**Isolatie en dunne laag chromatografie van chlorofyl uit spinazie**

**Nodig:**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 250 mL bekerglas | Horlogeglas groot | Watervrij natriumsulfaat |
| Mortier+stamper | **Horlogeglas klein** | **Enkele korreltjes Mg(NO3) ter conservering** |
| Trechter met wattenfilter | **Capillaire buisjes** | **Loopvloeistof aceton: wasbenzine 3 : 7** |
| Wegwerppipet 1,0 ml | **Aceton** | **Verse spinazie** |
| TLC plaatjes (silica) | **Hexaan of wasbenzine** | **Verzadigde NaCl-oplossing (brijn)** |

Uitvoering:

**Extractie**

* Ca. 2 gram gewassen en afgedroogde spinaziebladeren in kleine stukje knippen overbrengen in mortier
* 3 mL aceton toevoegen en mengsel grondig malen in mortier.
* Oplossing afpipetteren met 1,0 ml plastic pipet over wattenfilter; dit bestaat uit een klein plukje watten in de hals van de trechter; filtraat opvangen in reageerbuis.
* 3 mL verse aceton toevoegen aan residu in mortier en weer grondig malen
* Oplossing weer afpipetteren met 1,0 ml plastic pipet over zelfde wattenfilter.
* 3 mL verse aceton + 5 ml hexaan toevoegen aan residu in mortier en weer grondig malen
* Oplossing weer afpipetteren met 1,0 ml plastic pipet over zelfde wattenfilter.
* Werktijd 25 minuten.

**Het residu dat nu achter blijft is vaal groen.**

**Opwerken**

* Voeg 3 mL brijn toe aan de reageerbuis met verzamelde filtraten.
* Goed schudden met stop op de buis. Regelmatig even de stop eraf om overdruk te voorkomen door de vluchtige oplosmiddelen.
* Nog 3 mL brijn toevoegen de reageerbuis laten staan totdat twee lagen zijn verkregen. (De bovenste laag is de organische laag en is donkergroen; de onderste laag is de waterlaag en is lichtgroen)
* Zuig mbv een wegwerppipet 1,0 ml de bovenste laag af en breng deze over in een schone droge reageerbuis.
* Voeg twee grote spatelpunten watervrij natriumsulfaat toe en schud het mengsel (dit is nodig om sporen water te verwijderen).
* Filtreer het mengsel mbv een papieren filter
* Bewaar het filtraat in afgesloten buis omwikkelt met Aluminiumfolie en voeg enkele korreltjes Mg(NO3)2 toe ter conservering.
* Werktijd 20 minuten.

**Dunne-laag chromatografie**

* Trek een potloodlijn ca. 1 cm van de onderste rand van de TLC plaat
* Gebruik een capillair om wat chlorofyl oplossing vanuit een klein horlogeglas als een stipje links en rechts net boven de startlijn aan te brengen.
* Wacht totdat oplosmiddel is verdampt.
* Voeg op dezelfde plek op dezelfde manier nog wat chlorofyl oplossing.
* Herhaal deze stappen totdat een duidelijke zichtbaar gekleurde vlek blijft bestaan.
* Werktijd 20 minuten.
* Vul het bekerglas met ca 0,5 cm. Van de loopvloeistof (mengsel wasbenzine : aceton = 7 : 3
* Leg horlogeglas op het bekerglas.
* Zet het TLC plaatje schuin in het bekerglas zodat het niet kan verschuiven . Zorg ervoor dat de stip niet onder het vloeistofniveau komt. Als dat wel het geval zal zijn, wat loopvloeistof uit het bekerglas verwijderen mbv een pipet.
* Leg horlogeglas op het bekerglas.
* Laat de loopvloeistof doorlopen tot ca 1 cm onder de bovenrand van het TLC plaatje en haal deze dan uit het bekerglas.
* Werktijd 25 minuten.