



Avtorja: Kornelia Žarić in Nika Golob

Institucija: Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru

Kromatografija: Tekmovanje kroglic

Strategija (metoda):

raziskovalni pristop, metoda reševanja problemov, eksperimentalno delo

Starostna skupina, razred (vrsta srednje šole):

vrtec, 1. – 9. razred OŠ, SŠ (gimnazija)

Kompetence, ki se razvijajo:

a) generične:

- ✓ sposobnost za opazovanje;
- ✓ razvijanje kompleksnega mišljenja z reševanjem enostavnih realnih problemov;
- ✓ sposobnost iskanja, razvrščanja, urejanja, analiziranja informacij;
- ✓ sposobnost interpretacije;
- ✓ sposobnost sinteze zaključkov;
- ✓ razvijanje komunikacijskih spretnosti;
- ✓ sposobnost za posploševanje in uporabo pridobljenih spoznanj;
- ✓ prenos teorije v prakso;
- ✓ uporaba matematičnih idej in tehnik;
- ✓ prilagajanje novim situacijam;
- ✓ skrb za kakovost;
- ✓ sposobnost samostojnega in timskega dela;
- ✓ organiziranje in načrtovanje dela;

b) predmetno-specifične:

- ✓ natančnost in zanesljivost pri opazovanju, zapisovanju, obdelavi in predstavitvi eksperimentalnih opažanj, podatkov in rezultatov pri izvedbi papirne kromatografije ter eksperimenta s kromatografskim simulatorjem;
- ✓ sposobnost analize in vrednotenja eksperimentalnih opažanj pri preučevanju kromatogramov, ;
- ✓ sposobnost logičnega sklepanja pri opredeljevanju mobilne in stacionarne faze pri papirni in kolonski kromatografiji ter kromatografskem simulatorju;
- ✓ razvijanje odgovornega odnosa do varnega eksperimentalnega dela in skrb za kemijsko varnost;
- ✓ sposobnost reševanja realnih problemov na temo pesticidi v pitni vodi;
- ✓ sposobnost pisne in ustne interpretacije različnih spoznanj, ugotovitev, stališč v zvezi z različnimi tehnikami ločevanja snovi



(različne vrste kromatografije – papirna, kolonska, plinska, tankoplastna);

Umestitev v učni načrt/Nova vsebina:

Ločevanje snovi, Kromatografija

Način evalvacije:

Eksperimentalna študija s kontrolno in eksperimentalno skupino, fenomenografska metoda



STOPNJA IZOBRAŽEVANJA / PREDMET	UČNI CILJI	PREDLAGANE AKTIVNOSTI	METODE DELA	OBLIKE DELA
Vrtec	<ul style="list-style-type: none">➤ opazovati izvedbo delovanja kromatografskega simulatorja;➤ odgovarjati na preprosta učiteljeva vprašanja o razvrščanju kroglic v učilu;➤ povezovati dogajanje pri poskusu z lastnimi izkušnjami;	Poskus z učilom. Možganska nevihta (Kaj se dogaja pri poskusu ?). Nizanje asociacij (Na kaj te spominja dogajanje pri poskusu ?)	Demonstracijski eksperiment učitelja Voden razgovor	Frontalno delo
OSNOVNA ŠOLA 1. triletje				
1. – 3. razred / Spoznavanje okolja	<ul style="list-style-type: none">➤ razvrščati in prešteti lego kocke po velikosti, številu in barvah;➤ ustvarjati vrste iz lego kock različnih velikosti, števila in barv;➤ oblikovati in izpolniti preglednico glede na velikost, število in barvo lego kock;➤ povezati pridobljeno znanje o razvrščanju lego kock na ločevanje gospodinjskih odpadkov;➤ primerjati, kako se bodo razvrstile kroglice pri delovanju učila v povezavi z lego kockami;➤ odgovarjati na vprašanja zapisana na opazovalnih listih.	Raziskovalne igre z lego kockami. Ločeno zbiranje gospodinjskih odpadkov. Poskus z učilom.	Reševanje problemov Strukturiranje podatkov v sisteme Demonstracijski eksperiment učitelja Voden razgovor	Individualno delo Skupinsko delo Frontalno delo



STOPNJA IZOBRAŽEVANJA / PREDMET	UČNI CILJI	PREDLAGANE AKTIVNOSTI	METODE DELA	OBLIKE DELA
OSNOVNA ŠOLA 2. triletje				
4. – 5. razred / Naravoslovje in tehnika	<ul style="list-style-type: none"> ➤ opazovati poskus ločevanja snovi s peščenim filtrom in z učilom; ➤ spoznati, da je mogoče zmesi ločiti na različne načine; ➤ zapisovati podatke ob opazovanju poskusa s peščenim filtrom in z učilom; ➤ napovedovati, postaviti hipoteze o pravilu razvrščanja kroglic v učilu glede na velikost, maso, itd. 	<p>Eksperiment – čiščenje vode s peščenim filtrom.</p> <p>Poskus z učilom.</p> <p>Reševanje nalog za preverjanje razumevanja.</p>	<p>Eksperimentalno delo učencev</p> <p>Demonstracijski eksperiment učitelja</p> <p>Reševanje problemov</p> <p>Voden razgovor</p>	<p>Skupinsko delo</p> <p>Frontalno delo</p> <p>Individualno delo</p>
6. razred / Naravoslovje 6	<ul style="list-style-type: none"> ➤ seznaniti se s postopkom papirne kromatografije in ga samostojno izvesti; ➤ (pre)poznati stacionarno in mobilno fazo; ➤ znati interpretirati kromatogram in oblikovati zaključne ugotovitve / sklepe. ➤ primerjati postopek poskusa z učilom ter izvedbo papirne kromatografije. 	<p>Ločevanje barvnih sestavin v barvilo – krožna kromatografija barvil iz flomastrov ali kromatografija na traku filtrir. papirja. Poskus z učilom.</p>	<p>Eksperimentalno delo učencev</p> <p>Voden razgovor</p> <p>Demonstracijski eksperiment učitelja</p>	<p>Skupinsko delo</p> <p>Frontalno delo</p>



STOPNJA IZOBRAŽEVANJA / PREDMET	UČNI CILJI	PREDLAGANE AKTIVNOSTI	METODE DELA	OBLIKE DELA
OSNOVNA ŠOLA 3. triletje				
7. razred / Naravoslovje 7	<ul style="list-style-type: none">➤ spoznati ekstrakcijo kot tehniko ločevanja snovi iz zmesi;➤ izbrati primerno topilo za ekstrakcijo barvil iz različnih listov;➤ spoznati kromatografijo kot pomembno tehniko čiščenja in ločevanja zmesi, kakor tudi tehniko za analizo naravnih in sinteznih snovi;	Ekstrakcija barvil iz različnih listov in papirna kromatografija. Poskus z učilom.	Eksperimentalno delo učencev Voden razgovor Demonstracijski eksperiment učitelja	Skupinsko delo Frontalno delo
8. – 9. razred / Kemija	<ul style="list-style-type: none">➤ spoznati in razumeti teoretične osnove kromatografije, znati razlikovati med mobilno, stacionarno fazo➤ znati uporabljati papirno in tankoplastno kromatografijo za ločevanje in analizo zmesi,➤ sestaviti plinski mikrokromatograf in optimizirati njegovo delovanje;➤ navajati se na varno izvajanje poskusov in pravilno odlaganje preostankov eksperimentalnega dela.	Ekstrakcija barvil iz različnih listov in papirna kromatografija na krogu. Kolonska kromatografija (silikagel + zmes barvil). Poskus z učilom.	Eksperimentalno delo učencev Voden razgovor Eksperimentalno delo učitelja Demonstracijski eksperiment učitelja	Skupinsko delo Skupinsko delo Frontalno delo



STOPNJA IZOBRAŽEVANJA / PREDMET	UČNI CILJI	PREDLAGANE AKTIVNOSTI	METODE DELA	OBLIKE DELA
GIMNAZIJA				
Gimnazija / Kemija	<ul style="list-style-type: none">➤ spoznati različne vrste kromatografije kot separacijske metode;➤ samostojno izvajati poskuse z učilom in posamezno vrsto papirne kromatografije;➤ seznaniti se in razumeti profesionalne tehnike ločevanja snovi (plinska kromatografija z masno spektroskopijo na ZZZM);➤ iskanje rešitve realnih problemov (pesticidi v pitni vodi);➤ spodbujati prijazen odnos do okolja (okoljska osveščenost).	Papirna kromatografija aminokislin. Poskus z učilom. Strokovna ekskurzija na Zavod za zdravstveno varstvo Maribor (monitoring pitne vode (pesticidi v pitni vodi) – plinska kromatografija z masno spektroskopijo)	Eksperimentalno delo dijakov Demonstracijski eksperiment učitelja Vodeno aktivno delo z raziskovanjem Voden razgovor	Skupinsko delo Frontalno delo Individualno & Timsko delo

Predstavitev učila – Kromatografski simulator

Izdelano učno gradivo vključuje tudi demonstracijske eksperimente učitelja z učilom poimenovanim **Kromatografski simulator**, katerega idejna avtorica je dr. Nika Golob, izdelalo pa ga je podjetje NT BROG, Damjan Osrajnik v okviru nacionalnega projekta "Razvoj naravoslovnih kompetenc" v decembru 2009.

Ideja za razvoj izdelka temelji na novem načinu eksperimentalnih predstavitev zanimivih in poučnih kemijskih vsebin ter dejstvu, da se pri pouku uporabijo novi didaktični pripomočki oz. učila. Konkretno s tem učilom smo hoteli omogočiti lažje razumevanje zahtevnejših vsebin (kromatografija), pri čemer je poudarjena povezava med teoretičnim znanjem in njegovo uporabo v praksi.

Namen

Simulator na enostaven in zabaven način predstavlja kolonsko kromatografijo; tehniko separacije različnih komponent v zmesi. Kolona oz. **stacionarna faza** je sestavljena iz **ping pong žogic**, ki se nahajajo v akrilni cevi. **Zrak** lahko predstavlja **mobilno fazo** in **zmes za ločevanje** oz. vzorec predstavljajo **kroglice** različnih velikosti in mas.



Primeri uporabe

Učilo je dobrodošel pripomoček za razlago eksperimentalnega dela pri pouku na različnih stopnjah šolanja, kot na primer:

- ločevanje obarvanih zmesi s papirno in tankoplastno kromatografijo** (črnila, barve za hrano: vitaminske tablete, bonbone, barve za lase in tekstil, ekstrakti cvetov ipd.)

- ekstrakcija in ločevanje barvil v zelenih in rdečih listih** ter ločevanje s tankoplastno kromatografijo

- analiza aminokislin, mono- in disaharidov** s tankoplastno kromatografijo

- analiza halogenoogljikovodikov** s plinskim mikro kromatografom

- konstrukcija mikro plinskega kromatografa** in optimizacija delovanja ter uporaba v analizi halogenoalkanov

Učilo je seveda možno uporabiti tudi samostojno, brez eksperimentalnega dela **za razvijanje raziskovalnega dela**, kjer morajo učenci na podlagi **poskušanj različnih vzorcev zmesi** (različno izbranih kroglic glede na velikost in maso) **ugotoviti pravilo**. Ugotovljeno pravilo v grobem velja tudi



pri večini eksperimentalnih nalog z realnimi zmesmi pri določeni kromatografski metodi.

prikaz kromatografskega simulatorja

Kromatografija – teoretične osnove

Kromatografijo je izumil Mikhail Tswett na začetku 20. stoletja. Metodo je sprva uporabljal za ločevanje rastlinskih pigmentov, kot so klorofili in ksantofili tako, da je njihovo raztopino uvajal v steklen stolp, napolnjen z drobno obarvanimi odseki kolone, iz česar izhaja tudi ime metode: (grško je "chroma" barva, "graphein" pa pomeni pisati) (Savič, 2006). Kromatografija je torej **fizikalna metoda za ločevanje in čiščenje spojin** (trdnih, tekočih in plinastih), ki na različni porazdelitvi sestavin zmesi med stacionarno in mobilno fazo (Brouwer & Vrtačnik, 1995). Pri kromatografiranju se na kromatogramu posamezne komponente zmesi nahajajo v prostorsko ločenih conah.

V ta namen potrebujemo:

zmes, ki jo kromatografiramo,
stacionarno fazo,
mobilno fazo,
nosilec

Nosilec je snov, na katero naneseemo **stacionarno fazo**. Pri nekaterih vrstah kromatografije ima nosilec tudi vlogo stacionarne faze (npr. papirna kromatografija). (Žerjal, 1982). Pri vseh kromatografskih metodah vzorec prenesemo v **mobilno fazo**, ki je lahko plin, tekočina ali superkritični fluid. Mobilno fazo nato vodimo skozi z njo nemešljivo stacionarno fazo, ki je fiksirana v koloni ali na trdni površini. Izberemo takšni fazi, da se komponente mešanice razporedijo med mobilno in stacionarno fazo na različnih položajih (Savič, 2006). Ker imajo posamezne komponente različna razmerja afinitet do stacionarne oziroma mobilne faze, se gibljejo z različnimi hitrostmi. Posledica različnih hitrosti gibanja z mobilno fazo pa je prostorska ločitev posameznih komponent zmesi na razvitem kromatogramu. Glede na fizikalni proces, ki pri kromatografiranju prevladuje, ločujemo (Žerjal, 1982):

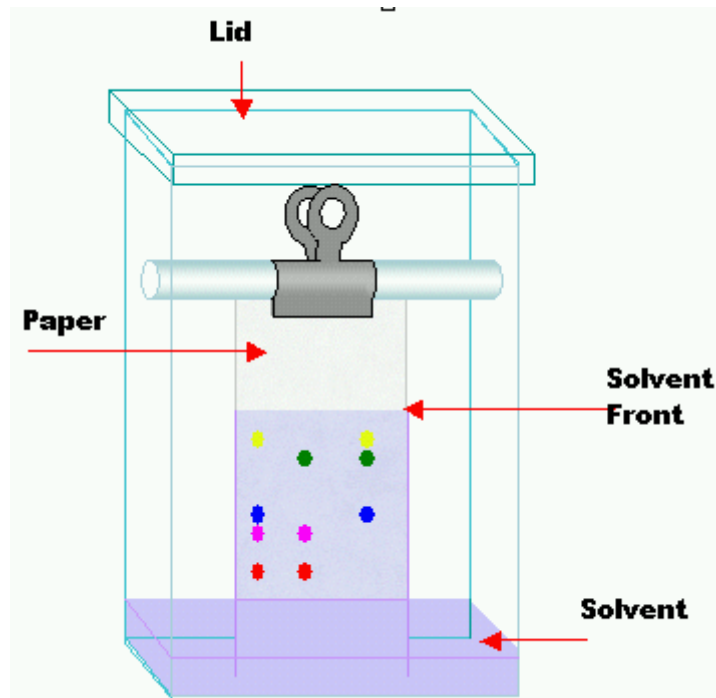
- adsorpcijsko kromatografijo** (komponente zmesi se ločujejo zaradi večkratne adsorpcije na stacionarno fazo in desorpcije v mobilno fazo),
- porazdelitveno kromatografijo** (komponente zmesi se ločujejo zaradi večkratne porazdelitve med stacionarno in mobilno fazo).

Glede na **način izvedbe** delimo kromatografijo na:

- papirno,
- tenkoplastno,
- kolonsko.

Glede na **agregatno stanje mobilne faze** pa delimo kromatografijo na:

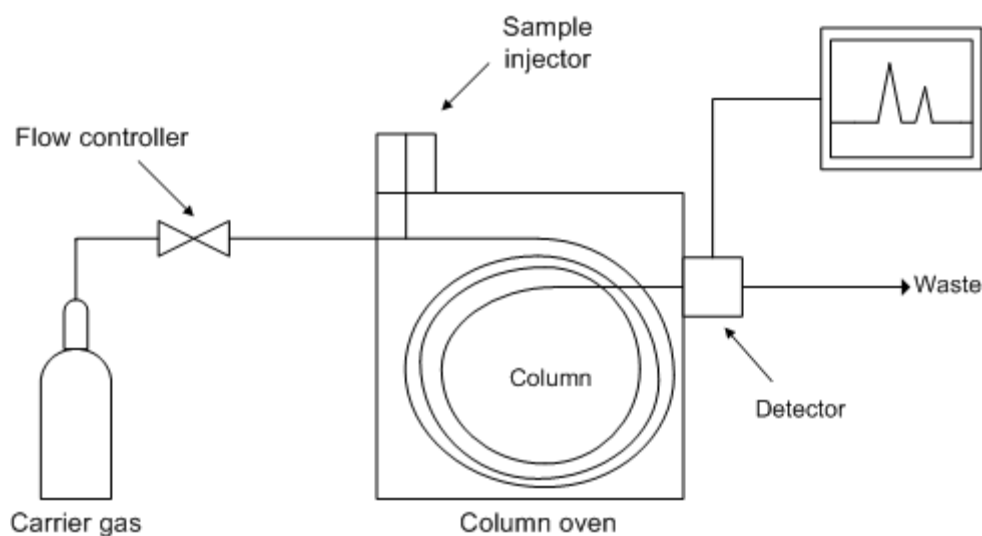
- plinsko,
- tekočo.



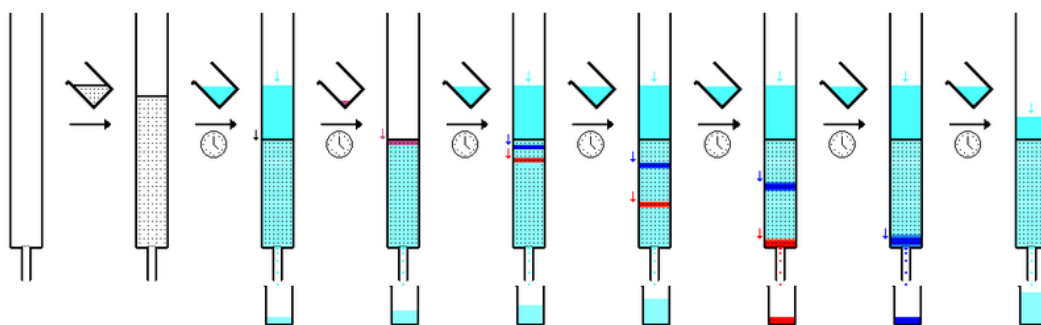
Slikovni prikaz papirne kromatografije (vir: Wikipedia)

Pri **papirni kromatografiji** je papir nosilec stacionarne faze, to je voda, mobilna faza pa je drugo topilo ali zmes topil. Mobilna faza potuje po papirju navzgor, raztopljene snovi pa se porazdelijo med njo in vodo na papirju.

Za indentifikacijo spojin na kromatogramu uporabljamo vrednost **R_f**. To je razmerje poti, ki jo opravi spojina, s potjo, ki jo opravi topilo v istem času. Če spojina potuje s fronto topila, je vrednost **R_f=1**, če spojina **ostane na štartu**, je vrednost **R_f=0**.



Slikovni prikaz plinske kromatografije (vir: Wikipedia)



Slikovni prikaz kolonske kromatografije (vir: Wikipedia)

Kromatograf pa je naprava, ki omogoča separacijo oz. ločevanje: zmesi, ki jo nosi kapljevina ali plin, loči na posamezne komponente na podlagi njihovih različnih separacijskih hitrosti v stacionarni tekoči, trdni ali plinasti fazi. Različne tehnike za separacijo kompleksnih zmesi temeljijo na diferencialnih afinitetah snovi v plinasti ali tekoči gibljivi fazi in za stacionarno absorpcijsko sredstvo, skozi katero potujejo. Takšna sredstva so papir, želatina ali magnezijev silikat.

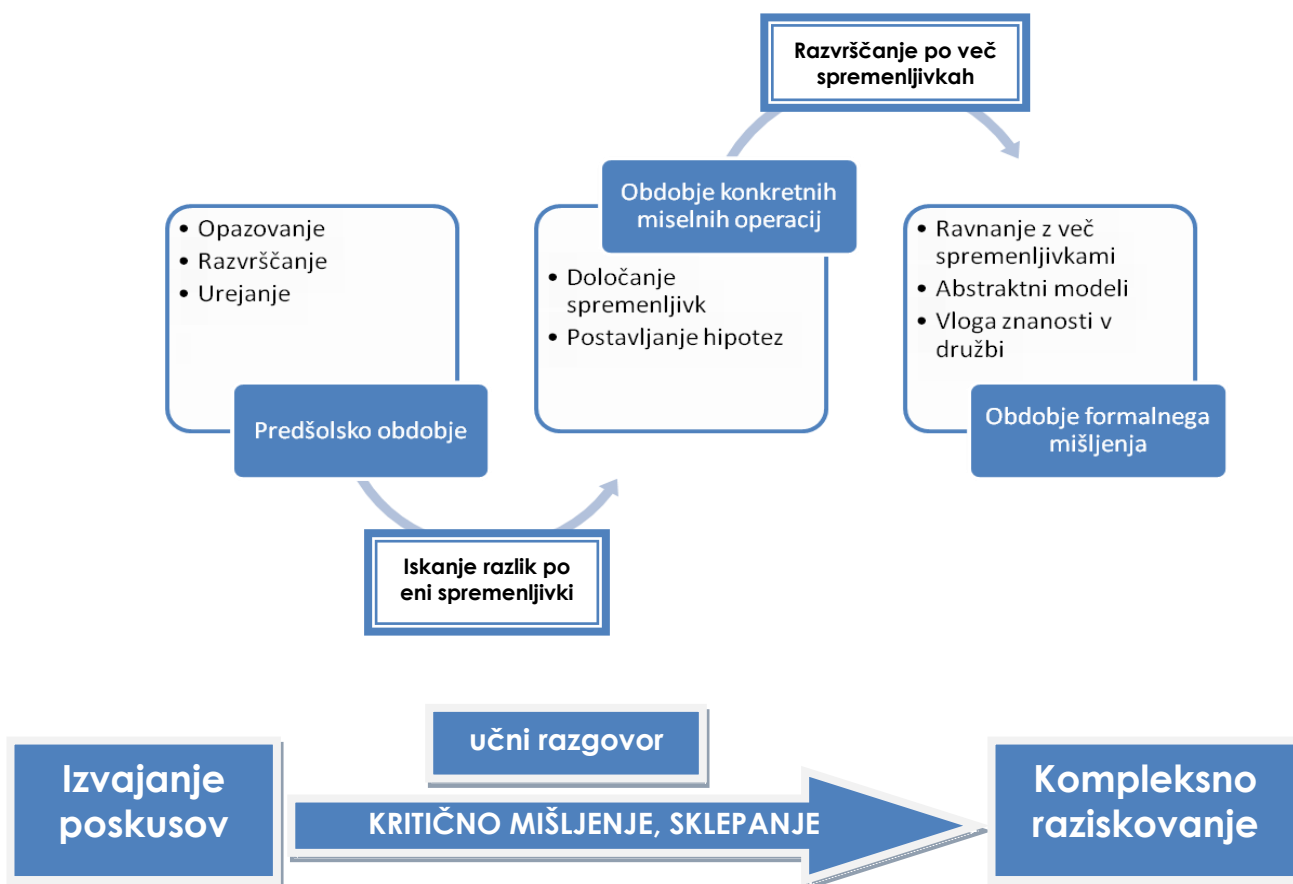
Kromatografske tehnike največ uporabljamo za:

- ugotavljanje čistosti in prepoznavanje spojin;
- preverjanje uspešnosti postopkov izolacije in čiščenja spojin in
- ločevanje zmesi, ki jih ni mogoče ločiti z ostalimi metodami kot so kristalizacija, destilacija, sublimacija in podobno.

Naravoslovni postopki

Posebnost naravoslovnega učenja je razvijanje naravoslovnih postopkov, med katere prištevamo različne dejavnosti, ki so značilne za znanstvene metode dela in s katerimi lahko odgovorimo na vprašanja, ki se pričnejo z vprašalnico kako. "Kako smo to odkrili?" Kako vem, da to drži?"

Kot opisuje Krnel¹, se naravoslovni postopki zahtevanih miselnih procesov razvijajo skladno z miselnim razvojem. Tako so v predšolskem obdobju enaki splošnim zaznavnim postopkom (razvrščanje, urejanje), v obdobju konkretnih miselnih operacij pa se razvijejo specifični postopki (določanje spremenljivk), ki v obdobju formalno – logičnega mišljenja preidejo v sposobnost ravnanja z več spremenljivkami, uporabo abstraktnih modelov in podrobnejšega razumevanja delovanja dandanašnje znanosti. Tako lahko razvoj naravoslovnih postopkov opišemo kot spiralni model razvoja. Razumemo ga kot razvoj istega postopka oz. operacije iz osnovnejših / enostavnejših v kompleksnejše dejavnosti, kar prikazuje tudi spodnji shematski zapis².



Načrt raziskave

¹ Krnel Dušan. Razvoj skupnih naravoslovnih kompetence ali naravoslovnih postopkov. Projekt RNK, Univerza v Ljubljani, Pedagoška fakulteta, 2009

² Shema 1: Spiralni model razvoja naravoslovnih postopkov (Nika Golob)



Učno gradivo se na naša na vsebinsko področje **kromatografije** in sledi predstavljenemu **spiralnemu modelu** ter na osnovi **raziskovalnega pristopa** predvideva uporabo izdelanega učila - **kromatografskega simulatorja**, kakor tudi izvedbo vzporednih aktivnosti skladnih z učnim načrtom. Raziskava je načrtovana v okviru naravoslovnega učenja in poučevanja na področju predšolskega (vrtec), osnovnošolskega (1. – 9. razred) in srednješolskega izobraževanja (gimnazija).

Poleg predstavitve teoretskih osnov na temo kromatografije, idejne zasnove izdelanega učila skupaj z možnostmi njegove uporabe, načrtom raziskave in evalvacijskim instrumentarijem, gradivo vsebuje tudi oblikovane delovne liste za učitelja na vseh omenjenih stopnjah izobraževanja, na katerih so podrobno razdelane predlagane aktivnosti (eksperimenti, naloge, demonstracije, itd.), katerih izvedba je načrtovana vzporedno z izvedbo eksperimenta s kromatografskim simulatorjem. Konkretno delovne liste za učence in dijake bosta avtorici izdelali potem, ko se bosta z učitelji – evalvatorji dogovorili, katere eksperimente bo pri pouku možno izvesti in v kakšnem časovnem obsegu. Podrobnejši opis poteka raziskave na posameznih izobraževalnih stopnjah sledi v nadaljevanju.

Predšolsko izobraževanje (vrtec)

Za predšolsko obdobje so značilni temeljni spoznavni postopki:

razvrščanje,
urejanje,
prirejanje,
razporejanje po prostoru in času in
uporaba sistemov znamenj.

Učenje razlikovanja, iskanje razlik med snovmi, bitji in pojavi predstavlja temelj naravoslovja v predšolskem obdobju. Iz razlikovanja se postopoma razvije razvrščanje, katerega osnova je iskanje podobnosti, na čemer temelji tudi načrtovana aktivnost, ki v vrtcu predvideva izvedbo eksperimenta s kromatografskim simulatorjem, ki je zasnovana iz naslednjih stopenj:

1. Otroci opazujejo kromatografski simulator, razmišljajo na kaj jih spominja, kaj predstavlja, za kaj se uporablja ter v obliki možganske nevihte nizajo asociacije, povezujejo dogajanje z lastnimi (preteklimi) izkušnjami.
2. Vzgojiteljica izvede eksperiment – spusti kroglice različnih velikosti in mase v velik valj - otroci eksperiment opazujejo ter razmišljajo, kaj se je pri tem zgodilo;
3. Otroci si pozorno ogledajo, kako so se razporedile kroglice v lij, ki je postavljen pod valjem.
4. Vzgojiteljica otroke spodbudi k preštevanju spuščениh kroglic ter razlikovanju med njihovim številom in maso.



Aktivnost poteka v frontalni obliki ob uporabi metode demonstracije in vodenega razgovora. Avtorici gradiva sta pri izvedbi eksperimenta prisotni, opazujeta vedenje otrok in zapisujeta njihova razmišljanja, odgovore, asociacije in obenem ustvarjata audio oz. video zapis celotnega dogajanja.

Osnovnošolsko izobraževanje – 1. triletje

Za razredno stopnjo je značilno, da se poglobljajo temeljni spoznavni postopki, kot so razvrščanje, prirejanje in urejanje, naštetih pa so v tesni povezavi z naravoslovnim postopkom opazovanjem. Poleg opazovanja, ki se na razredni stopnji razvije v sistematično opazovanje, se razvija še eksperimentiranje (nepristranski, objektiven poskus), ravnanje s podatki in utrjuje se veščina vpraševanja.

Predvidene aktivnosti pri predmetu **Spoznavanje okolja 1,2,3** vključujejo igro z lego kockami, katere zahtevnost in obsežnost variira glede na starostno stopnjo. Osnovni cilj je pa je razvrščanje, preštevanje in urejanje lego kock glede na število, velikost, barvo in obliko. Delo poteka individualno, vsak učenec prejme škatlo, v kateri se nahaja 15 različnih lego kock ter tabelo, kjer na polja zлага ustrezne kocke glede na omenjene kriterije. Pri tem delu se učenci seznani s pojmom spremenljivka (npr. barva) in podatek (rdeča, modra). Potem, ko so učenci prakticirali te naravoslovne postopke, je zaželeno, da pridobljeno znanje in spretnosti povežejo z vsakodnevnimi izkušnjami – npr. z ločenim zbiranjem gospodinjskih odpadkov. Učitelj ob uporabi primerne učne strategije učence spodbudi k skupinskemu delu na to temo, pri čemer spoznajo pomen ločenega zbiranja gospodinjskih odpadkov, kar nedvomno pripomore tudi k večji osveščenosti na področju varovanja okolja. Temu sledi demonstracijski eksperiment učitelja s kromatografskim simulatorjem. Učitelj učence vodi pri opazovanju in usmerja njihovo pozornost na specifična mesta. Učenci urijo svoje spretnosti v opazovanju učila, opisovanju njegovih sestavnih delov ter dogajanja med tem, ko učitelj spusti vse kroglice v valj. So v vlogi aktivnih opazovalcev, saj poleg vmesnega odgovarjanja na učiteljeva vprašanja, tudi rešujejo predvidene naloge na delovnih listih.

Avtorici gradiva v skladu z dogovorom z učiteljem prisostvujeta pri pouku ter opazujeta učence pri delu in beležita dogajanje v razredu.

Osnovnošolsko izobraževanje – 2. triletje

Ob koncu druge triletja so učenci že pripravljeni na raziskovanje, ki poveže vse do takrat razvite postopke v skupno dejavnost. Ob raziskovanju se razvijajo še postopki napovedovanja, oblikovanja hipotez in predstavitev in povezovanja podatkov, kar vodi v posploševanje in iskanje zakonitosti.



Gradivo v okviru predmeta **Naravoslovje 4,5** predvideva izvedbo eksperimenta – čiščenje vode s peščenim filtrom. Tokrat so pri eksperimentu aktivni učenci, ki sami izdelajo peščeni filter. Delo poteka po skupinah. Učenci opazujejo poskus ločevanja snovi in spoznajo, da je mogoče zmesi ločiti na različne načine. Učitelj je v vlogi koordinatorja aktivnosti, opazovalca in svetovalca pri morebitnih težavah, dilemah ipd. Učenci se urijo v prvih eksperimentalnih veščinah, seznanijo pa se tudi s potrebnimi snovmi za izvedbo (gramoz, pesek, mivka,...) eksperimenta. Nato sledi učiteljeva demonstracija eksperimenta s kromatografskim simulatorjem., pri kateri so učenci ob vodenem razgovoru s strani učitelja sposobni napovedati, kako oz. glede na kaj se bodo razvrstile kroglice potem, ko jih bo učitelj spustil.

To učence vodi do oblikovanja pravila pri razvrščanju kroglic v kromatografskem simulatorju oz. do postavljanja hipotez.

Pri predmetu **Naravoslovje 6** prav tako poteka eksperimentalno skupinsko delo učencev, kjer se ti seznanijo s postopkom papirne kromatografije in jo tudi samostojno oz. znotraj skupine izvedejo. Spoznajo pojma stacionarna in mobilna faza ter se ju naučijo prepoznati. Konkretno urijo svoje spretnosti pri ločevanju barvnih sestavin v barvilu – krožni kromatografiji barvil iz flomastrov ali pri kromatografiji na traku filtrirnega papirja, kjer znajo oblikovati zaključke ter interpretirati kromatogram, ki kaže posamezne barvne komponente iz barvila flomastra oz. tuša. Seveda tudi tokrat sledi učiteljeva izvedba eksperimenta s kromatografskim simulatorjem. Učenci so sposobni primerjati oba postopka in poiskati medsebojne podobnosti in razlike, predvsem pa na osnovi velikosti in mase kroglic, napovedati pravilo razvrščanja v simulatorju kromatografije. Ob tem se lahko učitelj odloči tudi / ali za izvedbo papirne kromatografije na traku filtrirnega papirja, ki na zelo podoben način kot kromatografija na krogu, prikazuje ločevanje barvnih komponent flomastra. Pri obeh eksperimentih morajo biti učenci natančni (pri risanju traku, omeri razdalje med startom in ciljem, nanašanjem črnila, ipd.), hkrati pa zelo dobri opazovalci (potovanje komponent z različno hitrostjo). Učitelj vodi z njimi razgovor o vzrokih za različne prepotovane razdalje posameznih komponent. Zahtevnost nalog na delovnih listih ter vprašanj, ki jih zastavlja učitelj, sovpada s starostjo učencev.

Avtorici gradiva v skladu z dogovorom z učiteljem prisostvujeta pri pouku ter opazujeta učence pri delu in beležita dogajanje v razredu.

Osnovnošolsko izobraževanje – 3. triletje

3. triletje predstavlja prehod iz razredne na predmetno stopnjo, ki je skladna s preходом učencev iz konkretnega na formalno-logično raven mišljenja. Ob tem postanejo naravoslovni postopki in dejavnosti miselno zahtevnejši.

Pri postopkih razvrščanja in urejanja nastopa več spremenljivk, učenci pa med njimi ugotavljajo odnose-relacije: odvisna, neodvisna spremenljivka,



konstanta. Večji poudarek je na sestavljenih spremenljivkah. Utrjuje se tudi pojem poštenega poskusa.

Za predmet **Naravoslovje 7** je prav tako načrtovana demonstracija eksperimenta s kromatografskim simulatorjem ter starosti učencev primerno zasnovane spremljevalne aktivnosti, katere bosta pripravili avtorici po dogovoru z učiteljem.

Kot dodatna aktivnost je predvidena ekstrakcija barvil iz različnih listov in izvedba papirne kromatografije. Učenci delo opravljajo v skupinah. Pri tem spoznajo ekstrakcijo kot tehniko ločevanja snovi iz zmesi, naučijo se izbirati primerno topilo za ekstrakcijo, obenem pa spoznajo kromatografijo kot pomembno tehniko čiščenja in ločevanja zmesi, kakor tudi tehniko za analizo naravnih in sinteznih snovi. Eden izmed osnovnih ciljev je izvedeti, da je v zelenih listih več različnih barvil ter znati določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi R_f vrednosti.

Z ekstrakcijo barvil iz različnih listov in papirno kromatografijo se bodo učenci srečali pri predmetu **kemija v 8. in 9. razredu**, kjer bodo dokončno spoznali in doumeli teoretične osnove papirne kromatografije ter znali razlikovati med mobilno in stacionarno fazo. Med drugim je tudi poudarek na varnem izvajanju poskusov in pravilnem odlaganju preostankov eksperimentalnega dela.

Gradivo v zadnjih dveh razredih devetletke pa predvideva še učiteljevo ali učenčevo izvedbo kolonske kromatografije, katere zelo spominja na eksperiment s kromatografskim simulatorjem. Po opazovanju dogajanja pri slednjem in vodenem razgovoru učitelja z učenci, sledi priprava kolone za kolonsko kromatografijo in vseh nadaljnjih faz eksperimentalnega dela – polnjenje kolone s silikagelom, vato in destilirano vodo, dodajanje nekaj kapljic črnila in ločevanje posameznih komponent snovi v čaše. Temu sledi diskusija, pri kateri učenci identificirajo mobilno in stacionarno fazo, podajo ugotovitve in sklepe ter ovrednotijo rezultate eksperimentalnega dela.

Avtorici gradiva v skladu z dogovorom z učiteljem prisostvujeta pri pouku ter opazujeta učence pri delu, beležita dogajanje v razredu z namenom ugotoviti, ali eksperiment s kromatografskim simulatorjem prispeva k boljšemu razumevanju papirne in kolonske kromatografije.

Srednješolsko izobraževanje - gimnazija

Na prehodu iz osnovne v srednjo šolo je predvideno, razvijanje pouka naravoslovja tudi v smeri razumevanja delovanja znanosti in pomena znanosti za družbo, kar poleg deklarativnih in procesnih znanj predstavlja drugi del naravoslovne pismenosti. Ta bi se naj v tem obdobju razvila v večji meri do stopnje, ki omogoča samoizobraževanje.



Vedno večji pomen takšnega koncepta naravoslovja pa nakazuje tudi na razvoj nekaterih sposobnosti ali naravnosti, ki imajo transfer na druga področja znanj. Na ta način se lahko izboljšajo nekatere miselne sposobnosti kot so reševanje problemov, izbira odločitev, komunikacijske sposobnosti ali pa objektivnost in kritičnost.

Zadnja stopnja v izobraževalni vertikali – **gimnazijsko izobraževanje** znotraj učnega načrta za predmet kemija predvideva izvedbo papirne kromatografije aminokislin, katero vključuje tudi to gradivo. Dijaki razdeljeni v skupine izvajajo eksperimentalno delo, katerega cilj je uporabiti papirno kromatografijo za ločevanje zmesi aminokislin. Gre za višji nivo zahtevnosti, ki od dijaka zahteva samostojno pripravo določene zmesi topil za mobilno fazo, previdnost pri nanosu vzorcev aminokislin s kapilaro, natančno odmero startne črte, razdalje od starta do cilja, merjenje dolžine poti od starta do težišča posamezne lise, kar omogoča računanje retenzijskega faktorja R_f . Na osnovi pravih rezultatov in lahko dijaki identificirajo neznane aminokislino.

Nadaljnja načrtovana aktivnost od dijakov predvideva tudi samostojno izvedbo eksperimenta s kromatografskim simulatorjem ter sposobnost postavljanja pravih hipotez o razvrščanju kroglic glede na velikost in maso. Vse to z namenom boljšega razumevanja delovanja profesionalnih tehnik ločevanja snovi. Zato bosta avtorici v dogovoru z učiteljem organizirali strokovno ekskurzijo dijakov na Zavod za zdravstveno varstvo Maribor (ZZVM), na katedro za analizo kemijo, kjer jim bodo predstavili, kako izvajajo monitoring pitne vode. Dijaki bodo ob uporabi raziskovalnega pristopa mora pridobiti ustrezne informacije za rešitev problemsko zasnovane naloge, ki se bo nanašala na prisotnost pesticidov v pitni vodi, kar na ZZVM ugotavljajo z izvedbo plinske kromatografije z masno spektroskopijo, katero bodo dijakom ob tej priložnosti tudi demonstrirali. Pričakovati je, da bodo na ta način dijaki razvili bolj pozitiven odnos do okolja in dvignili nivo svoje okoljske osveščenosti.

Po izvedbi predlaganih aktivnosti ter hkratni uporabi učila – kromatografskega simulatorja pri eksperimentalnih skupinah, avtorici načrtujeta ponovno izvedbo v kontrolni skupini, a tokrat brez uporabe učila. Namen je ugotoviti, ali uporaba učila pri pouku na celotni izobraževalni vertikali učencem in dijakom omogoča lažje razvrščanje, napovedovanje, postavljanje hipotez, izpeljevanje zakonitosti, ki niso tematsko povezane z vsebinskim področjem kromatografije ter lažje razumevanje principa papirne kromatografije na krogu in traku filtrirnega papirja, kolonske kromatografije ter profesionalne plinske kromatografije z masno spektroskopijo.

Evalvacija zbranih podatkov raziskave bo potekala ob uporabi fenomenografske metode, ki bo podrobneje predstavljena v evalvaciji gradiva.



REPUBLIKA SLOVENIJA
MINISTRSTVO ZA ŠOLSTVO IN ŠPORT



Naložba v vašo prihodnost
OPERACIJO DELNO FINANCIRA EVROPSKA UNIJA
Evropski socialni sklad



Predlagana aktivnost za:
Osnovnošolsko izobraževanje - 1. triletje
Predmet: **Spoznavanje okolja 1,2,3**

Delovni list za učitelja

RAZISKOVALNE IGRE Z LEGO KOCKAMI

Cilj

Razvrstiti lego kocke glede na barvo, velikost, obliko in število.

Kaj potrebujete ?

- 15 lego kock različnih barv, velikosti in oblik;
- barvice različnih barv

Potek dela:

1. Učencem podajte škatlo, v kateri se nahaja 15 lego kock različnih barv, velikosti in oblik. Primer:
2. Postavljajte vprašanja in vodite razgovor z učenci:
 - a. Po čem se lego kocke med seboj razlikujejo ?
 - b. Po kateri lastnosti lahko razvrstimo lego kocke?
 - c. Katere barve (velikosti, oblike) lego kock so v škatli ?
 - d. Kako lahko ugotovimo, katere barve (velikosti, oblike) so lego kocke ?
 - e. Kako bi ugotovili katere barve (velikosti, oblike) je največ in katere najmanj?
3. Predstavite jim 1. nalogo – razvrščanje lego kock enake oblike in velikosti po barvi in številu v vnaprej pripravljeno tabelo.



lego kocke (vir: Wikipedia)

15					
14					
13					
12					
11					
10					
9					
8					
7					
6					
5					
4					
3					
2					
1					
	rdeča	modra	rumena	zelena	črna

4. Pojasnite učencem, da lego kocke odstranijo iz tabele in prazna okenca pobarvajo z ustrezno barvo glede na njihovo število.



5. Predstavite jim 2. nalogo – razvrščanje lego kock v vrste glede na obliko in ne glede na barvo in velikost.
6. Predstavite jim 3. nalogo – razvrščanje lego kock enakih oblik glede na velikost in ne glede na barvo. Število lego kock, ki ustrezajo navedenemu kriteriju, naj vpišejo (oz. pobarvajo, kadar gre za učence 1. razreda) v pripravljeno tabelo.

Branje tabele

Vodite diskusijo z učenci in jim zastavljajte problemska vprašanja o razvrščanju lego kock. Primer:

Katere barve (oblike, velikosti) lego kock je največ / najmanj ?

Katere barve lego kock je manj kot rdečih (modrih, rumenih...) ?

Katerih lego kock je več / manj – tistih, ki se razlikujejo po obliki ali tistih, ki se razlikujejo po velikosti ?



lego kocke različnih barv, oblik in velikosti (vir: Wikipedia)



Predlagana aktivnost za:
Osnovnošolsko izobraževanje - 2. triletje
Predmet: **Naravoslovje in tehnika 4,5**

Delovni list za učitelja

ČIŠČENJE VODE S PEŠČENIM FILTROM

Cilj

Razumeti, kako se v naravnem ekosistemu, kot je npr. potok voda sama očisti – spoznati eno od stopenj čiščenja vode v čistilnih napravah.

Primer 1:

Kaj potrebujete ?

KEMIKALIJE	LABORATORIJSKI PRIPOMOČKI
gramoz (2-5 cm)	1 plastenka
gramoz (0.2-2 cm)	1 merilni valj
pesek (0-1 mm)	1 plastično vedro
zmleto oglje	vato
odpadno vodo ali kalno vodo	2 čaši

Potek dela

Pripravite si **kalno vodo** tako, da v čašo čiste vode **vsujete mivko** in pretresete ali zmešate. Pustite, da se težji delci sami usedejo na dno. Med tem časom si **pripravite peščeni filter**. Plastično steklenico na spodnjem delu odrežite. Plastenko brez dna obrnite z vratom navzdol. Odprtino plastenke napolni z materialom, ki ga imate na voljo in menite, da bo najbolje očistil umazano ali kalno vodo. Filter, ki ste ga naredili sperite s čisto vodo vse dokler ne bo ventil čist, nato pa vlijte v vaš filter **500 ml umetne odpadne vode** ali kalne vode. Zberite različne vzorce prečiščene vode in jih med seboj primerjajte, hkrati vzorce vode primerjajte tudi z umetno odpadno vodo, ki ste jo vlili v vaš peščeni filter in destilirano vodo.



Primer 2:

Kaj potrebujete ?

KEMIKA LIJE	LABORATORIJSKI PRIPOMOČKI
zmleto oglje	plastenka z odrezanim dnom
mivka	vata
pesek	2 čaši
kalna voda	

Potek dela

na odprtino na vratu plastenke položite kosem vate, nanj nasujte:

5 cm zmletoga oglja, nato pa še

5 cm mivke in

5 cm peska.

To je peščeni filter.

Izperite ga s čisto vodo. Skozi peščeni filter počasi zlijte kalno vodo. Če ste peščeni filter pravilno pripravili, bo skozi vrat čaše pritekla čista voda.



pripravljeni peščeni filtri iz različnih substratov

(vir: www.ucilnicavnaravi.si)



Predlagana aktivnost za:
Osnovnošolsko izobraževanje - 2. triletje
Predmet: **Naravoslovje 6**

Delovni list za učitelja

KROŽNA PAPIRNA KROMATOGRAFIJA BARVIL IZ FLOMASTROV

Cilj

Na osnovi razlik v hitrosti potovanja ločiti sestavine barvila pisal.

Kaj potrebujete ?

KEMIKA LIJE	LABORATORIJSKI PRIPOMOČKI
čisti alkohol	krožni filtrni papir
barvilo: alkoholni flomastri (posebno primerne barve so rjava, črna in vijolična, ker so sestavljene iz več barvnih komponent)	škarje
	petrijevka s premerom 6 cm
	šestilo

Potek dela

Na okrogli filterpapir narahlo z barvilom (flomaster, tuš) narišite krog s premerom 2 cm.

V luknjico na sredino filterpapirja vstavite svaljek. Priprava svaljka: iz filterpapirja izrežite kvadrateg 2x2 cm in ga trdno zvijemo v svaljek.

V petrijevko natočite malo vode (da pokrije dno)

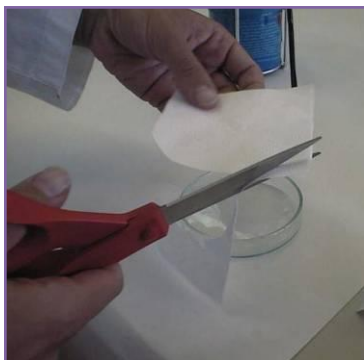
Pripravljeni filterpapir vstavite na petrijevko tako, da voda omoči samo svaljek.

Svaljek deluje kot stenj – preko njega se prenaša voda na filterpapir.

Ko voda doseže barvila, prenaša posamezne komponente barvila z različno hitrostjo naprej do roba filterpapirja.

Kromatogram kaže posamezne barvne komponente iz barvila flomastra ali tuša.

Slikovni prikaz postopka (vir: http://www2.arnes.si/~osngso3s/virtual_ke_po2.htm)



1.

1. Narišite krog iz filterpapirja.



2.

2. Izrežite luknjico na sredini kroga.



3.

3. Iz filterpapirja izrežite kvadrateg 2x2 cm



ga trdno zvijte v svaljek.



5.

ipravljeni svaljek vstavi v luknjico na
edini filterpapirja.

V petrijevko nalij alkohol.

Nariši krog z alkoholnim flomastrom



6.

ipravljeni filterpapir vstavi na petrijevko
ko, da alkohol omoči samo svaljek.



7.

8. Svaljek deluje kot stenj, –
preko njega se alkohol prenaša
na filterpapir.

9.



Alkohol prenaša posamezne
komponente barvila z različno
hitrosjo naprej do roba filterpapirja.



Kromatogram kaže posamezne
barvne komponente iz barvila
flomastra.

**Fotografije, ki prikazujejo potek krožne papirne kromatografije barvil flomastrov so dostopne
na svetovnem spletu na naslovu: http://www2.arnes.si/~osngso3s/virtual_ke_po2.htm**

Predlagana aktivnost za:



Osnovnošolsko izobraževanje - 2. triletje

Predmet: Naravoslovje 6

Delovni list za učitelja

PAPIRNA KROMATOGRAFIJA NA TRAKU FILTRIRNEGA PAPIRJA

Cilj

S papirno kromatografijo ločiti barvila v črnilu ali v flomastru na traku filtrirnega papirja. Kot topilo uporabite vodo ali alkohol. Za označevanje na filtrirnem papirju lahko uporabite le grafitni svinčnik.

Kaj potrebujete ?

KEMIKALIJE	LABORATORIJSKI PRIPOMOČKI	
flomaster ali črnilo	ravnilo	trak filtrirnega papirja
destilirana voda	svinčnik	erlenmajerica

Potek dela

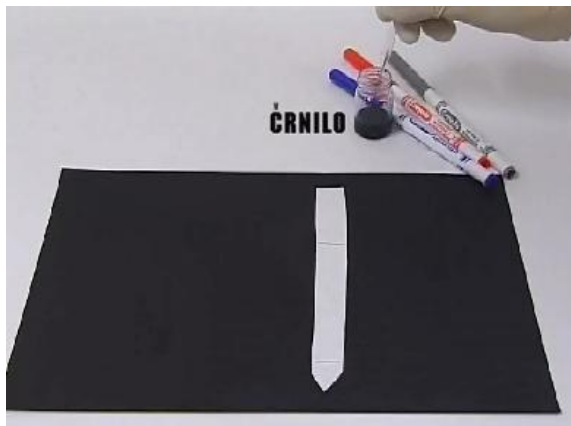
2 cm širok in 15 cm dolg trak filtrirnega papirja na enem koncu izrežite v konico.



označevanje startnega mesta
(vir: E - kemija)

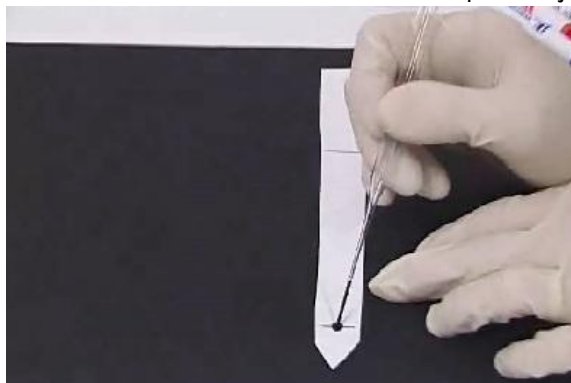
Na traku papirja z grafitnim svinčnikom **označite mesto/start**, na katero **nanesite črnilo/barvila iz flomastra** in mesto/cilj, do katerega bo

potovala **mobilna faza/voda**. Razdalja med startom in ciljem je običajno **10 cm**.



razdalja med startom in ciljem
(vir: E - kemija)

Na označeno mesto s **kapalko kanite kapljico črnila/barvil** iz flomastra. Počakajte, da se črnilo/barvila iz flomastra posušijo.



nanos črnila iz flomastra
(vir: E - kemija)

Trak z nanesenim vzorcem barvil dajte v kadičko, v kateri je na dnu malo destilirane vode, v katero mora segati konica traku filtrirnega papirja.



stik traku z destilirano vodo
(vir: E - kemija)



V kadički pustite trak filtrirnega papirja toliko časa, da voda pripotuje do oznake na njem.



potovanje vode do oznake
na traku filtrirnega papirja
(vir: E - kemija)



postopen nastanek barvnih
pasov
(vir: E - kemija)



Trak vzemite iz kadičke in ga posušite. Kolikor barvnih pasov je ločenih na traku, toliko različnih barvil je v črnilu/flomastru.



zaključek nastanka barvnih pasov
(vir: E - kemija)

Fotografije, ki prikazujejo papirne kromatografije na traku filtrirnega papirja so snete iz videoposnetka nastalega v okviru projekta E-kemija, dostopnega na svetovnem spletu na naslovu:

<http://www.ki2.ntf.uni-lj.si/e-kemija/file.php/1/output/kromatografija/index.html>



Predlagana aktivnost za:
Osnovnošolsko izobraževanje - 3. triletje
Predmet: **Naravoslovje 7**

Delovni list za učitelja

PAPIRNA KROMATOGRAFIJA FOTOSINTETSKIH BARVIL



Namen vaje

praprotnica, ohrovt, špinača (vir: Wikipedia)

Namen te vaje je s pomočjo papirne kromatografije ugotoviti, ali daje barvo zelenemu listu eno samo barvilo ali več barvil skupaj.

Cilji

spoznati in razumeti metode papirne kromatografije;
izvedeti, da je v zelenih listih več različnih barvil;
znati določiti posamezno barvilo v ekstraktu na osnovi R_f vrednosti.

Kaj potrebujemo ?

KEMIKA LIJE	LABORATORIJSKI PRIPOMOČKI	
zeleni listi (praprotnica, ohrovt ali špinača)	zamašek s kavljem z žice	pinceta
acetona	škarje	steklen valj z zamaškom
topilo	epruvete	trak filtrirnega papirja
petroleter	pipeta	kremenčev pesek

Potek dela

1. Priprava listnega ekstrakta

Drobno razrežite približno **10g zelenih listov** praprotnice ali ohrovt. Dajte jih v terilnico, dodajte malo **kremenčevega peska** in dobro strite. Vse skupaj nato dajte v epruveto, dodajte **4 ml acetona**, dobro pretresite in pustite stati **10 minut**. Po desetih minutah dodajte **4 ml vode** in ponovno pretresite. Nato smo dodajte **3 ml petroletra** in močno pretresite. Pustite stati dokler se pigmenti v zgornji plasti ne ločijo. Ekstrakt nato odpipetirajte v drugo epruveto.

2. Kromatogram



Na trak filtrirnega papirjas svinčnikom narišite črti 2 cm od zgornjega in spodnjega

roba. Natotrak pritrdite na kaveljček zamaška. Trak mora viseti navpično v valju, tako da se ne dotika dna in sten valja. Pri delu se ne smete dotikati površine traku; papir primite s pinceto.

Papir nato staknite z valja in na spodnjo črto s pipeto nanesite kapljico pigmentnega izvlečka. Med nanosom ekstrakta barvil se izogibajte direktni sončni svetlobi, ki bi osvetljevala naneseno barvilo. Papir dobro posušite. Ta postopek ponavljali dokler nimatena kromatografskem traku temne črte rastlinskega izvlečka. Trak nato postavite v epruveto, v katero ste že prej natočili topilo. Še enkrat se prepričajte, da se trak nedotika sten epruvete in sega v topilo. Kromatografija je končana, ko se topilo dvigne do zgornje črte.

3. Določanje retencijskega faktorja (R_f)

Pri papirni kromatografiji lahko za posamezne sestavine preizkusnega vzorca določimo R_f vrednost. To je hitrost, s katero se določena snov giblje po kromatografskem papirju, v primerjavi s hitrostjo, s katero se giblje topilo. Retencijski faktor ima vrednost 1 ali pa ima vrednost med 1 in 0 ($0 < R_f < 1$). Razdalja, ki jo preide snov, je razdalja od startnega mesta do sredine določene barvne lise.

Rezultati

Pigmenti	Prepotovana razdalja [cm]	Vrednost retencijskega faktorja (R_f)
Klorofil b		
Klorofil a		
Ksantofil		
Karoten		
Celotna pot, ki jo je prešlo topilo =		

Tabela: Vrste barvil in njihovi retenacijski faktorji.

4. Diskusija

Papirno kromatografijo izvedemo na traku. Osnovni princip je, da so različne snovi (barvila) različno topne v topilu. Barvila lahko opazujemo s prostim očesom.

Klorofili so fotosintetska barvila, v danem ekstraktu sta bila prisotna klorofil a in klorofil b. Klorofila absorbirata svetlobo podobnih valovnih dolžin – predvsem modro in rdečo. Ker odbijata svetlobo iz rumenega in zelenega spektra, liste, ki vsebujejo največ klorofila, vidimo zelene barve. Največ klorofila je v rastlinah pomladi in poleti, jeseni pa, ko klorofil razpade, se izrazijo druga barvila. Če bi izdelali ekstrakt iz porumenelih listov, bi dobili drugačen rezultat; pasovi zelene barve bi verjetno bili precej ožji. Karoteini odbijajo rumeno in



rdečo svetlobo, zato jih vidimo oranžno rumenkaste. Ksanofili odbijajo svetlobo iz rumenega spektra, zato jih vidimo kot rumena barvila. S tem ko rastlina vsebuje različna fotosintetska barvila, bolje izkoristi celotni spekter svetlobe, kot če bi vsebovala klorofil ene vrste.

5. Zaključek

Na ta način dokažemo, da so v listih praproti prisotna različna barvila. Poleg zelenih (klorofil a in b), ki jih vidimo že na prvi pogled, najdemo še rumeni ksantofil in rdečkaste karoteine. Z metodo papirne kromatografijeta barvila tudi ločimo. Tako dokažemo, da sokaroteini najbolj topni, manj so ksantofili in še manj klorofil a in b; slednji je bil najmanjtopen.



Predlagana aktivnost za:
Osnovnošolsko izobraževanje - 3. triletje
Predmet: **Kemija 8,9**

Delovni list za učitelja

KOLONSKA KROMATOGRAFIJA

Kaj potrebujemo ?

KEMIKA LIJE	LABORATORIJSKI PRIPOMOČKI	
silikagel	kolona za kolonsko kromatografijo	plastična puhalka
destilirana voda	stojalo	zaščitne rokavice
črnilo	kosem vate	3 čaše

Navodila za delo

1. Pripravite kolono za kolonsko kromatografijo.



priprava kolone
(vir: E - kemija)

2. Na dno ožjega dela kolone potisnite majhen kosem vate. Nato kolono med stresanjem postopoma napolnite s silikagelom, ki je stacionarna faza.



dodatek silikagela
(vir: E - kemija)



3. Za polnjenje uporabite primerno velik lij. Plast silikagela naj bo visoka okrog 10 cm. Na vrh stacionarne faze dajte majhen kos vate, nakar kolono omočite z vodo, ki je mobilna faza.



dodatek destilirane vode
(vir: E - kemija)

4. Ko voda omoči silikagel, s kapalko dodajte 5 kapljic zmesi barvil za ločevanje.



dodatek črnila
(vir: E - kemija)

5. Počakajte, da se zmes vpije v silikagel in nato dodajte vodo. Voda naj bo mobilna faza ves čas 1 – 2 cm nad vrhom silikagela.



dodatek destilirane vode
(vir: E - kemija)

6. Posamezne zmesi lovite v čaše. Opažene spremembe zapišite.

obarvane komponente



ločevanje posameznih komponent v čaše
(vir: E - kemija)



končni prikaz ločenih barvil
(vir: E - kemija)

Fotografije, ki prikazujejo potek kolonske kromatografije so snete iz videoposnetka nastalega v okviru projekta E-kemija, dostopnega na svetovnem spletu na naslovu:

<http://www.kii2.ntf.uni-lj.si/e-kemija/file.php/1/output/kromatografija/index.html>



Predlagana dodatna aktivnost za:
Srednješolsko izobraževanje – gimnazija
Predmet: **Kemija**

Delovni list za učitelja

PAPIRNA KROMATOGRAFIJA AMINOKISLIN

Cilj

Uporabiti papirno kromatografijo za ločitev zmesi aminokislin.

Naloge

1. Pripravite kromatografski papir in določeno zmes topil kot mobilno fazo.
2. Nanesite vzorce aminokislin kot standard in neznano zmes aminokislin na kromatografski papir.
3. Izpeljite kromatografijo in določite **vrednosti R_f** za posamezne standarde aminokislin in iz tega sklepajte, katere aminokislino so v neznanim vzorcu.

Varnost pri delu

delajte po navodilih v prezračenem prostoru;
nosite zaščitna očala, rokavice in laboratorijsko haljo;
dolgi lasje morajo biti speti;
mobilno fazo po kromatografiji zberite v označeni steklenici;
po delu si dobro umijte roke;



Potek dela

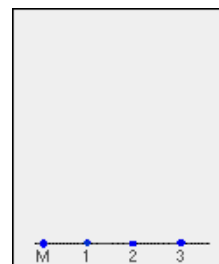
1. Izrežite kos kromatografskega papirja glede na velikost kozarca za vlaganje ali kadičke. Za pisanje in označevanje na kromatografskem papirju lahko uporabljate le grafitni svinčnik. Na izrezanem kromatografskem papirju označite **2,0 cm od spodnjega roba startno črto** (nanos vzorcev) in nato še **10 cm od štarta ciljno črto** (dolžino potovanja mobilne faze po papirju). Uporabljajte kromatografski papir SS 2043bMGL.

V čaši pripravite mobilno fazo. Količino mobilne faze prilagodite velikosti posode za kromatografijo. Za kozarec za vlaganje prostornine $V = 1 \text{ L}$ potrebujete okoli **35 mL zmesi**, ki jo pripravite iz:

20 mL 1-butanola;
5 mL ledocta in
19 mL vode.

Višina mobilne faze v kozarcu naj bo približno **1 cm**. Naneseni vzorec ne sme segati v mobilno fazo.

2. S kapilarami nanesite vzorce treh aminokislin in zmesi na startno črto v razdalji 2 do 3 cm.





Kombinacija aminokislin, ki se dobro loči:

glicin, alanin, asparaginska kislina ali
glicin, fenilalanin, glutaminska kislina.

Delajte previdno, da ne poškodujete papirja.

Počakajte, da se lise posušijo.

3. Oba konca kromatografskega papirja **spnite s sponko** ter ga postavite v **kromatografsko posodo** in posodo pokrijte.

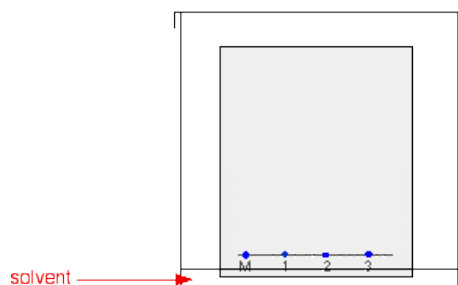
4. Počakajte, da se mobilna faza dvigne do ciljne črte. Vzemite kromatografski papir iz posode in ga posušite.

5. **Suh kromatografski papir orosite z raztopino ninhidrina** in ga v sušilniku sušite pri **110 °C**, dokler ne opazite **obarvanih lis aminokislin**.

6. Izmerite dolžino poti, to je **razdalja od startne črte do težišča lise**, za posamezne aminokislino.

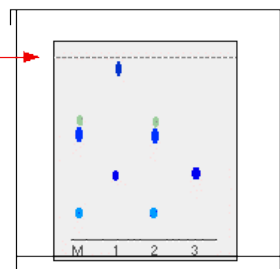
7. Izračunajte vrednosti R_f standardnih in aminokislin v vzorcu.

nanos vzorcev AK in zmesi na startno črto
(vir: <http://www.chemguide.co.uk>)



kromatografska posoda
(vir: <http://www.chemguide.co.uk>)

height reached by
the solvent: the
"solvent front"



$$R_f = \frac{\text{dolžina poti, ki jo je prepotovala spojina}}{\text{dolžina, ki jo je prepotovalo topilo}}$$

obarvane lise aminokislin
(vir: <http://www.chemguide.co.uk>)

Rezultati

Priložite razvit kromatogram.

Navedite dolžine poti in vrednosti R_f za posamezne aminokislino, ki ste jih uporabili kot standard.

Aminokislina	Dolžina poti	R_f



Navedite dolžine poti in vrednosti R_f aminokislin v neznanem vzorcu. Iz primerjave dolžine poti aminokislin standarda sklepajte, katere aminokisline so v vzorcu.

Dolžina poti	R_f	Aminokislina v vzorcu

Vprašanja za diskusijo in naloge za preverjanje znanja

1. Zakaj nanese vzorci na kromatografskem papirju ne smejo segati v mobilno fazo?
2. Zakaj pri kromatografiji ne smemo uporabiti navadnega filtrirnega papirja?
3. Zakaj smemo uporabljati za pisanje in označevanje na kromatografskem papirju le grafitni svinčnik?
4. Zakaj pri nanašanju vzorcev aminokislin ne smemo poškodovati papirja?
5. Napišite strukturne formule aminokislin, ki ste jih loevali.
6. Napišite kemijsko enačbo za ponazoritev povezovanja teh aminokislin v verigo in v njej označite amidne vezi.
7. Povežite z amidno vezjo glutaminsko kislino in metilni ester fenilalanina. Ta metilni ester dipeptida je aspartam, ki je približno 200-krat slajši kakor saharoza. Sestavite model molekule te spojine.
8. Kolikšno je lahko število različnih zaporedij aminokislinskih enot v peptidu, v katerem so vezane tri različne aminokislinske enote?
Zapišite tri možne peptide, ki jih dobite iz teh treh aminokislin.

Viri

- 1.) COJHTER Lotty. *Plinska kromatografija – diplomska seminarska naloga*. Univerza v Mariboru, Pedagoška fakulteta, Oddelek za kemijo, 2007.
- 2.) GLAŽAR SAŠA A. in DEVETAK Iztok. *Naravoslovje (kemijske vsebine): Navodila za laboratorijske vaje*. Univerza v Ljubljani, Pedagoška fakulteta, 2005.
- 3.) KRNEL Dušan. *Razvoj skupnih naravoslovnih kompetence ali naravoslovnih postopkov*. Projekt RNK, Univerza v Ljubljani, Pedagoška fakulteta, 2009



- 4.) SAVIČ Andreja. *Pregled kromatografskih separacij – diplomsko seminarsko delo*. Univerza v Mariboru, Pedagoška fakulteta, Oddelek za kemijo, 2006.
- 5.) ZUPANČIČ BROUWER Nataša in VRTAČNIK Metka. *Eksperimentalna organska kemija*. Založba M&N, Ljubljana, 1995.
- 6.) ŽERJAL Breda. *Navodila za vaje iz organske kemije*. Univerza v Mariboru, Pedagoška akademija Maribor, 1982.
- 7.) Gelska kromatografija. *Biotehnološki portal, BIC-Ljubljana*, (pridobljeno 20.11.2009) Dostopno na spletnem naslovu: <http://www.biotehnologija.org/kromatografija>