



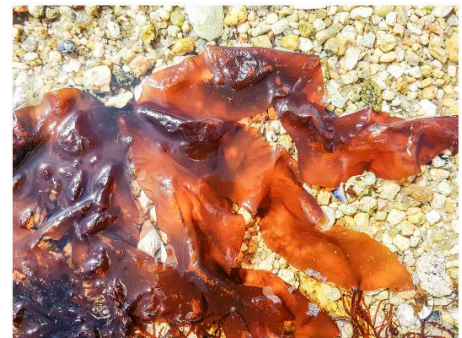
Ekstraktion af farvestoffer fra makroalger og TLC af ekstraktet

Makroalger findes som rødalger, brunalger og grønalger. Nogle af de farvestoffer de indeholder, er vigtige for at algerne kan udføre fotosyntese. I dette eksperiment undersøges farvestofferne i en rødalge og en brunalge. I figur 1 ses billeder af de to alger og hvilke farvestoffer de indeholder.

a.

Farvestof	Farve	Rødalge	Brunalge
Chlorophyl a	Grøn	✓	✓
β-caroten	Gul	✓	✓
Phycoerythrin	Rød	✓	
Phycocyanin	Blå	✓	
Antheraxanthin	Gul	✓	✓
β-cryptoxanthin	Gul	✓	
Lutein	Gul	✓	
Zeaxanthin	Gul	✓	✓
Fucoxanthin	Orange		✓
Violaxanthin	Gul		✓

b.



Shutterstock.com/arousa



Shutterstock.com/Andrew Chisholm

Figur 1.

a. Farvestoffer i rød- og brunalger.

b. Rødalgen søl (øverst) og brunalgen savtang (nederst).

Farvestofferne fra rød- og brunalger kan adskilles ved hjælp af TLC hvorved de kan identificeres.

Der beregnes en R_f -værdi for hvert farvestof:

$$R_f = \frac{\text{Afstand mellem startlinje og farvestof}}{\text{Afstand mellem startlinje og væskefront}}$$

Forberedelse til eksperimentet

1. Angiv strukturformler for de ti farvestoffer vist i figur 1.
2. Undersøg antallet af konjugerede dobbeltbindinger, chromofore grupper og auxochrome grupper i farvestofferne, og sammenhold med farven.
3. Undersøg polariteten af farvestofferne og argumentér for hvilke opløsningsmidler de kan opløses i.
4. Opstil hypoteser for hvordan farvestofferne vil vandre i hhv. løbevæske A og B.



Materialer

- Rødalgen søl (*Palmaria palmata*) og brunalgen savtang (*Fucus serratus*) i tørret form
- Vægt
- Vejebåde
- Saks
- 2 stk. morter og pistil
- Sand
- Ethanol (96 %)
- Stanniol
- 2 stk. tragte
- 2 stk. koniske kolber (100 mL)
- Løbevæske A (heptan : propanon i forholdet 9:1)
- Løbevæske B (heptan : propanon i forholdet 7:3)
- Blyant og lineal
- 2 stk. TLC-plader (kiselgel)
- 2 stk. TLC-glas med låg
- Kapillærrør

Ricisi og sikkerhed

- Eksperimentet udføres i stinkskab og der bæres sikkerhedsbriller, kittel og handsker.
- Heptan kan være livsfarligt ved indånding eller indtagelse, meget brandfarligt og giftigt for vandlevende organismer.
- Propanon er brandfarligt, kan give alvorlig øjenirritation og forårsage svimmelhed.
- Ethanol er brandfarligt.

Tjek selv alle H- og P-sætninger for de anvendte kemiske forbindelser.

Fremgangsmåde

Ekstraktion

1. Afvej 3 g af en alge i en vejebåd.
2. Klip algen i mindre stykker og knus den i en morter vha. lidt sand.
3. Bland den knuste alge med 30 mL ethanol. Dæk det med stanniol og lad det stå 10 minutter i stinkskalet.
4. Filtrér blandingen over i en 100 mL konisk kolbe.
5. Gentag punkt 1-4 med den anden makroalge.

TLC

1. Overfør løbevæske A til det ene TLC-glas og løbevæske B til det andet TLC-glas og skru lågene på.
2. Markér med blyant en streg 1,5 cm fra bunden på to TLC-plader.
3. Markér fire punkter på den nederste streg med samme afstand fra hinanden.
4. Afsæt med kapillærrøret en dråbe af den ekstraherede væske fra den ene alge på de første to af punkterne og lad det tørre. Gentag 10 gange. Gør nu det samme med ekstraktet fra den anden alge på de sidste to punkter. Gentag proceduren på den anden TLC-plade.
5. Når dråberne er tørret, sættes de to TLC-plader i hver deres glas. Låget skrues på.
6. Løbevæsken vandrer nu op ad TLC-pladen hvorefter pladen tages op vha. en pincet.



7. Markér en blyantstreg hvor væskefronten er nået til.
8. Tag et billede af pladen mens den stadig er våd og igen når den er tør.
9. Opmål herefter afstanden fra den nederste til den øverste blyantstreg og mål også afstanden fra den nederste blyantstreg til hvert af farvestofferne på pladen.

Resultater

Farvestof	Farve	Rødalge	R_f	Brunalge	R_f
Chlorophyl a	Grøn	✓		✓	
β -caroten	Gul	✓		✓	
Antheraxanthin	Gul	✓		✓	
β -cryptoxanthin	Gul	✓			
Lutein	Gul	✓			
Zeaxanthin	Gul	✓		✓	
Fucoxanthin	Orange			✓	
Violaxanthin	Gul			✓	

Tabel 1.

Efterbehandling

1. Beregn en R_f -værdi for hvert af farvestofferne.
2. Vurdér hvorfor den ene løbevæske giver en bedre adskillelse af farvestofferne i algerne end den anden løbevæske.
3. Identificer farvestofferne på TLC-pladerne ved hjælp af figur 2 i følgende artikel:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3742216/> der viser hvordan de forskellige farvestoffer er fordelt på TLC-pladen med en løbevæske der svarer til løbevæske B.
4. Stemmer resultaterne overens med det forventede? Hvorfor/hvorfor ikke?
Inddrag en diskussion af mulige fejlkilder.

Konklusion

Lav en konklusion hvor der tages stilling til om eksperimentets formål er opfyldt.