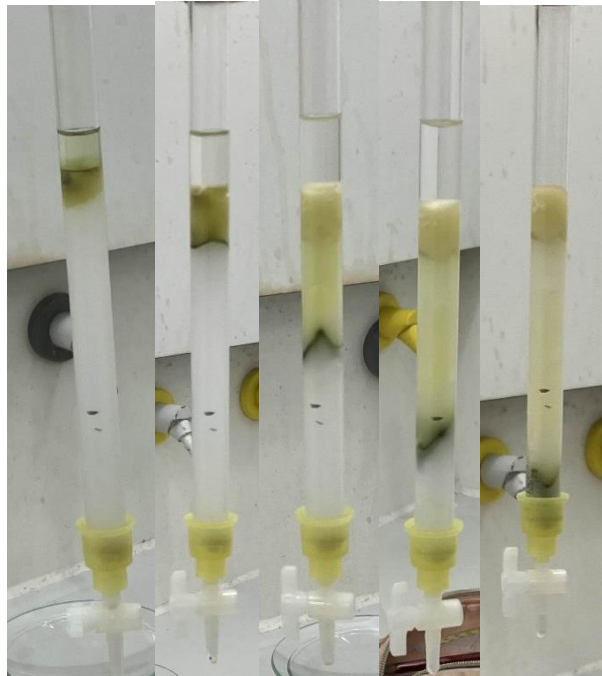


De chlorofyl en caroteen pigmenten uit spinazie extract halen met kolomchromatografie



Uitvoerenden: Els Bouwmeester en Jesper Schuurman

Schrijver verslag: Jesper Schuurman

Datum experiment: 07-02-2025

Datum verslag: 13-02-2025

Inhoudsopgave

1.0 Inleiding	3
2.0 Materiaal en Methode	4
2.1 Materiaal.....	4
2.2 Methode	4
3.0 Waarnemingen en Resultaten	5
4.0 Conclusie	6
5.0 Discussie.....	7
6.0 Bijlagen	8

1.0 Inleiding

Tijdens dit experiment zal er onderzoek gedaan worden naar de Chlorofyl en caroteen pigmenten die zich in spinazie extract bevinden. Dit zal gedaan worden aan de hand van kolomchromatografie en TLC. Deze twee methodes berusten allebei op de oplosbaarheid van stoffen in een specifiek loop middel, wat dus de mogelijkheid geeft om stoffen te scheiden als een stof wel goed in het loopmiddel oplost en een andere stof niet. Dit is ook het geval bij dit experiment waar gebruik wordt gemaakt van twee loopmiddelen, chlorofyl lost goed op in het eerste loopmiddel en caroteen lost goed op in het tweede middel, als er dus eerst loopmiddel 1 (90ml pentaan : 10 ml aceton) gebruikt wordt kan het chlorofyl pigment gescheiden worden en als loopmiddel 2 (80 ml aceton : 20 ml pentaan) vervolgens gebruikt wordt kan caroteen gescheiden worden.

2.0 Materiaal en Methode

In dit hoofdstuk zal eerst aan de hand van een tabel al het materiaal wat gebruikt is genoemd worden en vervolgens zal de manier waarop het experiment is uitgevoerd behandeld worden.

2.1 Materiaal

Tabel 1: Een tabel met alle benodigde/gebruikte stoffen en materialen

Materialen	Spullen
Spinazie extract	Kolom
Pentaaan (C_5H_{12})/Heptaaan(C_7H_{16})	Standaard + houder/klem
Aceton (C_6H_3O)	Bekerglazen
Silica gel (SiO_2)	Horloge glazen
	Pasteurse pipetten
	Geodriehoek/liniaal
	Potlood
	Zand
	Watten
	TLC
	UV licht
	Reageerbuizen + rek

2.2 Methode

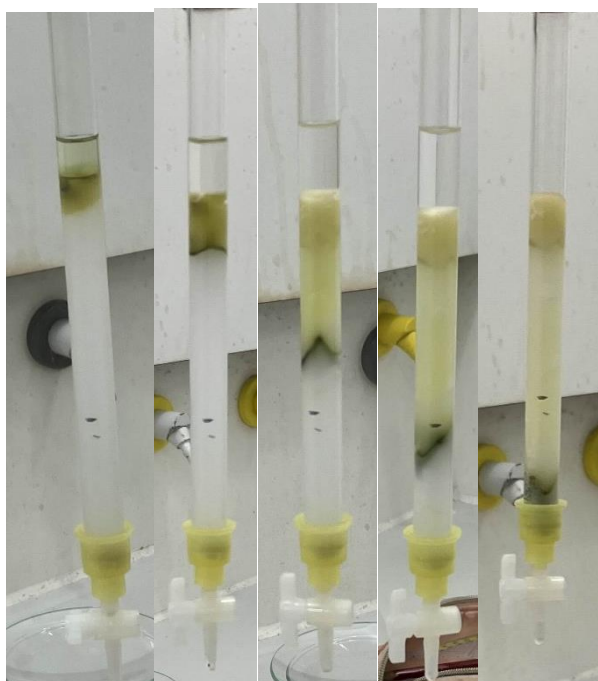
De wijze waarop dit experiment is uitgevoerd is zichtbaar in het labjournaal (bijlage 1 en 2) echter zijn er wel enkele aanpassingen gedaan die nu stapsgewijs behandeld zullen worden.

1. Vanaf stap 5 is er in plaats van pentaan heptaan gebruikt.
2. Bij stap vijf staat 5ml pentaan, echter is er 20 ml gebruikt.
3. Stap 13 is niet uitgevoerd.
4. Het spoelen met 2ml pentaan van stap 5 is niet uitgevoerd.
5. Er is aan loopmiddel 2 extra aceton toegevoegd om het proces te versnellen.
6. Bij stap 28 is in plaats van loopmiddel 1 loopmiddel 2 gebruikt.

3.0 Waarnemingen en Resultaten

Als eerste is de kolom opgezet (figuur 1) waar vervolgens watten, zand, silica gel slurry en een laagje heptaan aan toegevoegd is (figuur 2).

Vervolgens is het spinazie extract toegevoegd waarover constant loopmiddel 1 is toegevoegd hierbij ontstond duidelijk een groen/grijze band wat waarschijnlijk de chlorofyl laag is, deze band ging steeds verder naar beneden in de kolom (figuur 3) en op een gegeven moment kwam deze ook uit het kraantje. Ditzelfde is gedaan voor loopmiddel 2 waar de geel/oranje band die ook zichtbaar is boven in figuur 3 op eenzelfde wijze als de groene band naar beneden begon te lopen.



Figuur 3: Een "time Lapse" van de groen/grijze band die naar beneden stroomt

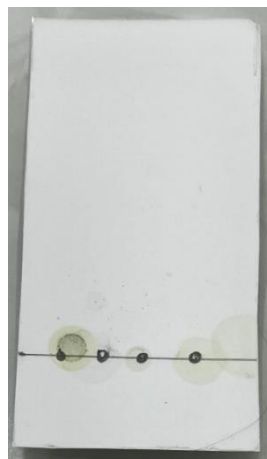


Figuur 1: Kolom met alleen watten



Figuur 2: Kolom met alle benodigdheden toegevoegd

Vervolgens zijn 2 TLC plaatjes klaargemaakt en zijn hier de druppels spinazie extract en pigment fractie opgedaan (figuur 4 en 5). Vervolgens zijn beide TLC plaatjes toegevoegd aan aparte bekers met loopmiddel 2, bij de fractie van loopmiddel 2 was duidelijke verplaatsing zichtbaar en bij de fractie van loopmiddel 1 niet (figuur 6 en 7)



Figuur 6: TLC-plaatje na "lopen" van fractie loopmiddel 1



Figuur 7: TLC-plaatje na "lopen" van fractie loopmiddel 2



Figuur 4: TLC-plaatje voor "lopen" van fractie loopmiddel 2



Figuur 5: TLC-plaatje voor "lopen" van fractie loopmiddel 1

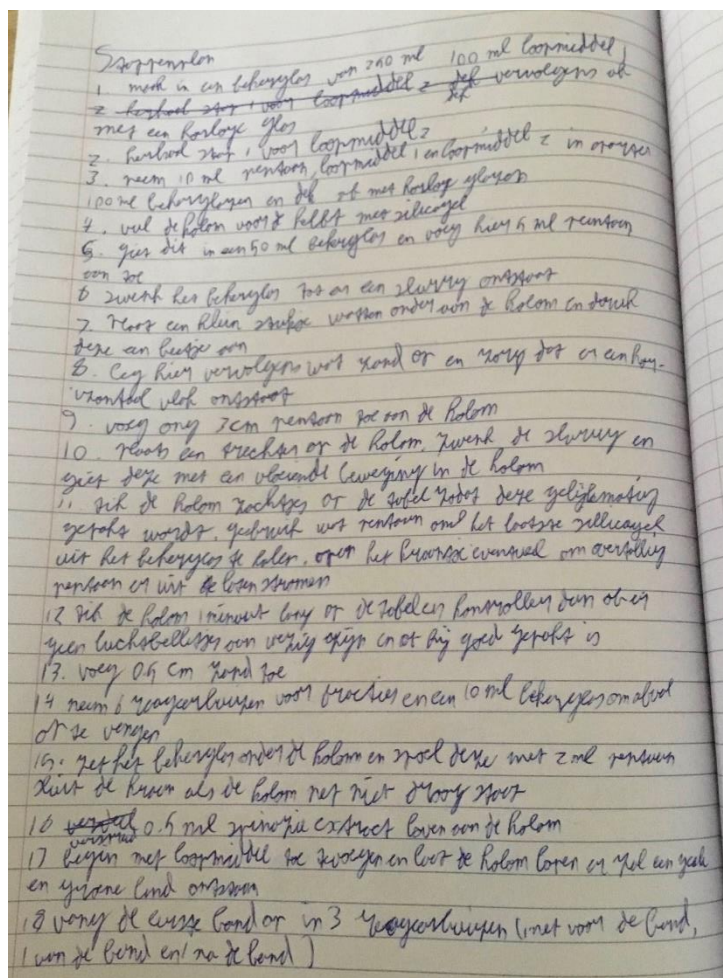
4.0 Conclusie

Er valt dus te concluderen dat er verschillende pigmenten in spinazie extract zitten waarvan een groen pigment gaat lopen door loop middel 1 en een geel/oranje pigment door loopmiddel 2. Het groene pigment is waarschijnlijk chlorofyl en het geel/oranje pigment is waarschijnlijk caroteen.

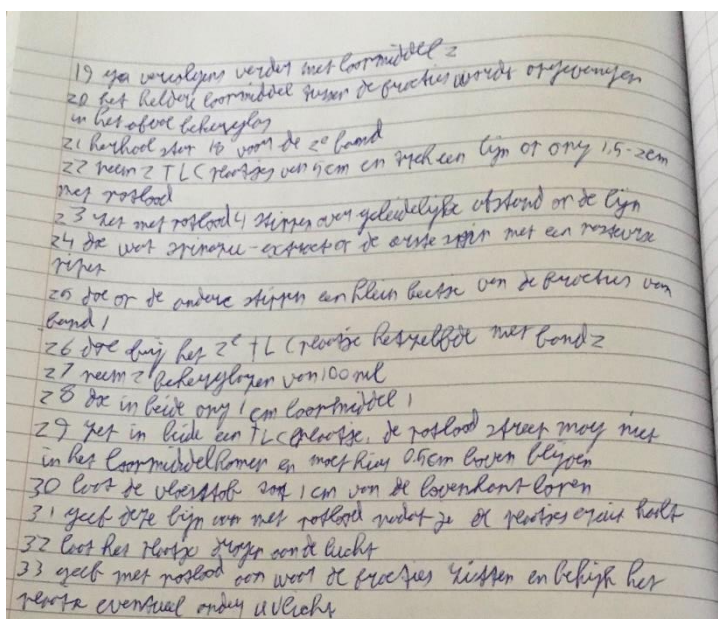
5.0 Discussie

Er zijn verschillende onderdelen die beter hadden gekund tijdens dit experiment. Er was gebruik gemaakt van spinazie extract wat al bijna 2 jaar oud was wat effect kan hebben gehad op het chlorofyl pigment, dit gebeurt namelijk ook bij bladeren als deze uit de boom vallen en een tijdje geen voeding meer krijgen beginnen ze ook grijs/bruin te worden want de groene kleur werd door chlorofyl veroorzaakt. Hierdoor valt ook te verklaren dat de chlorofyl band groen/grijs was in plaats van groen. Verder was het de bedoeling dat voor de TLC-plaatjes een 50/50 van heptaan en aceton gebruikt zou worden in plaats van de 20/80 van loopmiddel 2. De TLC-plaatjes hadden eigenlijk ook in dezelfde loopvloeistof gemoeten zodat ze in precies dezelfde omstandigheden ervaarden. Ten slotte kwamen alle banden er een beetje scheef uit, wat betekend dat er iets in de kolom niet goed recht zat en/of dat er lucht bellen aanwezig waren in het vervolg moet de kolom dus beter aangetikt worden voor dat er te scheiden stoffen in worden gedaan.

6.0 Bijlagen



Bijlage 1: Voorbereiding labjournaal deel 1



Bijlage 2: Voorbereiding labjournaal deel 2