

Øvelse: Chlorofyl-koncentration i spinat

Vejledningen er udarbejdet af: Eva Berg Søndergaard, Marcus Mathias Esmann, Simon Kita Thiele, Simon Vinther Johannsen

Formål:

At bestemme koncentrationen af henholdsvis klorofyl a og klorofyl b i spinat.



Teori:

Da klorofyl a og b er upolære molekyler, ved vi, at de kan opløses i det tilsvarende upolære opløsningsmiddel acetone. Derfor vil klorofyl altså kunne ekstraheres fra spinaten, hvis den hakkes meget fint og lægges i blød i acetone.

Da klorofyl er det farvestof som gør spinaten grøn, må klorofyl absorbere de røde nuancer af det synlige lys – og mere præcist ved vi at klorofyl absorberer lys ved bølgelængderne omkring de 645-663 nm, hvilket er værdier som er kendte fra målinger af ren/syntetisk klorofyl opløst i acetone.

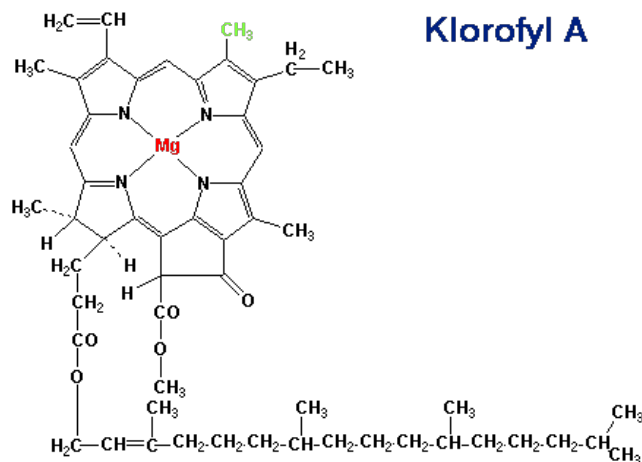
Fra eksamensopgaven fra 2012 "Chlorophyl i spinat" bruger vi den molare ekstinktionskoefficient fundet der:

λ/nm	$\epsilon(\text{chlorophyl a})/(\text{M}^{-1} * \text{cm}^{-1})$	$\epsilon(\text{chlorophyl b})/(\text{M}^{-1} * \text{cm}^{-1})$
645	$1.50 \cdot 10^4$	$4.13 \cdot 10^4$
663	$7.33 \cdot 10^4$	$8.41 \cdot 10^3$

Ydermere bruger vi også molarmasserne for klorofyl a, som er 893,47 g/mol og for klorofyl b, som er 907,47 g/mol.

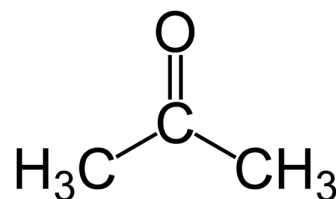
Udstyr:

- Spinat
- Skærebræt og kniv
- Morter og pistil
- Filtrepapir
- Tragt
- 50 mL målekolbe
- Magnetomrører og magnet
- 50 mL bægerglas
- Pipette
- Kuvette
- Spektrometer



Kemikalier:

- Acetone (strukturformel kan ses på billedet til højre)



Udførelse:

En lille håndfuld spinat hakkes fint, lægges ned i en morter og bliver knust ultra fint med pistillen. Når spinaten er blevet knust tilstrækkeligt til ukendelighed, vejes 2 gram af spinat-massen af i en vejebåd. Massen kommer nu i et 50 mL måleglas hvorefter der hældes 40mL acetone over spinaten-massen. Måleglasset med spinat-acetone opløsningen placeres nu på en magnetomrører, magneten puttes i bægerglasset og omrøreren tændes. Når spinat-acetonen har været under omrøring i ca. 5 minutter, filtreres væsken med filtrepapir og tragt over i en 50 mL målekolbe, og der fyldes op til 50 mL mærket med acetone.

Der skal nu opsamles et fuldt absorptionsspektrum af spinat-opløsningen. Men først skal der fyldes en kuvette $\frac{3}{4}$ med ren acetone, hvorefter spektrometeret kalibreres. Nu hældes acetonen ud, og man sikrer lige, at der ikke sidder nogle 'acetonerester' på kuvetten før man fylder den op med spinat-opløsningen og får spektrometeret til at opsamle et fuldt absorptionsspektrum. Absorptionsmaksimum(er) noteres!

Da vi kender de molare ekstinktionskoefficienter for 645 nm og 663 nm. noterer vi os absorbansen ved de to bølgelængder, hvilke vi kan aflæse på vores fulde spektrum.

Resultater:

Hele absorptionsspektrummet - aflæs ved hvilke(n) værdi(er) man ser absorptionsmaksimum.

Absorbansen skrives ned i følgende tabel:

λ nm	A
645	
663	

Efterbehandling:

1. Find koncentrationen af henholdsvis klorofyl a og klorofyl b i spinat.
 - a) Her kan der opstilles to ligninger med to ubekendte, i hvilke koncentrationerne for hhv. klorofyl a og b er vores to ubekendte størrelser. Vi ved netop at summen af de to koncentrationer må være lig den samlede koncentration af klorofyl i opløsningen, og at det samme gælder for absorbansen, altså: $A_{\text{total}} = A_a + A_b$
Derfor skal bølgelængden der absorberes være lig med summen af ekstinktionskoefficienterne for klorofyl a og b ganget med de ubekendte koncentrationer af hhv. klorofyl a og b.
2. Sammenlign den fundne koncentration med den fundne koncentration i eksamensopgaven "Chlorophyl i spinat"
3. Overvej hvordan forsøgets absorptionsspektrum passer ind i forhold til teorien.
4. Hvor stor en måleusikkerhed er der på den 50 mL målekolbe.