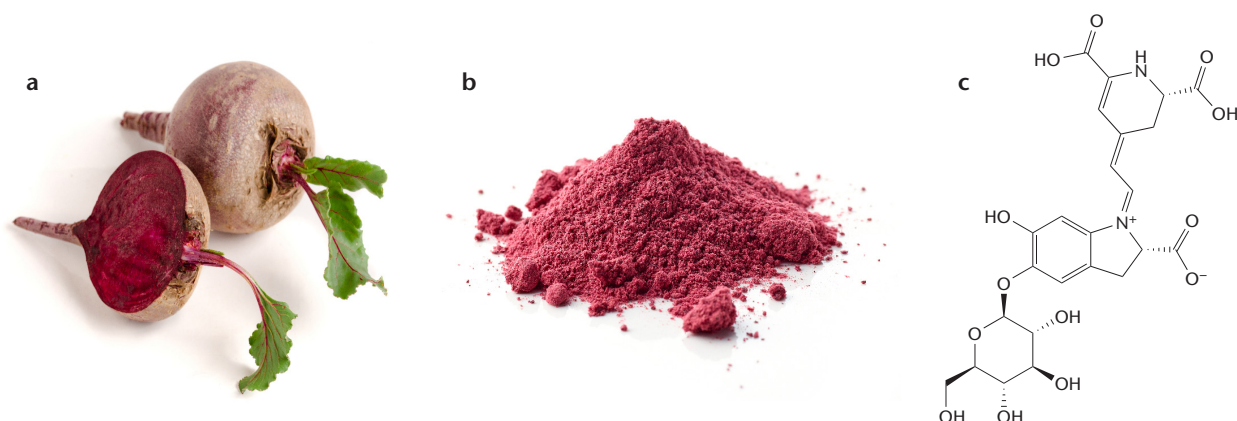




Betanin i rødbeder

Rødbeder har en karakteristisk rødviolet farve. Farven skyldes tilstedeværelse af det vandopløselige farvestof betanin, som er det helt dominerende farvestof i rodknolden, se figur 1.



Figur 1. a. Rødbeder. b. Det røde farvestof betanin. c. Strukturformel for betanin.

Betanin er en naturlig antioxidant, og indtagelse af rødbeder anses derfor for at kunne være kræftforebyggende. Læs evt. mere om antioxidanter i temaet 'Antioxidanter i mad og drikke' side 254-258 i bogen 'I gang med kemi'. Betanin anvendes som farvestof i levnedsmidler, slik m.m. og har E-nummeret E162.

I dette eksperiment er formålet at bestemme indholdet af betanin i rødbeder. Tidligere undersøgelser har vist at det normale indhold ligger omkring 300-600 mg/kg rødbede.

Indholdet bestemmes ved hjælp af spektrofotometri, og betanin har et absorptionsmaksimum ved 525 nm. Læs mere om spektrofotometri side 34-41 i Videre med kemi.

Betanin nedbrydes når det udsættes for lys, varme og dioxygen, især når det findes i en vandig opløsning. Derfor skal opløsninger fremstilles umiddelbart før brug og opbevares i mørke indtil anvendelse.

Materialer

- Rødbeder (1-2 stk.)
- Stamopløsning med betanin E162 ($1 \cdot 10^{-4}$ M)
- Demineraliseret vand
- Kartoffelskræller
- Kniv og skærebræt
- Blender eller rivejern
- Tragt og filtrerpapir
- Stanniol
- Mærkater, malertape el.lign.
- Målekolber 100 mL, 6 stk. til standard-opløsninger
- Falconrør eller bægerglas, 6 stk. til standardopløsninger + 4 ekstra til prøveopløsninger
- Reagensglas
- Fuldpipetter eller mikropipetter + spidser (10 mL, 5 mL og 1000 μ L)
- Engangspipetter
- Spektrofotometer med tilhørende kuvetter
- Vægt



Fremgangsmåde

De to første punkter er fælles for klassen. Det kan betale sig at læse hele fremgangsmåden grundigt igennem inden start, og evt. fordele opgaver mellem forskellige elever og hold.

Fremstilling af rødbedeekstrakt

1. Skræl et par rødbeder, og skær dem i mindre stykker.
2. Blend eller riv rødbedestykkerne med 100 mL demineraliseret vand pr. 10 g rødbede.
3. Fordel den blendede masse i et antal bægerglas, der svarer til antallet af hold i klassen.
4. Filtrér den blendede masse over i et Falconrør eller bægerglas.
5. Fremstil en fortyndingsrække ved hjælp af reagensglas, mikropipette, rødbedeekstrakt og demineraliseret vand, så der opnås en forsøgsserie på 100 %, 50 %, 25 % og 12,5 % af koncentrationen af det oprindelige rødbedeekstrakt.
6. Pak glassene ind i stanniol og mærk dem både på glas og på stanniol.

Fremstilling af standardopløsninger

Opgaven kan evt. deles mellem klassens hold.

7. Fremstil vha. pipetter og 100 mL målekolber en fortyndingsrække ud fra stamopløsningen med følgende koncentrationer:
 $1 \cdot 10^{-6}$ M, $2 \cdot 10^{-6}$ M, $4 \cdot 10^{-6}$ M, $6 \cdot 10^{-6}$ M, $8 \cdot 10^{-6}$ M, $10 \cdot 10^{-6}$ M.
8. Overfør opløsningerne til Falconrør eller lignende. Pak rørene ind i stanniol og mærk dem både på rør og på stanniol.

Klargøring af spektrofotometer

9. Et spektrofotometer med tilhørende dataopsamlingsprogram klargøres med demineraliseret vand som blindprøve. (På bogens hjemmeside findes en vejledning til et Vernier spektrofotometer med tilhørende dataopsamlingsprogram.)
10. Fyld ved hjælp af en engangspipette en kuvette 4/5 op med 50 % opløsningen af rødbedeekstraktet. Placér den i kuvetteholderen.
11. Optegn et absorptionsspektrum. Hvis absorbansen overstiger 1 ved nogle af bølglængderne, optegnes et nyt absorptionsspektrum med en mere fortyndet prøve af rødbedeekstraktet. Absorptionsmaksimun skal gerne ligge i nærheden af 525 nm.
Anvend bølglængden med den højeste absorbans i de videre målinger.

Målinger af standardopløsninger og rødbedeekstrakt

12. Fyld en kuvette 4/5 op med en af standardprøverne, og placer den i kuvetteholderen. Mål og notér absorbansen.
13. Gentag for de øvrige standardprøver samt fortyndingerne af rødbedeekstrakt.
Lav gerne dobbeltbestemmelser.
Kun prøver med værdier under 1 anvendes i efterbehandlingen.



Efterbehandling

1. Forklar hvorfor betanin er et vandopløseligt stof.
2. Begrund ud fra betanins strukturformel, at det er en farvet forbindelse.

Præsentation af absorptionsspektrum

3. Vis en afbildning af et absorptionsspektrum for rødbedeekstrakt, og forklar ud fra dette, hvorfor betanin har en rødviolet farve.

Fremstilling af standardkurve

4. Vis beregninger af standardopløsningernes stofmængdekonzentrationer. Husk forklarende tekst.
5. Afbild i Excel eller andet grafprogram sammenhørende værdier mellem stofmængdekonzentration og absorptions af standardprøver. Sørg for at der er betegnelser og enheder på akserne.
6. Indsæt lineær tendenslinje med tilhørende forskrift.

Bestemmelse af koncentrationen af betanin i rødbeder

7. Beregn koncentrationen af betanin i ekstrakterne ud fra forskriften for standardkurven. Husk forklarende tekst.
8. Omregn koncentrationerne til mg/mL, idet betanins molarmasse er 550,5 g/mol.
9. Beregn dernæst indholdet af betanin i rødbeder i mg/kg rødbede.

Diskussion

10. Diskutér resultaterne.
 - a. Stemmer resultatet for betaninindholdet overens med tabelværdien på 300-600 mg/kg?
 - b. Hvilke fejlkilder kan ligge til grund for afvigelser fra tabelværdien?
 - c. Hvorfor anvendes ikke prøver hvor absorptionsen overstiger 1?

Konklusion

11. Lav en konklusion (præsenter det endelige resultat og tag stilling til om formålet er opfyldt).