

Pigmenter i tang

Øvelsesvejledning



Teoretisk baggrund

Alle planter, der fotosyntetiserer, indeholder klorofyl, som er et grønt pigment. Planter kan dog også indeholde andre pigmenter, så klorofylets grønne farve bliver sværere at se, men ved at adskille pigmenterne fra hinanden eller ødelægge nogle af pigmenterne, bliver klorofylet lettere at se.

TLC (thin layer chromatography eller tyndtlagskromatografi) er en analysemetode til at adskille og identificere indholdsstoffer i en prøve.

Metoden udnytter at indholdsstofferne har forskellige kemiske egenskaber. Dette gør, at de reagerer forskelligt når de kommer i kontakt med en mobil fase (solvent/løbevæske).

Pigmenter i grøntsager, blade og tang kan adskilles og identificeres ved denne metode.

Ligesom planter, indeholder tang også pigmenter, der indgår i fotosyntese. Både rød-, grøn- og brunalger indeholder klorofyl. Foruden klorofyl indeholder tang også andre farvepigmenter. I dag skal vi undersøge brunalgernes farvepigmenter.

I TLC benytter man sig af en plade belagt med et tyndt lag af absorberende partikler i form af silica gel (en kemisk forbindelse mellem silicium og oxygen). Dette kalder man for den stationære fase. En lille mængde af prøve tilføjes som prikker ved bunden af pladen, hvorefter denne placeres i den mobile fase, som i dette tilfælde består af 70:30 hexan-acetoneopløsning (solventen/løbevæske). Solventen trækkes langsomt op ad den stationære fase på pladen. Den tilsatte prøve vil adskille farvepigmenterne alt efter deres opløselighed, og hvert pigment danner individuelle bånd på TLC-pladen. Generelt vil pigmenter med høj polaritet absorbere til silicapladen, mens mere upolære pigmenter vil vandre længere med solventet. R_f -værdien (Relativ til Front eller retentionsfaktoren) bruges til at sammenligne variationen af indholdsstofferne i prøven. I tabellen vises kendte R_f -værdier for forskellige farvepigmenter.

$$R_f = \frac{\text{afstand fra startplacering}}{\text{afstand fra solventfasen}}$$

Pigment	Farve	R_f værdi
Karoten	Gul-orange	0.93
Klorofyl a	Blå-grøn	0.46
Klorofyl b	Grøn	0.42
Xantofyl	Gul	0.41
Xantofyl	Gul	0.31
Fucoxanthin	Brun-gul	0,27
Xantofyl	Gul	0.17

Øvelse 1

Formål

At påvise, at brunalger indeholder klorofyl.

Materialer

- Brunalge
- Kogende vand
- Bægerglas
-

Fremgangsmåde

Overhæld brunalgen med kogende vand og iagttag, hvad der sker med algen.

Diskussion

Forklar hvad der sker, når brunalgen overhældes med kogende vand.

Øvelse 2 - bestemmelse af pigmenter ved TLC

Formål

Påvisning og identificering af pigmenter i brunalger ved brug af tyndtlagskromatografi (TLC)

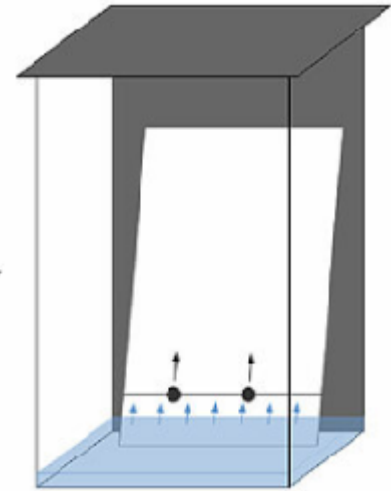
Materialer

- TLC silica gel plader
- Bægerglas med låg
- Morter
- Små reagensglas/eppendorfrør
- Engangspipetter
- Blyant
- Lineal
- Brunalge
- 70:30 hexan-acetone solvent
- Hexan
- Acetone
- Ethanol
- Demineraliseret vand (til rengøring)
- Pincet
- Saks

Fremgangsmåde

- Klip tungen i små stykker og placer den i en morter.
- Tilføj 3-5 ml acetone og mos det forsigtigt sammen i morteren indtil acetonen tager farve (her kan tilføjes mere acetone hvis fordampningen er for stor). Overfør til et reagensglas.

- Brug en 1 ml. engangspipette til at tage ekstraktet op (UDEN stykker af tang følger med) og overfør det til et eppendorfrør.
- Tilføj ca. 1 ml. hexan til ekstraktet. Sæt låget på og vend røret et par gange.
- Lad herefter de to faser separere.
- Tegn på TLC-pladen med en blød blyant (ødelæg ikke overfladen) en lige linje (startlinje) 1 cm fra pladens bund, og slå 2 krydser (på sætningspunkter) på denne ca. 1/3 inde fra hver side.
- Brug et kapillarrør til at dyppe i den øvre hexan-fase i reagensrøret, og placer derefter enden af røret på et af de to krydser på TLC-pladen. Gør dette et par gange mere så pletten er synlig.
- Fyld bægerglasset 0.5 cm op med den mobile fase (70:30 hexan-acetone).
- Placer TLC-pladen i bægerglasset med krydserne nederst (krydserne må ikke være dækket!) og kom låg på.
- Lad det stå uforstyrret indtil solventen (den mobile fase) når op til 1 cm fra toppen af TLC-pladen.
- Fjern pladen fra bægerglasset og brug blyanten til at markere fronten af solventen med det samme! Marker også de individuelle bånd, da pigmentet vil forsvinde når pladen tørrer



Resultater

- Mål og noter afstanden fra startlinjen til midten af hver plet og fra startlinjen til fronten af solventen.
- Identificer hvert enkelt pigment (plet) ved at udregne R_f værdier og sammenligne med kendte værdier, som er angivet i teoriafsnittet.

Diskussion

Hvorfor har algen flere forskellige pigmenter?

novo
nordisk
fonden



Region
Syddanmark



SDU 