRADBA RASTLINSKE CELICE	8
2.3 BARVILA V ZELENIH LISTIH.....	9
2.4 KAKO RAZIŠČEMO PRISOTNOST BARVIL V ZELENIH LISTIH?..	10
2.4.1 EKSTRAKCIJA BARVIL IZ ZELENIH LISTOV	10
2.4.2 PAPIR NA KROMATO GRAFIJA	11
2.5 IZBOR DREVESNIH VRST	12
3 OPIS RAZISKOVALNEGA DELA.....	14
3.1 IZBOR JESENSKIH LISTOV.....	14
3.2 PRIPRAVA OPAZOVALNEGA LISTA	15
3.3 IZBIRA USTREZNIH TOPIL.....	16
3.4 EKSTRAKCIJA BARVIL IN PAPIR NA KROMATO GRAFIJA V ZGODNJI JESENI.....	19
3.5 EKSTRAKCIJA BARVIL IN PAPIR NA KROMATO GRAFIJA V MESECU OKTOBRU	24
3.6 EKSTRAKCIJA BARVIL IN PAPIR NA KROMATO GRAFIJA V MESECU NOVEMBRU.....	26
3.7 ANALIZA REZULTATOV RAZISKOVALNEGA DELA	28
3.8 POTRDITEV HIPOTEZ	34
4 ZAKLJUČEK	35
5 LITERATURA IN VIRI	36

SEZNAM SLIK, TABEL IN GRAFOV

Slika 1: Barvitost jesenskih listov	5
Slika 2: Zgradba lista (http://www.educa.fmf.uni-lj.si/izodel/sola/2002/di/zorman/SN/list_sredica.htm , 12. 12. 2008).....	7
Slika 3: Rastlinska celica s kloroplasti (http://sl.wikipedia.org/wiki/Plastid , 12. 12. 2008)	8

Slika 4: Zgradba rastlinske celice (http://naravoslovje.slohosting.com/rastlinska_celica.htm , 12. 12. 2008)	8
Slika 6: Klorofil b.....	9
Slika 7: Karoteni	10
Slika 8: Ksantofili	10
Slika 9: Listi dreves	14
Slika 10: Ekstrakcija z različnimi topili.....	17
Slika 11: Papirna kromatografija na traku.....	18
Slika 12: Kromatogrami z različnimi topili	19
Slika 13: Trenje listov v terilnici	20
Slika 14: Ekstrakti barvil iz različnih listov.....	21
Slika 15: Ekstrakti so v septembru še izrazito zeleni.....	21
Slika 16: Nanos ekstrakta na filtrirni papir	22
Slika 17: Kromatogram barvil iz hrastovih listov	22
Slika 18: Kromatogrami v mesecu septembru.....	23
Slika 19: Kromatogrami barvil listov v oktobru.....	25
Slika 20: Ekstrakti barvil listov v novembru.....	26
Slika 21: Kromatogrami barvil listov v novembru	27
Slika 22: List javorja	33
Tabela 1: Retencijski faktorji barvil, ekstrahiranih z različnimi topili	19
Tabela 2: Širina pasov posameznih barvil v septembru	23
Tabela 3: Retencijski faktorji barvil jesenskih listov v septembru	24
Tabela 4: Širina pasov posameznih barvil v mm v listih v oktobru	25
Tabela 5: Retencijski faktorji barvil jesenskih listov v oktobru	25
Tabela 6: Širina pasov posameznih barvil v mm v listih v novembru.....	27
Tabela 7: Retencijski faktorji barvil jesenskih listov v novembru	27
Tabela 8: Količina barvil v listih hrasta v posameznih mesecih.....	28
Tabela 9: Količina barvil v listih bukve v posameznih mesecih.....	29
Tabela 10: Količina barvil v listih kostanja v posameznih mesecih	30
Tabela 11: Količina barvil v listih češnje v posameznih mesecih.....	31
Tabela 12: Količine barvil v listih gabra v posameznih mesecih.....	32
Tabela 13: Količina barvil v listih javorja v posameznih mesecih	33
Graf 1: Spreminjanje barvil v jesenskih listih hrasta.....	28
Graf 2: Spreminjanje barvil v jesenskih listih bukve.....	29
Graf 3: Spreminjanje barvil v jesenskih listih kostanja	30
Graf 4: Spreminjanje barvil v jesenskih listih češnje	31
Graf 5: Spreminjanje barvil v jesenskih listih gabra.....	32
Graf 6: Spreminjanje barvil v jesenskih listih javorja.....	33

POVZETEK

Lepo se v notranjosti skriva. To je misel, ki velja tudi pri raziskovanju barvil v zelenih listih. Barvila, ki se skrivajo pod klorofili, se pokažejo v jesenskem času, ko drevesa zažarijo v jesenskih barvah.

V tej raziskovalni nalogi smo želele spoznati laboratorijske metode, s pomočjo katerih lahko poiščemo barvila v zelenih listih. Ugotavljale smo, katera topila najbolj ustrezajo posameznim listnim barvilom. Primerjati smo želele kromatograme barvil najpogostejših listavcev naših gozdov. nameravale smo ugotoviti, kako se v jeseni spreminja prisotnost barvil v listih.

Spoznale smo, da lahko ločevanje barvil iz zelenih listov temelji na metodah ekstrakcije in papirne kromatografije. V obeh postopkih je pomembna pravilna izbira topil. Spoznale smo tudi, da so klorofili dobro topni v malo polarnih topilih, ksantofili in karoteni pa bolj v nepolarnih topilih. Rdeča barvila, ki v jeseni nastajajo iz sladkorjev v listih, so bolj topna v polarnih topilih. Pri primerjavi kromatogramov barvil jesenskih listov bukve, hrasta, javorja, pravega kostanja, gabra in divje češnje v mesecu septembru, oktobru in novembru smo ugotovile postopen padec klorofilov. Manj obstojen je klorofil b, ki se razgradi že v oktobru, v mesecu novembru pa mu sledi še klorofil a. Izguba klorofilov ni enaka pri vseh listavcih. Naši poskusi so pokazali, da je klorofil a najdlje obstojen v listih javorja in pravega kostanja.

1 UVOD

V jeseni je pot v šolo zelo barvita. S tem ne mislimo na pisana oblačila ali nove avtomobile, temveč na pljuča planeta, naša drevesa. Iglavci se v tem času ne spremenijo veliko, listavci pa. Že sam pogled na te tople barve nam izboljša razpoloženje in počutje. Nekaterim je všeč ljubeznivo rdeča barva češnje, medtem ko je drugim ljubša vesela rumena barva javorja. Zelena barva poletja izginja, saj se dnevi krajšajo in noči daljšajo. Dnevi postajajo mrzli in megleni, zato smo nagnjeni k slabi volji. Ozremo se na listavce v njihovih čudovitih barvnih oblekah in dan je lepši. Zanimivo bi bilo raziskati, kaj je v ozadju barvnih sprememb jesenskih listov. To je lep začetek šolskega leta.

Slika 1: Barvitost jesenskih listov



1.1 NAMEN NALOGE

Kot pri vsakem delu smo si tudi me zastavile cilje in izdelale načrt izvedbe naloge:

- Spoznati smo želele metodo ločevanja barvil iz listov, ki se imenuje papirna kromatografija.
- Papirno kromatografijo smo sprva želele primerjati s tankoplastno kromatografijo, vendar se je zataknilo pri pripomočkih in topilu. Topilo za tankoplastno kromatografijo je namreč kloroform, ki je strupen in neprimeren za delo v osnovni šoli.

- Ugotoviti smo želele, katera topila so primerna za ekstrakcijo barvil iz jesenskih listov in katera barvila so ločljiva s papirno kromatografijo.
- Primerjati smo želele kromatograme jesenskih listov v treh različnih mesecih, septembru, oktobru in novembru. S tem smo želele ugotoviti, kako se spreminja količina posameznih barvil jeseni.

1.2 HIPOTEZE

Glede na cilje in izsledke v literaturi smo si zastavile naslednje hipoteze:

- Domnevamo, da so nepolarna topila primernejša za ekstrakcijo barvil iz jesenskih listov kot polarna topila.
- Predpostavljamo, da količina klorofila v listih v jeseni postopno upada, količina drugih barvil pa narašča.
- S pomočjo papirne kromatografije lahko iz jesenskih listov različnih listavcev ločimo vsaj 4 barvila.
- Predpostavljamo, da je obstojnost klorofila v jeseni pri različnih listavcih različna.

1.3 METODE DELA

V naši raziskovalni nalogi je prevladovala eksperimentalna metoda. Za uspešno delo smo se morale seznaniti s teoretičnimi osnovami, ki smo jih pridobile s preučevanjem različne literature in spletnih strani. Svoja opažanja smo vnašale v opazovalni list in jih dokumentirale s fotografiranjem. Sledila je analiza ugotovitev. Na koncu smo nova spoznanja strnile v poročilo.

2 TEORETIČNE OSNOVE

Začele smo z učbeniki naravoslovja za osnovno šolo, pogledale pa smo v tudi v kakšen srednješolski delovni zvezek. Preostale podatke smo našle na internetu, saj je tam danes zelo veliko informacij, slik, shem in celo animacij.

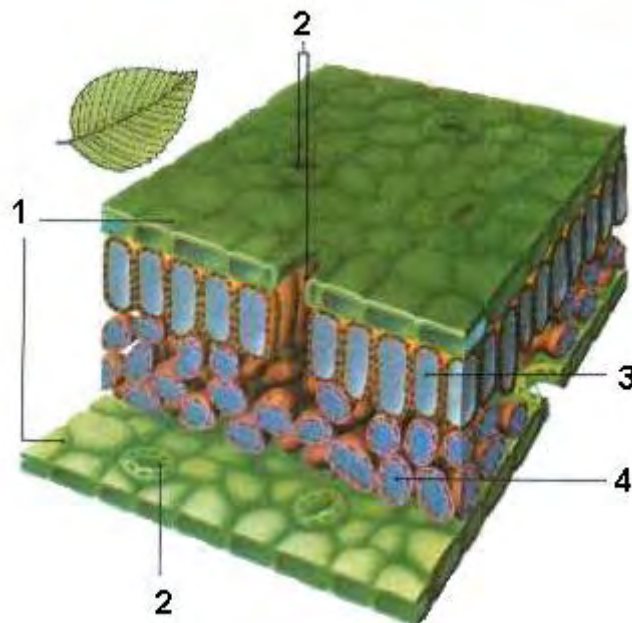
Najprej smo ponovile zgradbo lista in rastlinske celice. Zelo nas je zanimalo delovanje plastidov, kjer se ponavadi nahajajo barvila. Podrobneje smo spoznale, kakšna je njihova vloga, in zakaj so listi zeleni. Za izvedbo eksperimentalnega dela smo natančneje preučile metodi ekstrakcije in papirne kromatografije.

2.1 ZGRADBA LISTA

List je zgrajen iz več delov, ki jih lahko opazimo tudi s pomočjo svetlobnega mikroskopa. Ti deli so:

- 1 listna povrhnjica (zgornja in spodnja)
- 2 listne reže
- 3 stebričasto tkivo
- 4 gobasto tkivo

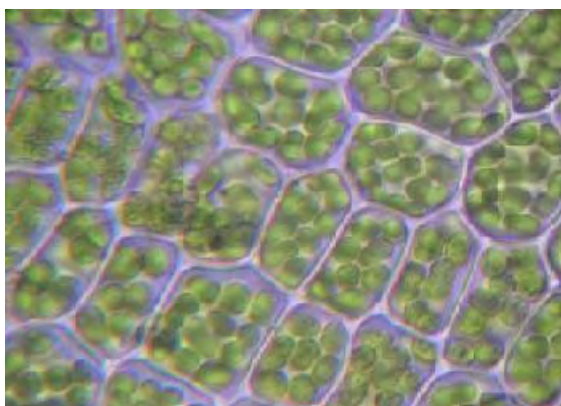
Slika 2: Zgradba lista (Vir: http://www.educa.fmf.uni-lj.si/izodel/sola/2002/di/zorman/SN/list_sredica.htm, 12. 12. 2008)



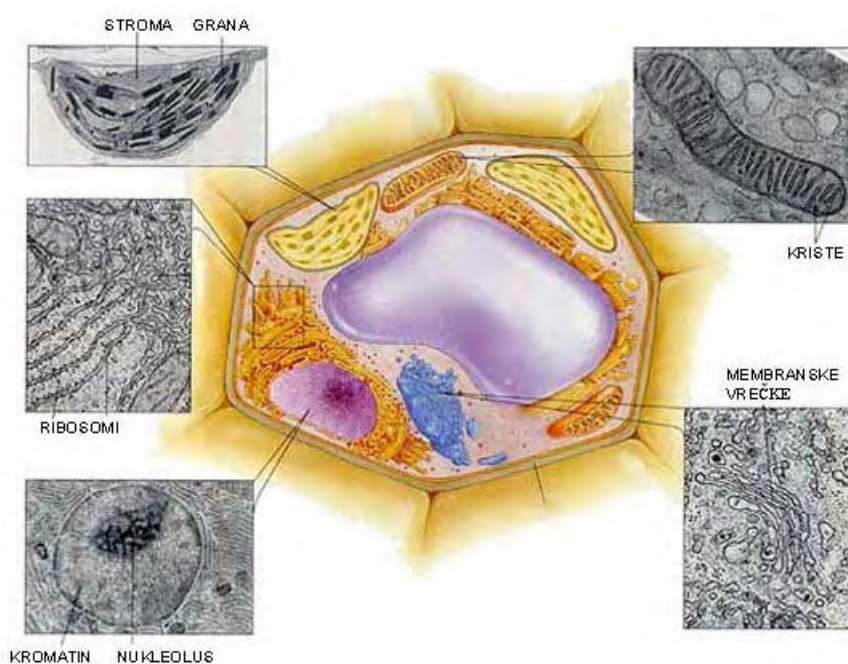
2.2 ZGRADBA RASTLINSKE CELICE

Rastlinska celica je osnovna enota vseh rastlin. Sestavni deli celice, ki jih lahko vidimo s svetlobnim mikroskopom, so jedro, celična membrana in citoplazma. Za razliko od živalske celice pa imajo rastlinske celice še kloroplaste, vakuole ter celulozno celično steno. Z elektronskim mikroskopom lahko pri celici opazimo še manjše celične organele, kot so ribosomi, mitohondrij, endoplazmatski retikulum, kromosomi ter Golgijev aparat.

Slika 3: Rastlinska celica s kloroplasti (Vir: <http://sl.wikipedia.org/wiki/Plastid>, 12. 12. 2008)



Slika 4: Zgradba rastlinske celice (Vir: http://naravoslovje.slohosting.com/rastlinska_celica.htm, 12. 12. 2008)

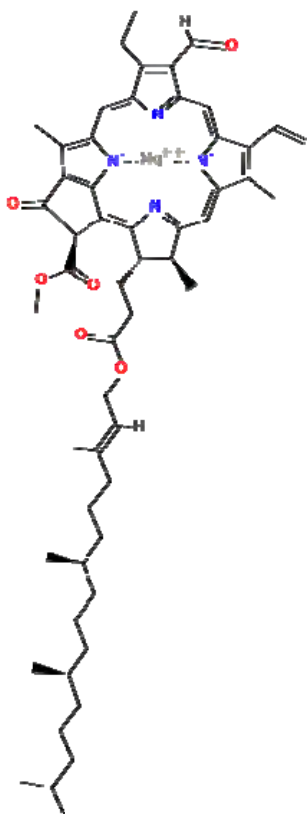


2.3 BARVILA V ZELENIH LISTIH

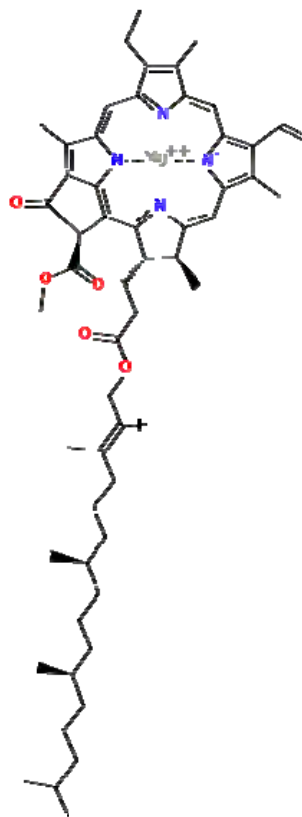
Zelene rastline so »tovarne« hrane in kisika. Proces nastajanja teh za življenje pomembnih snovi se odvija v zelenih listih. V njihovih celicah so posebni celični organeli, imenovani kloroplasti ali klorofilna zrnca, v katerih se nahaja zeleno listno barvilo klorofil. Proces nastajanja hrane se imenuje fotosinteza in poteka le na svetlobi in ob primerni toploti. Iz anorganskih snovi, kot sta ogljikov dioksid in voda, nastajata sladkor in kisik. Zaradi tega procesa imamo vsa živa bitja na Zemlji hrano, v katero je vezana kemijska energija. Poleg klorofila se v plastidih nahajajo še druga pomožna asimilacijska barvila. To so predvsem ksantofili in karoteni.

Klorofil je zelene barve in se pojavlja v dveh oblikah, kot klorofil a in klorofil b. Klorofil a je modro zelene barve, medtem ko je klorofil b svetlo zelene barve. Razlikujeta se tudi v kemijski zgradbi. V osnovi sta si povsem podobna, razlikujeta se le v metilni in aldehidni skupini na porfinskem obroču. Klorofil je barvilo, ki dobro vpija modri in rdeči del barvnega spektra. List vidimo zelen zato, ker se od njegove površine odbija zeleni del barvnega spektra.

Slika 6: Klorofil b

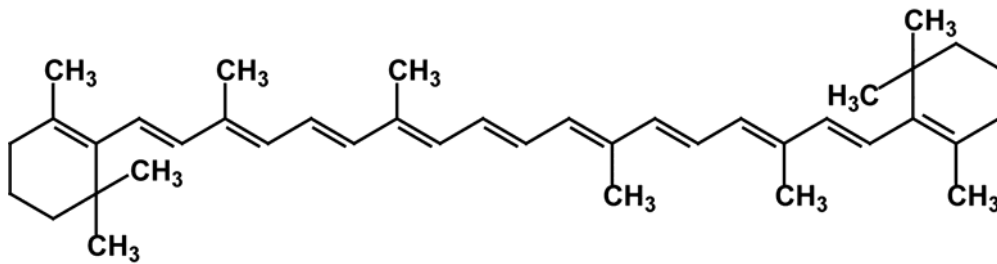


Slika 5: Klorofil a

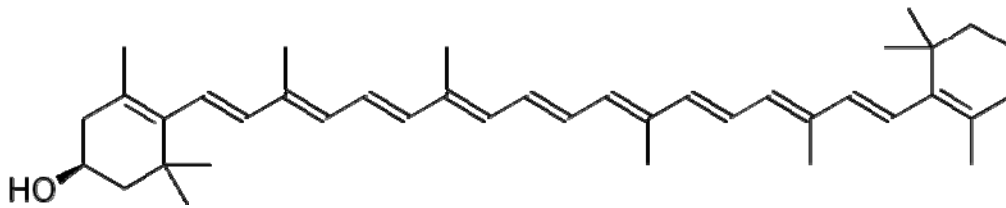


Karoteni so oranžno rumena barvila, ki jih spomladi in poleti ne vidimo, saj jih prekriva klorofil. Vidni postanejo šele v jeseni, ko se klorofil razgradi. Enako je s ksantofili, le da so ti rumene barve. Ksantofil je alkohol, zato je nekoliko manj topen v nepolarnih topilih. Karoten je čisti ogljikovodik, zato je zelo topen v njih.

Slika 7: Karoteni



Slika 8: Ksantofili



Pri nekaterih rastlinskih vrstah pa listi jeseni postanejo celo rdeči. V teh listih se sproži nastanek rdečih barvil antocianov, ki se kopičijo v vakuolah v celicah listne sredice. Antociani so torej barvila, ki nastanejo šele v jeseni, medtem ko so druga v listu celo leto. Nastanejo iz sladkorjev.

2.4 KAKO RAZIŠČEMO PRISOTNOST BARVIL V ZELENIH LISTIH?

2.4.1 EKSTRAKCIJA BARVIL IZ ZELENIH LISTOV

Ekstrakcija je postopek ločevanja snovi iz zmesi, pri čemer uporabimo ustrezno topilo, s pomočjo katerega izvlečemo zelene snovi. Pogosto jo uporabljamo v vsakdanjem življenju, in sicer kot kuhanje. Tako na primer s

pomočjo ekstrakcije izvlečemo določene učinkovine, ko kuhamo čaj ali kavo. V tem primeru je ekstrakcijsko topilo polarna voda.

Pri ekstrakciji barvil iz zelenih listov polarna topila niso najprimernejša, saj imajo barvila bolj nepolarne lastnosti. Da lažje izvlečemo barvila iz jesenskih listov, je najbolje uporabiti topilo, sestavljeno iz molekul, ki imajo polaren in nepolaren del. Takšni topili sta lahko etanol in aceton. Za učinkovitejšo ekstrakcijo barvil je potrebno jesenske liste drobno nasekljati oz. narezati in jih tretji v terilnici. S trenjem poškodujemo celične stene, zato se barvila lažje izločajo. Ker so v jeseni celične stene zelo debele in trdne, je priporočljivo pri trenju uporabljati kremenčev pesek. Pomembno priporočilo je, da je pri trenju v terilnici bolje uporabiti manjšo količino listov. Strene liste stehtamo. Na 5 gramov listov nato nalijemo 15 ml acetona in jih še naprej tremo v terilnici. Zeleno goščo, ki pri tem nastane, prelijemo v erlenmajerico. Dolijemo še 15 ml acetona ter zmes nekaj minut močno stresamo. Ker je topilo hlapno, je priporočljivo erlenmajerico zapreti z zamaškom, vendar moramo občasno višek hlapov spustiti iz posode. Po 10 minutah je potrebno dodati 15 ml vode in ponovno stresati vsebino. Po 5 minutah dodamo še 15 ml nepolarnega topila petroletra. Vsebino previdno stresemo in pazimo na izpust hlapov. Po dodatku zadnjega topila lahko opazimo, da se večina barvil prestavi v petroleter, ki plava nad acetonom. S pomočjo pipete je potrebno zgornjo fazo odpipetirati in jo shraniti v zaprto posodo. To je lahko epruveta z zamaškom ali bučka z ravnim dnom. Ekstrakt barvil v petroletru je obarvan glede na prevladujoča barvila. Pripravljen je za nanašanje na kromatografski papir.

2.4.2 PAPIRNA KROMATOGRAFIJA

Papirna kromatografija spada med tekočinske kromatografije. Stacionarna faza je kromatografski papir, mobilna pa topilo z vzorcem. Kromatografski papir lahko postavimo v navpično lego. Na spodnji rob kanemo kapljico vzorca ali pa vzorec pomešamo s topilom, v obeh primerih pa mora biti kromatografski papir v stiku s topilom. Zaradi kapilarnega učinka se po njem dviguje topilo z vzorcem. Vsaka sestavina vzorca potuje s svojo značilno hitrostjo, ki je vedno manjša od hitrosti topila, in se tako počasi loči od zmesi. Na kromatografskem papirju nastanejo proge ali madeži, do kamor je prispela določena komponenta. Tako nastane kromatogram - zapis sestave zmesi. Razmerje med potjo posamezne komponente in potjo topila

imenujemo retencijski faktor. Z njim opredelimo položaj barvnih prog na kromatografskem papirju, to je zapis sestave zmesi. Najboljši rezultat dobimo takrat, ko je kromatografski papir v nasičeno vlažnem prostoru, kar ugodno vpliva na dvigovanje spojin po papirju.

Druga možnost je papirna kromatografija na krogu. Deluje na enak način, le izvedba je nekoliko drugačna. Potrebujemo petrijevko, ki je laboratorijska posoda iz dveh delov. V manjši del petrijevke nalijemo ustrezno topilo in jo pokrijemo s pokrovom. V majhni posodici hitro nastane nasičeno vlažno okolje. Nato vzamemo okrogel filtrirni papir (črni trak) in na njem s svinčnikom narahlo označimo središče kroga. S pomočjo kapilare v središče kroga nanašamo ekstrakt barvil toliko časa, da nastane temno zelen madež. Nanašamo ga vedno na isto točko. Kapilaro držimo pravokotno na papir. Pred vsakim novim nanosom barvila s pihanjem posušimo prejšnjega. Ker so topila zelo hlapna, se v nekaj trenutkih nanos posuši. Za uspešen kromatogram je bilo treba nanesti ekstrakt vsaj petnajstkrat. Nato naredimo s šestilom v središče kroga majhno luknjico, v katero vtaknemo stenj iz filtrirnega papirja. Stenj mora segati v topilo na dnu petrijevke. Filtrirni papir z nanosom barvnega ekstrakta iz jesenskih listov vstavimo v petrijevko in hitro zapremo pokrov. Topilo zaradi kapilarnosti potuje navzgor in se koncentrično širi po papirju. Barvila, ki so v topilu dobro topna, potujejo s frontalnim delom. Ostala topila se razporedijo po papirju glede na topnost. Topilo za izvedbo papirne kromatografije je zmes različnih topil. Glede na dostopnost smo uporabile zmes acetona in petroletra. Zmes topil je vsebovala 92 % petroletra in 8 % acetona.

2.5 IZBOR DREVESNIH VRST

Raziskovale smo barvila v listih določenih dreves. Ta drevesa so bila: javor, bukev, hrast, gaber, kostanj in češnja. Sledijo kratki opisi naštetih listavcev.

BUKEV

Je najbolj razširjeno drevo v Sloveniji, ki doseže višino do 40 metrov. Najbolje raste na višinah okoli 900 metrov nadmorske višine. Dočaka starost do 150 let in ima svetlo sivo lubje. Njeni listi so dolgi od 6 do 8 cm, ovalni in rahlo valoviti. Plod bukve se imenuje žir in je dolg od 1 do 2 cm, rjave barve in pokrit z bodicami. Kar nas zanima na tem drevesu, so barve

listov. Te so nekje med svetlo zelenim in temno zelenim odtenkom, jeseni postanejo večinoma rumeno rdeče.

GABER

Zraste do višine 30 metrov. Listni rob je nazobčan, oblika lista enostavna, žile pa močno izstopajo. Plod je v obliki padalca in je rumene ali oranžne barve. Spomladi in poleti so gabrovi listi nekje med svetlo zeleno in modro zeleno barvo, jeseni pa oranžno rjave barve.

JAVOR

Javor zraste do višine 45 metrov. Ima velike dlanasto deljene liste na dolgih pecljih. Spomladi in poleti so listi svetlo zeleni, jeseni pa se njegove barve prelivajo od rumene k rdeči.

ČEŠNJA

Doseže višino do 32 metrov. Listi so preprosto ovalni in dolgi od 7 do 14 cm z izstopajočo glavno žilo. Cveti zgodaj spomladi, plodovi pa dozoriijo v sredini poletja. Češnje navadno visijo v dvojicah, dozorele so živo rdeče ali pa temno rdeče barve. Listi so svetlikajoče, temno zelene barve, jeseni pa oranžni ali rdeči.

HRAST

Doseže višino 37 metrov in je najbolj prepoznavno drevo pri nas. Listi so dolgi od 6 do 15 cm, so krpati in imajo listni rob v obliki krivulje. Plod je želod, ki je rjave valjaste oblike. Listi so temno zeleni in so videti povoščeni. Jeseni postanejo rumene in kasneje rjave barve.

KOSTANJ

Kostanj je najbolj znan po svojih plodovih. V ježici je shranjen rjavi orešček. Drevo zraste do višine 27 metrov. Listi, dolgi do 23 cm, so enostavni in imajo nazobčan listni rob. Spomladi in poleti so temno zelene barve, jeseni pa so oranžno rumeni.

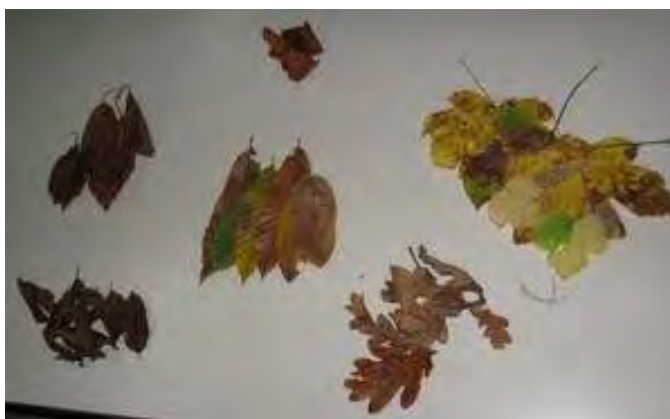
3 OPIS RAZISKOVALNEGA DELA

Teoretičnemu spoznavanju svojega raziskovalnega problema smo se posvetile v mesecu septembru, čas pa je priganjal, saj smo konec istega meseca morale pričeti s praktičnim eksperimentalnim delom. Za izvedbo celotnega, od ekstrakcije barvil iz jesenskih listov do izvedbe papirne kromatografije in beleženja rezultatov, smo potrebovale več ur. Eksperimentalni del raziskovalne naloge je moral zato potekati v popoldanskem času, ko nas niso pestile druge obveznosti. Z metodo papirne kromatografije smo želele raziskati, kako se v jeseni spreminja količina barvil v listih.

3.1 IZBOR JESENSKIH LISTOV

Že v mesecu septembru smo v gozdu izbrale nekaj najlepših listov dreves, v katerih nas je zanimala vrsta različnih barvil. Izbrale smo najbolj dostopna in tudi najpogostejša drevesa v naših gozdovih. To so bila kostanj, gaber, javor, hrast, češnja in bukev. Dan pred laboratorijskim delom smo liste dreves nabrale v gozdu in jih zaprle v neprodušne vrečke, da bi čim manj oveneli.

Slika 9: Listi dreves



3.2 PRIPRAVA OPAZOVALNEGA LISTA

Delo je potekalo zelo načrtno. V ta namen smo si pripravile opazovalni list, ki nas je vodil pri laboratorijskem delu in poenotil opazovanje. Vanj smo zapisale datum laboratorijskega dela, kratek opis našega dela, izračun retencijskih faktorjev in širino pasu posameznega barvila.

OPAZOVALNI LIST - barvila v jesenskih listih

Datum laboratorijskega dela: _____

Kratek opis dela:

Tabela 1: Širina pasu posameznega barvila v milimetrih

Listi	Hrast	Bukev	Kostanj	Češnja	Gaber	Javor
Klorofil b						
Klorofil a						
Ksantofili						
Karoteni						

Tabela 2: Retencijski faktorji

Listi	Hrast	Bukev	Kostanj	Češnja	Gaber	Javor
Klorofil b						
Klorofil a						
Ksantofili						
Karoteni						

3.3 IZBIRA USTREZNIH TOPIL

Navodila za preučevanje in ločevanje barvil v zelenih listih smo našle na spletnih straneh ali v različnih delovnih zvezkih za osnovno ali srednjo šolo. Za ločevanje barvil v jesenskih listih smo izbrale navodilo iz delovnega zvezka za biologijo v srednji šoli z naslovom Navodila za laboratorijsko delo (str. 27). Navodilo nam je bilo všeč, ker je bilo razumljivo, in ker so bili pri postopku uporabljeni reagenti, ki jih imamo v šoli na voljo. Kot topila za ekstrakcijo so bila navedena aceton, petroleter in voda. Izbrana topila sodijo v tri skupine:

- polarno topilo, ki ga predstavlja voda,
- nepolarno topilo, ki ga predstavljata heksan in petroleter,
- malo polarno topilo, ki ga predstavlja aceton.

Zanimalo nas je, katera barvila iz jesenskih listov raztapljajo posamezna topila. Sklepale smo, da glede na zgradbo nepolarna topila raztapljajo karotene in ksantofile. Klorofil se najverjetneje najbolje raztaplja v acetonu. Katera barvila so topna v vodi, pa nismo znale napovedati. Zato je sledil naslednji eksperiment, katerega natančnejše navodilo smo našle v delovnem zvezku Barvila in naravna barvila.

Potrebovale smo: tehtnico, škarje, terilnice s pestili, flomaster, kremenčev pesek, 3 merilne valje, 3 čaše, 3 erlenmajerice, 3 lijake, 3 steklene palčke, filtrirni papir, kapilare, kadičko s pokrovom.

Od reagentov smo uporabile: heksan, aceton, destilirano vodo in petroleter.

Za ekstrakcijo samo izbrale liste divje češnje, ker so bili od vseh izbranih listov najbolj barviti. Že na pogled so bili zelenkasti, rdečkasti in rahlo rumenkasti. S pomočjo škarij smo liste divje češnje narezale na drobne koščke. Za ekstrakcijo smo narezale 15 gramov listov, za vsako topilo po 5 gramov.

Pripravile smo 3 terilnice. Na zunanji rob terilnice smo napisale vrsto topila, s pomočjo katerega bo potekala ekstrakcija. Topila za ekstrakcijo so bila destilirana voda (polarno topilo), heksan (nepolarno topilo in manj hlapno od petroletra) in aceton (malo polarno topilo).

Narezane liste divje češnje smo razporedile v tri terilnice. V vsako terilnico smo dale malo žličko kremenčevega peska. Nato smo s pestilom močno udarjale po listih in jih trle. Po nekajminutnem trenju smo dodale prvih 15

ml topila. Topila so se vpila v liste in omočila zmes. Trenje listov se je nadaljevalo in topila so se značilno obarvala. Nato smo ekstrakt previdno odlile v čašo. Liste smo pustile v terilnici in jim prilile novih 15 ml topila. Zmesi smo ponovno močno trle s pestilom, dokler se niso topila značilno obarvala. Obarvana topila smo previdno prelile k ustreznim ekstraktom v čaši. Ker so bili ekstrakti različnih topil motni zaradi kremenčevega peska, smo jih filtrirale. Pripravile smo tri erlenmajerice, v katere smo namestile lijake s filtrirnim papirjem. Ekstrakte smo ob stekleni palčki filtrirale. Filtrati so postali bistri in značilno obarvani glede na vrsto topila.

Aceton se je obarval zelenkasto, heksan rumeno in voda rjavo.

Slika 10: Ekstrakcija z različnimi topili



Sledila je priprava kromatografske kadičke in kromatografskega topila. Po navodilu iz delovnega zvezka bi moralo biti takšno topilo sestavljeno iz 60 ml petroletra, 20 ml acetona in 20 ml kloroforma. Kloroforma zaradi strupenosti ne uporabljamo več in ga v omari za kemikalije nimamo. Zato smo kot kromatografsko topilo uporabile zmes 92 ml petroletra in 8 ml acetona, kot je navedeno v Navodilih za laboratorijsko delo (str. 27).

Nato smo iz filtrirnega papirja oblikovale tri trakce, dolžine 10 cm. Dva cm od spodnjega roba smo s svinčnikom potegnile rahlo črto. Nato smo na črto nanašale ekstrakte posameznih topil:

- vodni ekstrakt barvil iz lista divje češnje,
- ekstrakt v nepolarnem heksanu,
- ekstrakt v malo polarnem acetonu.

Pri nanašanju smo upoštevale naslednje kriterije:

- ekstrakt smo nanašale vedno na isto točko;

- pazile smo, da so bile lise majhne;
- pazile smo, da smo se s kapilarno pravokotno dotaknile filtrirnega papirja;
- vsak nanos smo posušile, aceton in heksan s pihanjem, vodni nanos s fenom;
- število nanosov je bilo enako - 20 nanosov na vsak filtrirni papir.

Filtrirni trak z nanosom posameznih ekstraktov smo vstavile v kromatografsko kadičko in opazovale, kako je kromatografsko topilo pronicalo po papirju navzgor in ločevalo posamezna barvila. Ko je topilo pripotovalo 1 cm pod zgornji rob, smo kromatograme vzele iz kadičke.

Slika 11: Papirna kromatografija na traku



Ogledale smo si rezultate in ugotovile:

- kromatogram, kjer je bilo ekstrakcijsko topilo aceton, je vseboval ločena rdeča, rjava in zelena barvila;
- kromatogram, kjer je bilo ekstrakcijsko topilo nepolarni heksan, je vseboval rumenooranžna barvila;
- kromatogram, kjer je bila ekstrakcijsko topilo polarna voda, se je le malo razvil, vseboval je rjava barvila in drobcen madež rumenega barvila.

Tabela 1: Retencijski faktorji barvil, ekstrahiranih z različnimi topili

Topilo	Voda	Heksan	Aceton
Fronta topila	6,6 cm	6,7 cm	6,7 cm
Rdeče barvilo			0,25
Rjavo barvilo	0,1		0,48
Zelena barvila			0,91
Rumena barvila	0,9	0,9	0

Slika 12: Kromatogrami z različnimi topili



Iz prvega eksperimenta smo se naučile, zakaj za ekstrakcijo uporabljamo različna topila in v katerih topilih se posamezna barvila jesenskih listov najbolj topijo.

3.4 EKSTRAKCIJA BARVIL IN PAPIRNA KROMATOGRAFIJA V ZGODNJI JESENI

Poletje se konča 21. septembra. Sledijo še dokaj poletno obarvani jesenski dnevi, ki še bistveno ne vplivajo na spremembe v listih gozdnih listavcev. Zdi se, da so procesi fotosinteze še zelo živahni, kar omogoča bogata zaloga asimilacijskih barvil. Prve liste za ločevanje barvil smo nabrale 28. septembra. Naslednji dan smo jih, zaprte v polietilenskih vrečkah, prinesle v šolo, kjer smo v popoldanskem času opravile prvo eksperimentalno delo.

Liste smo ločile med seboj glede na drevesno vrsto, ki ji pripadajo. To so bili listi najpogostejših listavcev naših gozdov: hrasta, bukve, kostanja, divje češnje, gorskega javorja in gabra.

Navodila za laboratorijsko delo Barvila v zelenih listih (str. 27) smo nekoliko prilagodile našim potrebam in ciljem.

Pri delu smo uporabile: škarje, terilnice s pestili, merilne valje, alkoholni flomaster, 6 epruвет, 6 pipet, pipetirno žogico, 6 erlenmajeric, 6 petrijevк in kapilare.

Od reagentov smo uporabljale: aceton, destilirano vodo in petroleter. Kromatografsko topilo je bilo iz acetona in petroletra (8 % acetona, 92 % petroletra). Izbrani reagenti so hlapne in vnetljive tekočine (razen vode), zato smo skrbele za zračenje prostora.

KAKO JE POTEKALA EKSTRAKCIJA BARVIL?

Drobno smo zrezale 5 gramov določene vrste jesenskih listov. Dale smo jih v terilnico in dodale malo kremenčevega peska. Močno smo jih trle. Ker smo imele premajhne terilnice, smo jih lažje trle v manjših količinah.

Slika 13: Trenje listov v terilnici



Nato smo strene liste premestile v erlenmajerice. Erlenmajerico smo izbrale namesto epruветe (navodila), saj ima laboratorijska posoda ožje grlo in možnost uporabe zamaška. Sledilo je postopno dodajanje ekstrakcijskih topil:

- Najprej smo dodale 30 ml acetona in močno stresale. Stresanje in občasno spuščanje odvečnih hlapov je trajalo 10 minut.
- Nato smo dodale 10 ml vode in ponovno močno stresale vsebino erlenmajerice.
- Po 5 minutah stresanja smo dodale še zadnje topilo (15 ml nepolarnega petroletra) in ponovno stresale vsebino.

Slika 14: Ekstrakti barvil iz različnih listov



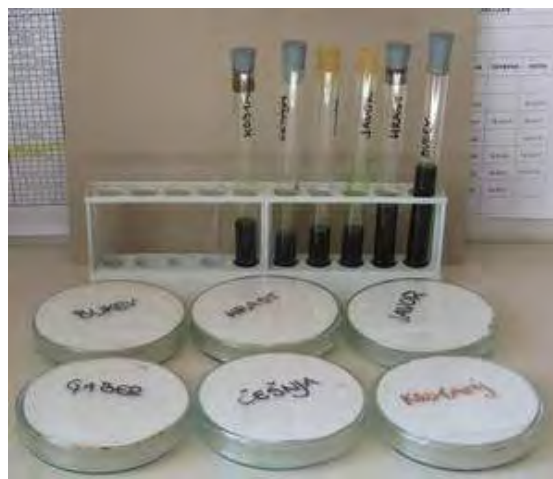
Nato smo pustile erlenmajerice stati na mirnem mestu, da se je zgornja plast topil čim bolj močno obarvala. Ta proces je potekal pol ure. Zgornja plast je bila nepolarni petroleter, spodnja plast pa voda in aceton.

S pomočjo pipete in pipetirne žogice smo zgornjo plast odpipetirale in jo spravile v označene epruvete. Epruвет smo uporabile toliko, kolikor je bilo vrst listov, torej 6. Na vsako epruveto smo z alkoholnim flomastrom napisale, za katero vrsto ekstrakta jesenskih listov gre.

UGOTOVITEV

Vsi ekstrakti jesenskih listov so bili v mesecu septembru v močno zelenih odtenkih.

Slika 15: Ekstrakti so v septembru še izrazito zeleni.



PAPIRNA KROMATOGRAFIJA NA KROGU

Sledil je postopek papirne kromatografije na okroglem filtrirnem papirju v petrijevkah. Pripravile smo šest petrijevkh, na katere smo napisale ime drevesa, ki mu pripada listni ekstrakt barvil. Vanje smo nalile kromatografsko topilo in petrijevke skrbno zaprle.

Nato je sledilo nanašanje ekstrakta barvil v središče kroga filtrirnega papirja. Dogovorile smo se za 15 nanosov. Po 15 nanosih je bilo središče kroga temno zeleno obarvano.

Slika 16: Nanos ekstrakta na filtrirni papir



Ko se je nanešeni ekstrakt barvil v središču kroga filtrirnega papirja dobro posušil, smo si pripravile tanek svitek iz filtrirnega papirja in ga potisnile pravokotno v središče kroga. Kromatografski papir smo položile v petrijevko tako, da je bil svitek, ki je deloval kot stenj, pomočen v kromatografsko topilo. Petrijevko smo skrbno pokrile in čakale, da je topilo prišlo do roba petrijevke. Nato smo kromatografski papir vzele iz petrijevke in ga posušile na zraku. Postopek papirne kromatografije na krogu smo z vsakim ekstraktom dvakrat ponovile.

Slika 17: Kromatogram barvil iz hrastovih listov



Zatem smo izmerile širino posameznih barvnih pasov in izračunale retencijske faktorje. Z Rf vrednostjo izrazimo hitrost, s katero se giblje posamezno barvilo po kromatografskem papirju v primerjavi s hitrostjo topila. Izračunamo ga po naslednji formuli:

$$\text{Retencijski..faktor}(R_f) = \frac{\text{razdalja, ki. jo. preide. barvilo}}{\text{razdalja, ki. jo. preide. topilo}}$$

UGOTOVITVE

1. Jesenski listi gozdnih listavcev so septembra vsebovali zelena, rumena in oranžna barvila, nekateri pa tudi rjava barvila. To so bili klorofil b, klorofil a, ksantofili in karoteni, ki so potovali skoraj s fronto topila.
2. Širino posameznih pasov barvil na kromatogramu pri posameznih vrstah listov smo izmerile v milimetrih. Konec septembra so bili pasovi klorofila b in klorofila a pri vseh listavcih še zelo široki. Kromatogrami barvil jesenskih listov bukve, hrasta in gabra so vsebovali še rdeče rjava barvila, ki so ostala na mestu nanosa barvil in niso potovala s kromatografskim topilom.

Slika 18: Kromatogrami v mesecu septembru



Tabela 2: Širina pasov posameznih barvil v septembru

Barvila	Hrast (mm)	Bukev (mm)	Kostanj (mm)	Češnja (mm)	Gaber (mm)	Javor (mm)
Klorofil b	6	5	7	5	4	6
Klorofil a	7	6	8	7	5	7
Ksantofili	3	4	7	6	4	8
Karoteni	1	1	1	1	1	1

3. Izračun retencijskih faktorjev

Tabela 3: Retencijski faktorji barvil jesenskih listov v septembru

Barvila	Hrast	Bukev	Kostanj	Češnja	Gaber	Javor
Klorofil b	0,3	0,3	0,4	0,3	0,3	0,4
Klorofil a	0,5	0,5	0,6	0,5	0,5	0,5
Ksantofili	0,6	0,7	0,8	0,7	0,6	0,7
Karoteni	1	1	1	1	1	1

3.5 EKSTRAKCIJA BARVIL IN PAPIRNA KROMATOGRAFIJA V MESECU OKTOBRU

Tudi v mesecu oktobru so bili postopki ekstrakcije barvil iz zelenih listov in postopki papirne kromatografije povsem enaki kot v mesecu septembru. Le rezultati so bili nekoliko drugačni.

UGOTOVITEV PO EKSTRAKCIJI

4. Ekstrakti jesenskih listov v mesecu oktobru so bili zeleno rumeni.

UGOTOVITVE PO PAPIRNI KROMATOGRAFIJI

1. Količina klorofila a in klorofila b se je zelo zmanjšala v primerjavi z mesecem septembrom. Zato so se pri ekstrakciji boljše izločala rumena barvila, katerih pasovi so se v kromatogramu rahlo povečali. V kromatogramih kostanja, češnje, bukve in gabra smo opazile tudi rdeče rjava barvila, ki so ostajala na sredini kroga po papirni kromatografiji.
2. Največ klorofila a in klorofila b je bilo v listih hrasta, nekoliko manj pa v listih češnje in kostanja. Izrazito veliko karotenov je bilo v listih javorja in kostanja. Opazile smo, da se v kromatogramih, ki jih hranimo dalj časa, rumena in oranžna barvila ohranjajo bolje kot zelena barvila.

3.6 EKSTRAKCIJA BARVIL IN PAPIRNA KROMATOGRAFIJA V MESECU NOVEMBRU

V mesecu novembru je jesen že pokazala zobe. Dnevi so se močno skrajšali in dnevne temperature znižale. Spremembe so se v naravi že močno odražale in mesec november po pravici zasluži ime listopad. Poskuse smo opravljale 10. novembra v popoldanskem času. Žal nismo mogle nabrati listov vseh izbranih dreves, saj je bukev liste že odvrгла. Zato smo bile prisiljene izvesti ekstrakcijo in papirno kromatografijo le s petimi vrstami jesenskih listov.

UGOTOVITVE PO EKSTRAKCIJI

Čeprav so bili postopki povsem enaki kot pri poskusih v mesecu septembru in oktobru, je bila barva ekstrakta iz listov izrazito rumenkasta, razen pri češnji, kostanju in javorju.

Slika 20: Ekstrakti barvil listov v novembru



UGOTOVITVE PRI PAPIRNI KROMATOGRAFIJI

1. Jesenski listi so bili skoraj brez zelenih barvil. V njih so prevladovali rumeni, rjavi in rdečkasti odtenki.
2. Iz kromatogramov smo ugotovile, da je klorofil b povsem izginil, klorofil a pa je ostal je le v tankem pasu. Dobro so bila vidna rumena in oranžna barvila. Klorofil a smo opazile le pri kostanju, češnji in javorju. V raziskavo je bilo zajetih le pet vrst listov, saj je bukev liste že odvrгла.

Slika 21: Kromatogrami barvil listov v novembru

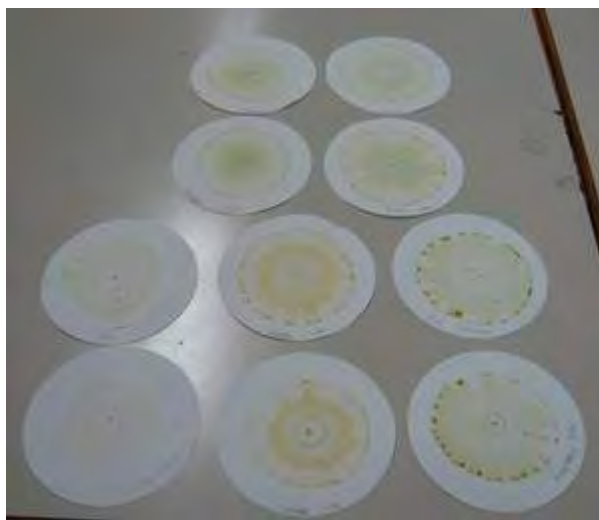


Tabela 6: Širina pasov posameznih barvil v mm v listih v novembru

Barvila	Hrast (mm)	Bukev (mm)	Kostanj (mm)	Češnja (mm)	Gaber (mm)	Javor (mm)
Klorofil b	0	0	0	0	0	0
Klorofil a	0	0	3	6	0	4
Ksantofili	8	0	8	12	7	10
Karoteni	1	0	3	2	2	2

Tabela 7: Retencijski faktorji barvil jesenskih listov v novembru

Barvila	Hrast	Bukev	Kostanj	Češnja	Gaber	Javor
Klorofil b	0	0	0	0	0	0
Klorofil a	0	0	0,4	0,4	0	0,5
Ksantofili	0,7	0	0,7	0,6	0,7	0,7
Karoteni	1	0	1	1	1	1

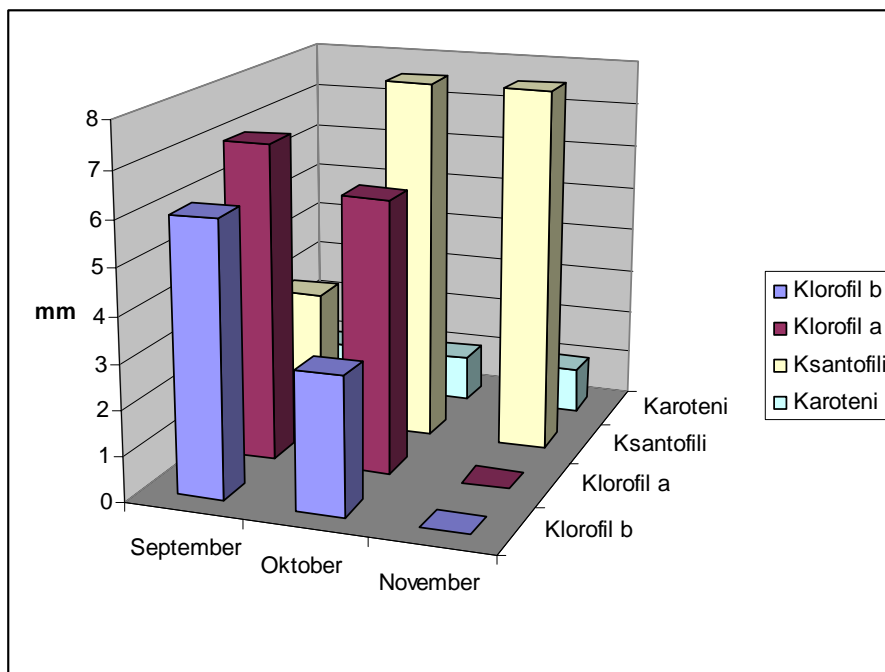
3.7 ANALIZA REZULTATOV RAZISKOVALNEGA DELA

HRAST

Tabela 8: Količina barvil v listih hrasta v posameznih mesecih

Mesec/barvilo	Klorofil b (mm)	Klorofil a (mm)	Ksantofili (mm)	Karoteni (mm)
September	6	7	3	1
Oktober	3	6	8	1
November	0	0	8	1

Graf 1: Spreminjanje barvil v jesenskih listih hrasta



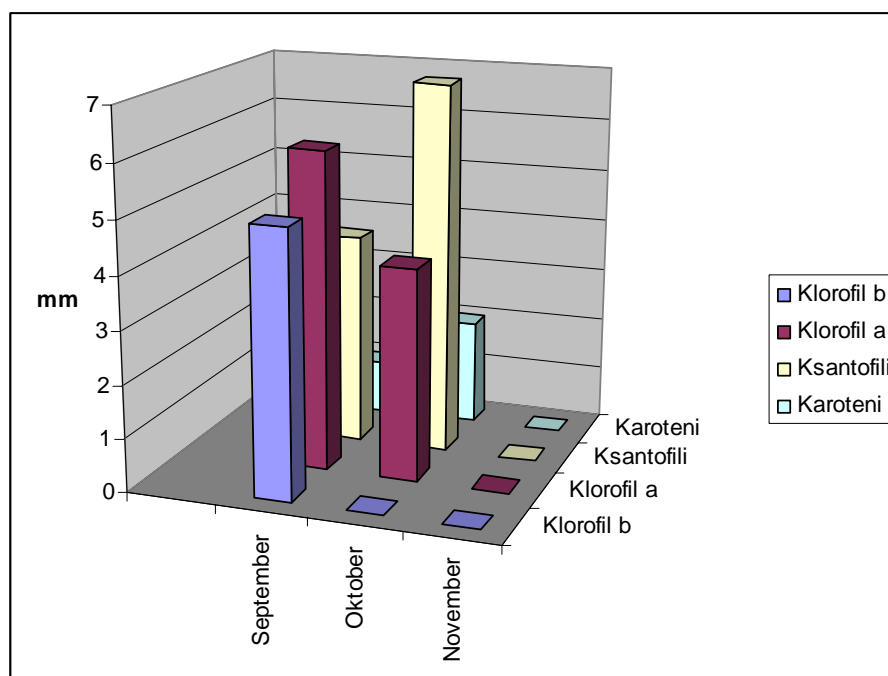
V mesecu septembru smo iz kromatogramov barvil hrastovih listov ugotovile, da je v tem času največ klorofila a in b, lepo so se ločili tudi ksantofili in karoteni. Od septembra do novembra se je količina klorofila a in b močno zmanjšala, zato so prišli bolj do izraza ksantofili in karoteni. To je posledica dejstva, da so se rumena in oranžna barvila lažje ekstrahirala s pomočjo topil, saj je bilo zelenih barvil v listih hrasta manj. V mesecu novembru listi hrasta klorofilov niso več vsebovali.

BUKEV

Tabela 9: Količina barvil v listih bukve v posameznih mesecih

Mesec/barvilo	Klorofil b (mm)	Klorofil a (mm)	Ksantofili (mm)	Karoteni (mm)
September	5	6	4	1
Oktober	0	4	7	2
November	0	0	0	0

Graf 2: Spreminjanje barvil v jesenskih listih bukve



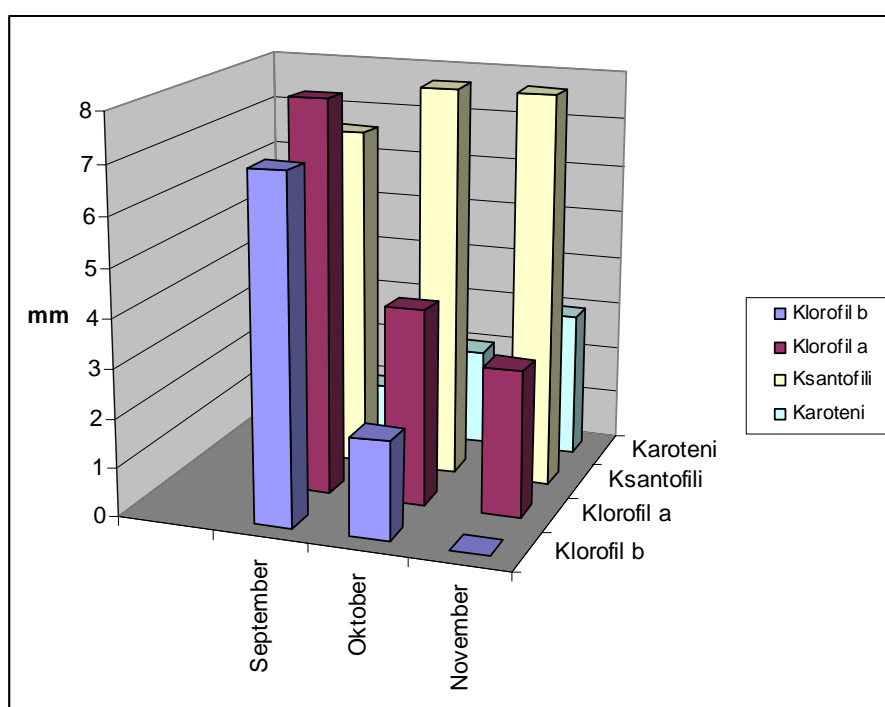
V listih bukve smo prisotnost barvil ugotavljale le v septembru in oktobru. Količina klorofila b je močno upadla že v mesecu oktobru. Tanek pas klorofila a smo opazile na kromatogramu tudi pri drugi ekstrakciji v mesecu oktobru, vendar so prevladovala rumena in oranžna barvila. V vseh kromatogramih listov bukve, tako v septembru in oktobru, smo opazile rjava barvila, ki s kromatografskim topilom niso potovala, temveč so ostajala na mestu nanosa v središču kromatograma.

KOSTANJ

Tabela 10: Količina barvil v listih kostanja v posameznih mesecih

Mesec/barvilo	Klorofil b (mm)	Klorofil a (mm)	Ksantofili (mm)	Karoteni (mm)
September	7	8	7	1
Oktober	2	4	8	2
November	0	3	8	3

Graf 3: Spreminjanje barvil v jesenskih listih kostanja.



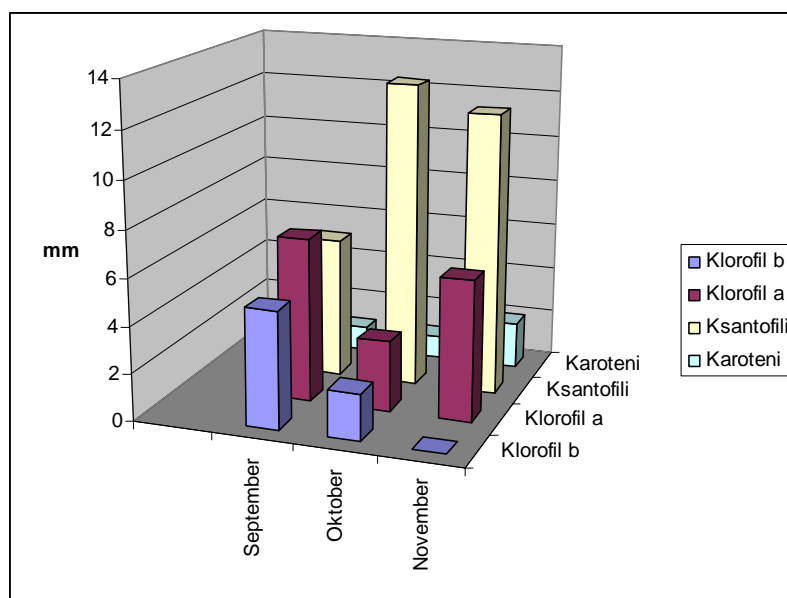
Kostanjevi listi so bili v mesecu septembru še zelo zeleni. Iz njih smo ekstrahirale opazne količine zelenih in rumenih barvil, ki so se jasno ločila v kromatogramih. V ostalih jesenskih mesecih se je količina zelenih barvil opazno znižala. Ugotovile smo, da je klorofil a bolj obstojen kot klorofil b. Še bolj obstojna barvila pa so ksantofili in karoteni.

ČEŠNJA

Tabela 11: Količina barvil v listih češnje v posameznih mesecih

Mesec/barvilo	Klorofil b (mm)	Klorofil a (mm)	Ksantofili (mm)	Karoteni (mm)
September	5	7	6	1
Oktober	2	3	13	1
November	0	6	12	2

Graf 4: Spreminjanje barvil v jesenskih listih češnje



Septembra so bila barvila v zelenih listih češnje enakomerno zastopana. Ker nismo jemale listov vedno z istega drevesa, so se pri meritvah v ostalih jesenskih mesecih pokazali nekoliko odstopajoči rezultati v primerjavi z ostalimi jesenskimi listi. Klorofila a je bilo v oktobru manj kot v novembru. Če drevo uspeva v kakšni zatišni legi, kjer je dovolj svetlobe, liste dalj časa zadrži in najbrž tudi dalj časa v njih ohranja zelena barvila.

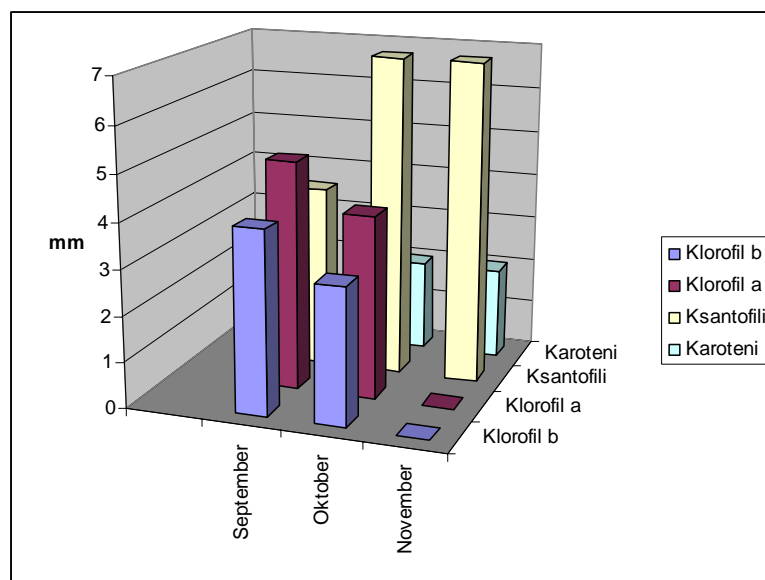
Pri češnji smo naredile še eno napako. Listi češnje v mesecu septembru in oktobru so bili z drevesa divje češnje. Ker divja češnja že zelo zgodaj odvrže liste, smo v mesecu novembru za poskus vzele liste domače češnje, zato rezultati poskusov niso primerljivi.

GABER

Tabela 12: Količine barvil v listih gabra v posameznih mesecih

Mesec/barvilo	Klorofil b (mm)	Klorofil a (mm)	Ksantofili (mm)	Karoteni (mm)
September	4	5	4	1
Oktober	3	4	7	2
November	0	0	7	2

Graf 5: Spreminjanje barvil v jesenskih listih gabra



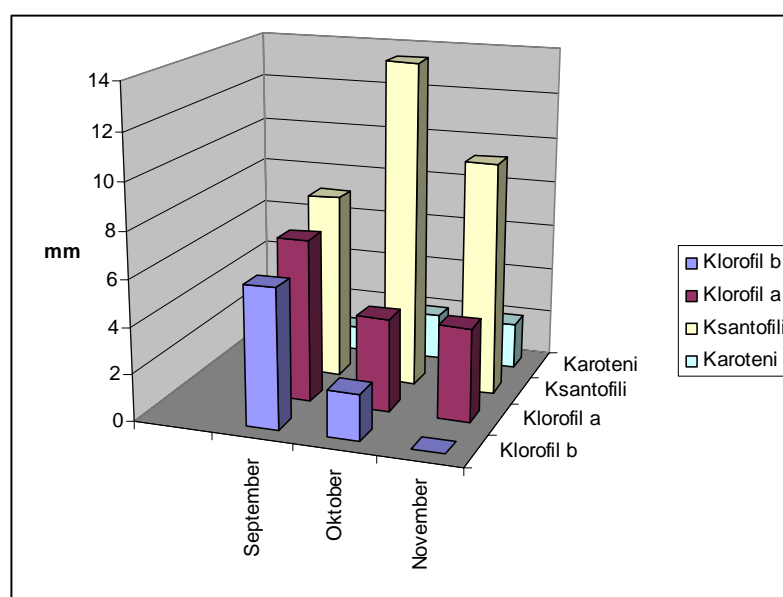
Tudi v listih gabra je postopoma padala količina zelenih barvil in navidezno rasla količina rumenih in oranžnih barvil. V mesecu novembru so listi povsem spremenili barvo v rumeno rjave odtenke, v postopku papirne kromatografije so se zato v kromatogramu pojavili le ksantofili in karoteni.

JAVOR

Tabela 13: Količina barvil v listih javorja v posameznih mesecih

Mesec/barvilo	Klorofil b (mm)	Klorofil a (mm)	Ksantofili (mm)	Karoteni (mm)
September	6	7	8	1
Oktober	2	4	14	2
November	0	4	10	2

Graf 6: Spreminjanje barvil v jesenskih listih javorja



Tudi javor je imel septembra še lepo zeleno obarvane liste, zato je kromatogram vseboval klorofil a, klorofil b, ksantofile in karotene. V mesecu oktobru je močno upadla količina zelenih barvil, zato so se pri ekstrakciji uspešneje izločala rumena barvila, ki na oktobrskem kromatogramu predstavljajo poudarjen pas. Klorofil a se je v listih javora ohranil celo do novembra.



Slika 22: List javorja

3.8 POTRDITEV HIPOTEZ

Po končanem eksperimentalnem delu in ureditvi podatkov smo preučile veljavnost naših hipotez.

Domnevale smo, da so nepolarna topila primernejša za ekstrakcijo barvil iz jesenskih listov kot polarna topila. Eksperiment je pokazal, da za ekstrakcijo potrebujemo tako nepolarna kot tudi malo polarna topila. V zelenih listih je več različnih barvil. Vsako barvila ima svojo značilno kemijsko strukturo. Karotenom in ksantofilom bolj ustrezajo nepolarna topila, klorofilom pa malo polarna.

Predpostavljale smo, da količina klorofila v listih v jeseni postopno upada, količina drugih barvil pa narašča. Tudi ta hipoteza ni povsem točna. Ugotovile smo, da količina klorofilov res upada v jesenskem času, vendar se količina rumenih barvil zaradi tega ne večja, le bolje se ekstrahirajo, saj ekstrakcije ne motijo zelena barvila. Edina barvila, ki v jeseni v listih na novo nastajajo, so rdeča barvila, ki smo jih s pomočjo papirne kromatografije le redko ločevale.

Predvidevale smo, da lahko s pomočjo papirne kromatografije iz jesenskih listov različnih listavcev ločimo vsaj 4 barvila. Hipotezo lahko v celoti potrdimo, saj smo v kromatogramu največkrat ločile klorofil a, klorofil b, ksantofile in karotene. Le izjemoma so se na kromatogramih pojavila rjava in rdeča barvila.

Predpostavljale smo, da poteka razkrajanje klorofila v jeseni pri različnih listavcih različno hitro. Analize meritev so pokazale, da imajo nekateri listavci v jeseni liste dalj časa zelene, drugi pa hitreje izgubijo klorofile. Najdlje sta zeleno barvilo ohranila javor in kostanj. Rezultatov divje češnje pa zaradi napake pri izvedbi ne moremo upoštevati. Poudariti moramo, da lahko na daljšo prisotnost klorofilov vpliva tudi lega drevesa, na primer če raste v bolj zatišni legi, kjer ga vremenske nelagodnosti ne dosežejo tako hitro.

4 ZAKLJUČEK

Lepo se v notranjosti skriva. Tako na zunaj zeleni listi v svoji notranjosti skrivajo bogato paletu barvil. Večino leta vidimo le zelena barvila, čeprav so v notranjosti lista tudi druga, vidna le v jesenskem času. Prav zaradi tega nas je ta raziskovalna tema močno pritegnila, zato smo z navdušenjem prihajale do novih spoznanj, ki so nas navdihovala za raziskovalno delo.

Pri tem ni šlo brez težav. Postopki so bili zelo dolgotrajni in so zahtevali natančnost v izvedbi in beleženju rezultatov, kar iz samega pouka nismo ravno vajene. Včasih smo morale del poskusov narediti pred poukom in rezultate opisati ter zabeležiti po pouku. Ker imamo še druge obveznosti, smo težko uskladile čas. Dobra je bila odločitev, da smo raziskovalno nalogo izvajale kar tri članice. Tako sta si vsaj dve lahko vzeli čas za nujno dokončanje eksperimentalnega dela. Poudariti želimo, da je za raziskovalno delo potrebno žrtvovati veliko prostega časa, kar zaradi našega zanimanja seveda ni težko.

Tudi nekaj strokovnih napak, ki smo jih že omenjale, smo naredile. Žal smo na njih postale pozorne šele pri analizi rezultatov eksperimentalnega dela. Natančno bi se morale dogovoriti, kako nabirati liste dreves v gozdu. Glede tega obstajata dve različici. Po prvi, ki smo se je tudi v glavnem držale, bi liste nabirale iz različnih dreves iste vrste. Tako bi se izognile vplivu različnih dejavnikov okolja, ki na rast enega drevesa ugodneje vpliva kot na drugega. Po drugi različici pa bi poiskale v gozdu neko območje s čim več različnimi vrstami dreves. Predpostavljale bi, da so dejavniki okolja na tem mestu za vsa drevesa enaki. Nato bi izbrale posamezna drevesa, s katerih bi nabirale liste od septembra do novembra. Le tako bi lahko dovolj natančno ugotovile, v katerih listih se posamezna barvila najdlje zadržujejo. Nikakor pa ne smemo med raziskovanjem zamenjati vrste drevesa. Z divje češnje so res v preteklosti vzgojili gojene vrste domačih češenj, drevesi sta res dokaj podobni, še vedno pa sta to dve različni vrsti rastlin.

Žal nam je, ker nismo spoznale tankoplastne kromatografije, s pomočjo katere se barvila iz listov še lepše ločijo. Iz strokovnih člankov smo razbrale, da se s to metodo lepše ločijo tudi rdeča barvila v listih. Toda nič še ni zamujenega. Naravna barvila niso samo v listih, ampak so tudi v drugih delih rastlin, na primer v cvetovih. Morda bi v prihodnje kazalo izbrati kakšne posebej lepo obarvane cvetove in s pomočjo tankoplastne kromatografije analizirati barvila v njih.

5 LITERATURA IN VIRI

Brencel, A., Glažar, A., Jenžekovič, F., Slavinec, M., Svečko, M., Turk, T. 2003: *Naravoslovje za 7. razred devetletne osnovne šole*. Ljubljana: DZS.

Glažar, A., Slavinec, M., Kralj, M. 2004: *Naravoslovje za 6. razred devetletne osnovne šole*. Ljubljana: DZS.

Drašler, J., Gogala, N., Povž, M., Sušnik, F., Vrčkovnik, T., Vesel, B. 1997: *Biologija, Navodila za laboratorijsko delo*. Ljubljana: DZS.

Boh, B., Ferk, V., Cvirn, T. 2000: *Barvila in naravna barvila*. Ljubljana: TZS

Boh, B., Ferk, V., Cvirn, T. 2000: *Barvila in naravna barvila* (delovni zvezek). Ljubljana: TZS.

http://naravoslovje.slohosting.com/rastlinska_celica.htm, 12. 12. 2008

http://www.educa.fmf.uni-lj.si/izodel/sola/2002/di/zorman/SN/list_sredica.htm#lokacija3, 12. 12. 2008

<http://znanost-gre-v-solo.biologija.org/gradiva-projekt/razno/Vilhar-Proteus-jeseni-listi.pdf>, 12. 12. 2008

http://sl.wikipedia.org/wiki/Slika:Chlorophyll_a.svg, 12. 12. 2008