



24th of April 2012

Experiment 1

TAKEN

Belgium

TEAM A

Amber



Algemene instructies

Draag steeds de plastic labojas en de veiligheidsbril (de bril mag je wel aflaten wanneer je door de microscoop kijkt).

Eten en drinken in het labo zijn verboden

Bij de taken 2 en 3 draag je wegwerphandschoenen.

Alle papieren, ook de kladbladen, worden ingediend op het einde van het experiment.

Je noteert alle antwoorden en resultaten op je antwoordbladen.

Je grafieken geef je samen met de antwoordbladen af.

Slechts één set antwoordbladen (de nette versie) en de erbij horende grafieken zullen verbeterd en gequoteerd worden!

Het experiment bestaat uit 4 taken, die je naar believen individueel of samen mag oplossen.

Taak 1: 25 punten

Taak 2: 25 punten

Taak 3: 25 punten

Taak 4: 5 punten



Inleiding:

Baltische amber is gekend als 'Goud van de Baltische staten'. Het wordt alleen rond de Baltische zee gevonden. Een groot stuk cirkelvormig amber (met de grootte van een hoofd) en gekend als de 'Zonnesteen', wordt geschat op een waarde van 250 000 euro.

Voor de Feniciërs was amber zeer waardevol. De Litouwers noemen amber 'Gintaras'. De meest waardevolle zijn die met insluitsels. Vroeger werden ze verhandeld voor 120 zwaarden of 1200 speren.

De Litouwse Historische vereniging wil de jonge wetenschappers van de E.U. de waarde laten bepalen, die de 'Zonnesteen' zou hebben gehad in de tijd van de Feniciërs.

Je taak bestaat erin de hypothetische waarde van de 'Zonnesteen' te bepalen.

De waarde van de 'Zonnesteen' wordt bepaald door zijn massa, kleur, intensiteit van de kleur, dichtheid en insluitsels. Probeer nu, door gebruik te maken van de catalogoog die je in taak 4 krijgt, het bedrag te bepalen die de verkoper (die we Gintaras noemen) zou krijgen op de Fenicische markt.



TAAK 1: Identificatie van geledpotigen

De aard van de in de amber ingesloten planten of dieren hangt af van de verspreiding van hars producerende bomen en van de toen heersende omstandigheden. Insecten vormen de meest voorkomende insluitels. Zij vertegenwoordigen 86-92% van alle insluitels; spinachtigen (arachniden) vertegenwoordigen 7.5-13%, andere geledpotigen 0.1-1.7%, planten 0.4%. Andere fyla, zoals wormen, weekdieren en gewervelden komen zeer zelden voor.

Een amberbos was een gebied met diverse habitats. Zo werden na verloop van tijd ingeloten insecten gevonden in wouden, moerassen, weiden, meren en rivieren.

Je taak bestaat erin zeven geledpotigen te determineren, die gevonden werden in stukken amber. Steunend op je resultaten zal je moeten uitmaken, welke ingesloten geledpotige de grootste prijs zal opleveren voor het bewuste stuk amber

Uitrusting en materiaal:

- 7x verschillende geledpotigen in genummerde schaaltes
- 7x voorwerpglasjes
- 18 mm dekglasjes
- 1x naald
- 1x pincet
- 1x flesje met glycerol
- 1x stereoscopische microscoop
- 1x determinatietabel (in de omslag)

Hoe maak je een tijdelijk micropreparaat van lichaamsdelen van een geledpotige

- Trek voorzichtig de vleugel, antenne of poot van het diertje; doe dit zo dicht mogelijk bij het lichaam.
- Doe op een voorwerpglasje een druppeltje glycerol.
- Doe het afgetrokken lichaamsdeel in de glyceroldruppel.
- Bedek met een dekglasje.
- Bekijk het preparaat onder de microscoop.

Op één voorwerpglas kan je drie druppels glycerol aanbrengen en zo diverse lichaamsdelen van één ongewervelde tezeldertijd bestuderen.

NOTA: de diertjes moeten steeds op deze manier bekeken worden onder de microscoop, ofwel in hun schaaltes!



Taak 1.1. Het geven van de juiste naam

In de biologie maakt men gebruik van determinatietabellen om een organisme te benoemen. Vaak maakt men gebruik van **dichotomische tabellen**. Via een systeem van stappen, waarbij men steeds kan kiezen tussen verschillende opties, bekomt men uiteindelijk de naam van het organisme.

Bepaal nu telkens de naam van de zeven specimen die je gekregen hebt. Indien je een bepaald kenmerk uit de tabel niet met het blote oog kan zien, dien je een microscopisch preparaat van het bewuste lichaamsdeel te maken.

Noteer op je antwoordblad de opeenvolgende stappen die je gevolgd hebt in de tabel (1.1.1) alsook de respectievelijk namen van de geleedpotigen (1.1.2)

Algemene morfologie van de insecten

Insectenvleugel. Insectenvleugels hebben starre aders, die de vleugel ondersteunen tijdens de vlucht (Fig.1). Het aderspatroon verschilt van insectengroep tot insectengroep (Fig. 2 A-B). Wetenschappers hebben ontdekt dat alle insectenvleugels afstammen van één gemeenschappelijke voorganger; m.a.w. insectenvleugels zijn slechts eenmaal ontstaan tijdens de wordingsgeschiedenis van een insect.

Men kent verschillende vleugelvormen bij insecten:

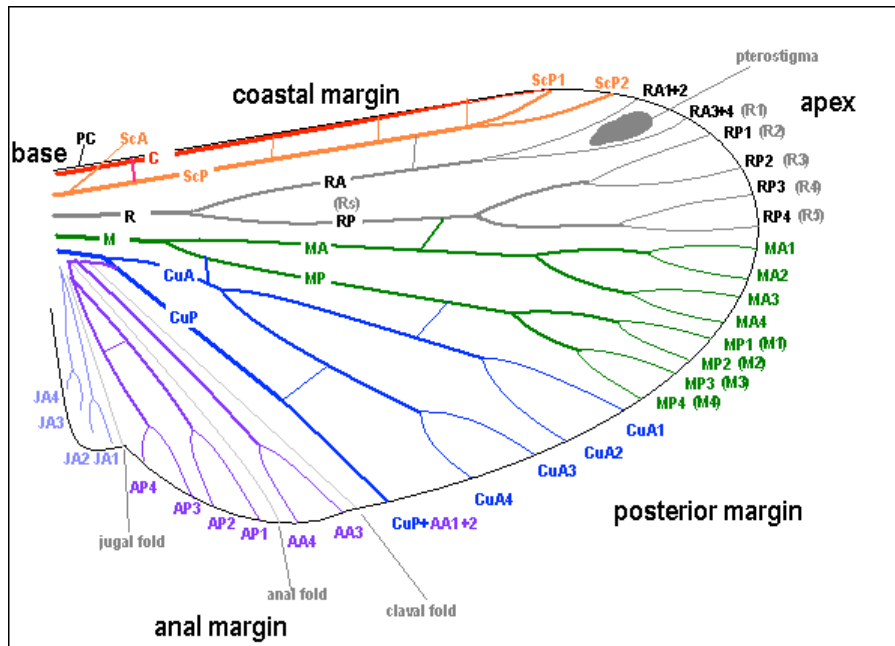
- Twee paar gelijk ontwikkelde vleugels
- Het eerste paar groter dan het tweede
- Het eerste paar verhard (schilden) en het tweede paar vliesvormig
- Het eerste paar vliesvormig en het tweede paar haltervormig
- enz...

Fossielen van primitieve insecten hadden 8 paar hoofdaders in de vleugels. Elk paar splitst in een ader naar de convexe **voorzijde (anterior)** en een ader naar de concave **achterzijde (posterior)** (vb. MA en MP).

Gedurende de evolutie neemt het aantal aders in een insectenvleugel gewoonlijk af.

Costa (C) – deze grote stevige ader verloopt langs de voorrand van de vleugel tot de top (apex)

Precosta (PC) – is bij alle huidige insecten versmolten met de costa.



Figuur 1. Aderpatroon van een typische insectenvleugel

Subcosta (Sc) – tweede ader die in de lengterichting loopt en die wordt gevonden in de 'subcosta posterior sector' (**ScP**).

Radius (R) – gewoonlijk de stevigste ader in de vleugel, met vertakkingen (**RA** en **RP**) die vaak het grootste gebied van de vleugeltop bestrijken. **RP** en **RA** worden gewoonlijk aangeduid als de 'radiale sectoren' (**Rs**) en men nummert de vertakkingen als **R1-5**.

Media (M) – derde 'lengteader', **MA** en **MP** hebben gewoonlijk elk 4 vertakkingen.

Cubitus (Cu) – de vijfde 'lengteader', **CuA** kan tot 4 vertakkingen vertonen.

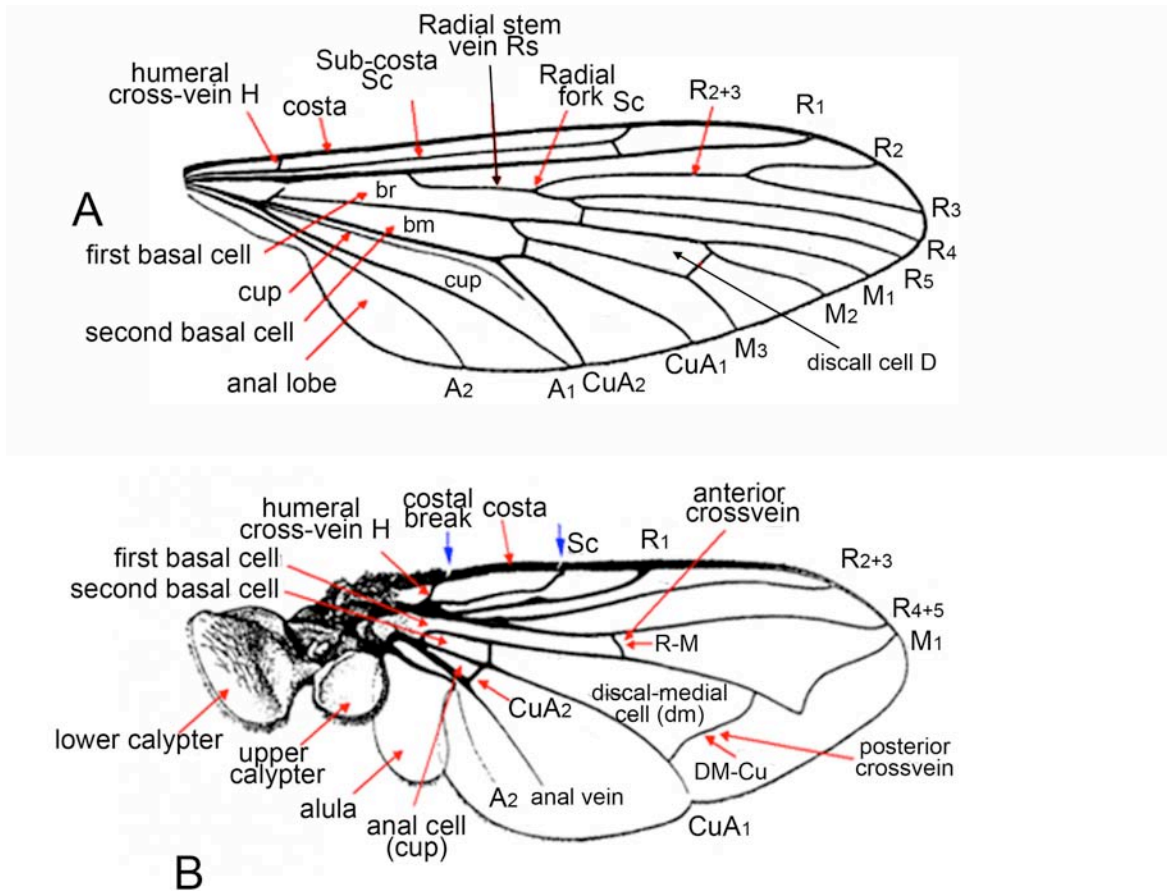
CuP daarentegen is niet vertakt en loopt tot tegen de onder achterrand van de vleugel.

Anal aders (A) liggen achter de cubitus. **De anale plooi scheidt gewoonlijk AA van AP.**

Jugal (J) – kleine aders in het jugale gebied. Deze worden alleen bij sommige insecten aangetroffen.

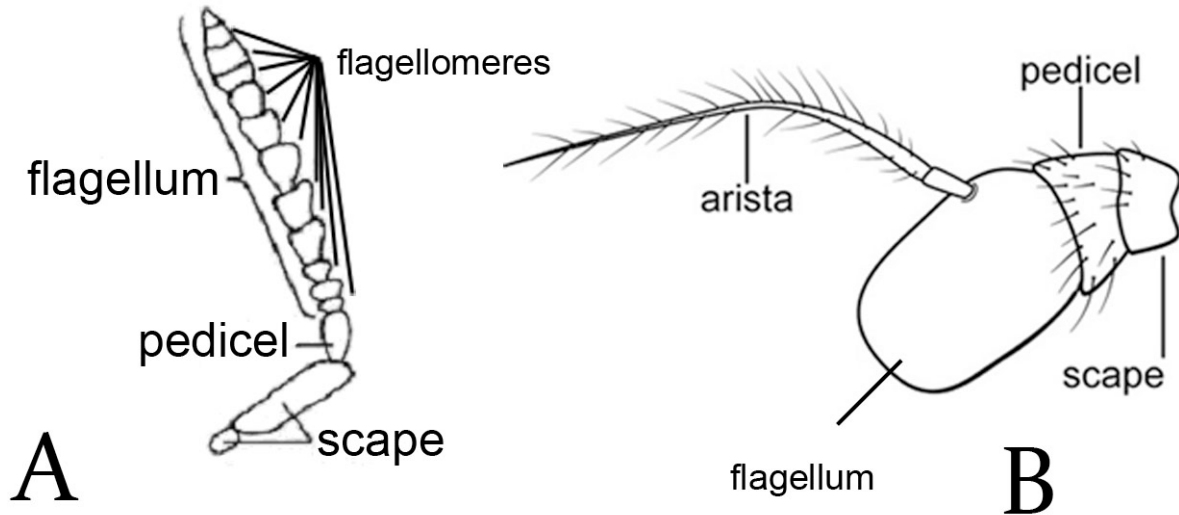
De zwarte **pterostigma** ligt bij de vleugeltop, tussen **RA1+2** en **RA3+4**.

In de vleugel vindt men ook dwarsaders, die de lengteaders onderling verbinden. Hun naam wordt bepaald door hun ligging t.o.v. de lengteaders; zo is **r-m** de verbinding tussen de radius en media lengteaders.



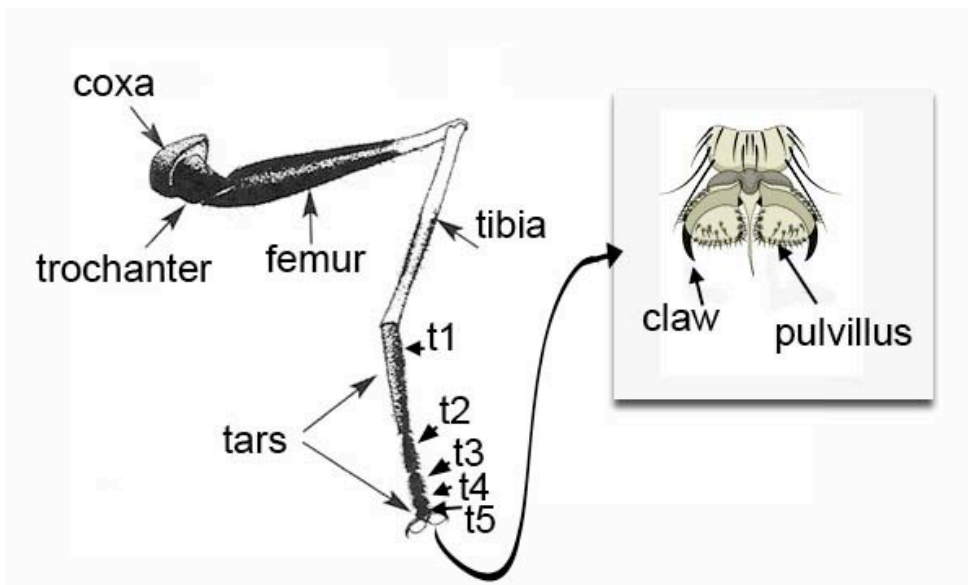
Figuur 2. Vleugels van echte vliegen: A. meer primitief B. meer geavanceerd

Antennes: bij de insecten en vele andere geleedpotigen zijn de antennes de belangrijkste reukorganen. Zij staan ingeplant op de kop tussen de ogen en zijn voorzien van talrijke voelhaartjes, die gepaard zijn, beweeglijk of geled. De drie basissegmenten van een typische insectenantenne zijn de 'scape' (basis), de 'pedicel' (stam) en tenslotte de 'flagellum'. Deze laatste bestaat uit talrijke eenheden (flagellomeren) en kan vedervormige of vezelvormige uitgroeiingen (arista) vertonen (Fig. 3B). Het aantal flagellomeren kan zeer sterk variëren en wordt vaak bij het determineren gebruikt.



Figuur 3. Insectenantenne A – de primitievere (kever), B. – de minder primitieve (echte vlieg)

Insectenpoot: Insecten en hun verwanten hebben zes poten, ze worden hexapoda genoemd. Elke poot bestaat uit vijf delen. Vanaf het lijf naar het uiteinde van de poot zijn dat achtereenvolgens coxa, trochanter, femur, tibia, en tarsus (zie Fig.4). Elk bestaat uit een enkel segment, behalve de tarsus, die uit drie tot en met zeven segmenten kan bestaan, tars of tarsomeren genoemd ($t_1, t_2, \dots t_7$). Aan het einde van de tarsomeren zitten klauwtjes (Engels claws) of iets dat daarop lijkt. Daardoor kunnen insecten zich aan oppervlakten vasthouden.



Figuur 4. Delen van een insectenpoot, voorbeeld van een vliegenpoot.



Taak. 1.2.: Zoek de kenmerken en teken de fylogenetische stamboom

Om te weten welke geleedpotige het duurste is, moet je erachter komen welke insluitingen in het barnsteen (amber) het meest zeldzaam zijn. Daarvoor moet je een kenmerkenmatrix maken en een fylogenetische boom compleet maken.

1.2.1. Hoe geef je de toestand van een kenmerk aan?

De toestand van een kenmerk wordt gewoonlijk met twee symbolen aangegeven: **0** als de toestand van het kenmerk verschilt van wat er gesteld wordt; **1** als de toestand van het kenmerk precies hetzelfde is als wat er gesteld wordt. Een toelichting erbij. Stel dat er gesteld wordt: *de geleedpotige heeft ogen*. Als de geleedpotige die jij aan het observeren bent ogen heeft, schrijf je een **1** op. Als dat niet het geval is schrijf je een **0** op. Als het over stuurkenmerken gaat, die jouw geleedpotige helemaal niet heeft, schrijf je een **0** op (bijv., als gesteld wordt "*de poten hebben lange klauwtjes*" en jouw dier heeft geen poten, dan schrijf je een **0** op). Het is vergelijkbaar met het JA en NEE zeggen in de determinatietabel (identificatiesleutel).

Je gaat voor elk van de zeven geleedpotigen 10 vragen (zie A-J hieronder) beantwoorden over de kenmerken door **0** of **1** te noteren totdat alle cellen van de tabel op het antwoordblad ingevuld zijn. Je zult bepaalde lichaamsdelen moeten prepareren en bekijken met een microscoop om je te helpen bij het beantwoorden van de 10 vragen. In elke kolom komt minstens een keer een "1" toestand van een kenmerk te staan.

De stellingen zijn:

- A. Ogen zijn aanwezig en bestaan uit veel deeltjes (facetten).
- B. Goed ontwikkelde vleugels zijn aanwezig, sommige kunnen stevig zijn.
- C. Slechts twee goed ontwikkelde vleugels zijn aanwezig, het tweede paar is veranderd in een haltervormige structuur.
- D. Het gehele oppervlak van alle vleugels is bedekt met haren.
- E. Vier ontwikkelde vleugels zijn aanwezig.
- F. Twee vleugels zijn aanwezig, 7 of meer adertjes bereiken duidelijk de rand van de vleugel.
- G. Twee vleugels zijn aanwezig, een groot pterostigma is aanwezig boven het einde van het eerste radiale adertje.
- H. Twee vleugels zijn aanwezig, het eerste mediale adertje gaat niet in een rechte lijn naar het vleugeluiteinde, maar het eindigt bij het radiale adertje of er heel dichtbij bij de vleugeltop.
- I. Twee vleugels zijn aanwezig, t4 van de achterpoot heeft een diepe deuk en ziet eruit als de letter "v".

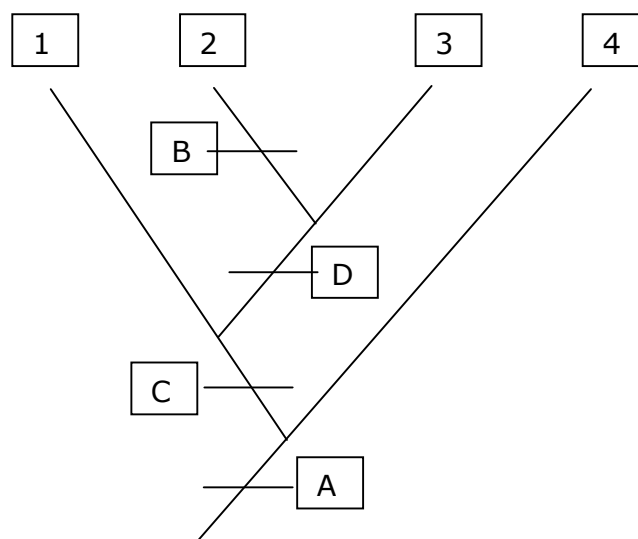


- J. Twee vleugels zijn aanwezig; de eerste basale cell (the first basal cell) is ongeveer drie keer langer dan de tweede basale cell (the second basal cell).

Schrijf de verschillende toestanden van de kenmerken op in je **Antwoordblad**.
(1.2.1.)

1.2.2. Maak de fylogenetische stamboom af

Alle geleedpotigen delen een gemeenschappelijke voorouder. De gelijkenissen en de verschillen tussen de groepen organismen zijn de resultaten van een vertakkings- en aftakkingsproces in de fylogenetische stamboom. De constructie van een fylogenetische stamboom van bestudeerde soorten berust op het idee om specifieke karakteristieken van de soorten te vergelijken. Deze karakteristieken zijn (de toestanden van) de kenmerken die je ingevuld hebt in taak 1.2.1. In de voet van de boom (de wortel) zullen de meest primitieve soorten te vinden zijn en zij zullen een 0 hebben voor de meeste kenmerken. Nieuwe kenmerken in andere soorten worden voorgesteld als takken van de boom. Als verschillende soorten overeenkomen in kenmerken, dan moeten ze met elkaar verbonden zijn, verwant zijn. Kenmerken die specifiek voor slechts één soort zijn vormen een nieuwe groep in de stamboom, en in de stamboom komen zij het verst verwijderd van de wortel te staan.



Figuur 5. Een voorbeeld van een fylogenetische stamboom A-D kenmerken, 1-4 soorten (nummer van de schaaltes)

Vul de fylogenetische stamboom in op het **Antwoordblad**. **(1.2.2.)**



1.2.3. De waarde van de amberstukken

Het stuk amber waarin de meest primitieve geleedpotige opgesloten zit, is het meest kostbare. Dat is de geleedpotige die op de eerste tak van jouw fylogenetische stamboom staat.

Noteer het nummer van het schaalpje met de meest primitieve geleedpotige op het Antwoordvel (1.2.3.)

Einde van **TAAK 1.**



Blank paper.



TAAK 2: Kleur en metingen van kleurintensiteit

Fenicische kooplieden bepaalden de prijs van barnsteen (amber) aan de hand van de mooiheid van de kleur en de kleurintensiteit. De kleur van barnsteen hangt samen met de verhouding waarin twee componenten (kleurstoffen) voorkomen: rood en geel. De kleurintensiteit is afhankelijk van de totale hoeveelheid kleurmengsel in het materiaal. Het is zeer moeilijk om kwalitatief de kleur en de kleurintensiteit van een stuk barnsteen te meten. Daarvoor zal de volgende natuurwetenschappelijke methode worden gebruikt.

Je zult gebruik gaan maken van de technieken: dunnelaagchromatografie (Thin Layer Chromatography (TLC)), kolomchromatografie (Column Chromatography (CC)) en colorimetrische analyse. TLC wordt gebruikt om de componenten van een kleurstofmengsel te indentificeren. Daarnaast wordt TLC gebruikt om een geschikt oplosmiddel (eluens) te vinden voor CC. CC is de scheidingstechniek die gebruikt wordt om de verschillende componenten (de kleurstoffen in ons geval) apart in handen te krijgen. Tenslotte kan door middel van colorimetrische analyse de kwantitatieve hoeveelheden bepaald worden van de kleurstoffen in het mengsel.

De benaming "Zonnesteen" is een niet bruikbare eigenschap. Om de kleur en de kleurintensiteit te bepalen wordt een imitatie gebruikt in plaats van echte barnsteenstukjes. Vandaag zul je een kleurstof onderzoeken die vergelijkbare colorimetrische eigenschappen heeft als "Zonnesteen".

Benodigheden:

- 1 x buret (gevuld met silicagel en bevestigd aan een statief)
- 1 x trechter
- pincet
- 1 x 50 mL erlenmeyer "TLC Eluent"
- 2 x 5 mL pipet met schaalverdeling
- 4 x pasteurpipet met speentje
- 4 x TLC-plaatjes
- 1 x bekersglas voor afval (afvalvat of "Organic waste")
- 4 x capillairtjes
- 4 x 50 mL cilinder
- 1 x 50 mL bekersglas
- 1 x petrischaal
- 1 x 50 mL erlenmeyer bevattend "Yellow colourant standard solution" (geel gekleurde

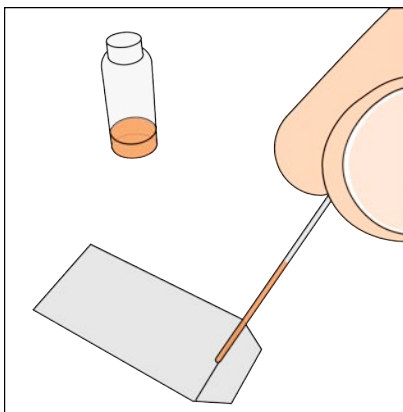


standaardoplossing)

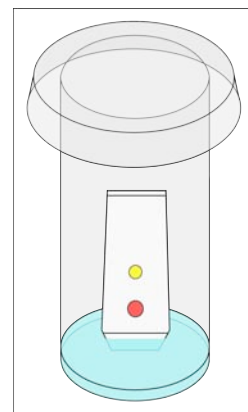
- 1 x 50 mL erlenmeyer waarin "Red colourant standard solution" (roodgekleurde standaardoplossing)
- 1 x 100 mL erlenmeyer waarin eluens zit met label "Eluent"
- 1 x 5 mL flesje met een gekleurd mengsel voor kolomchromatografie
- 1 x 2 mL flesje met een gekleurd mengsel voor dunnelaagchromatografie "TLC sample"
- 1 x 20 mL flesje waarin ethylacetaat (= ethylethanoaat) "Ethyl Acetate"
- 1 x 20 mL flesje waarin petroleumether "Petroleum Ether"
- 2 x stickers "Isolated colourant" voor de geïsoleerde kleurstoffen
- Velletjes papier

2.1. Dunnelaagchromatografie

Dunnelaagchromatografie (TLC) is een techniek om mengsels te scheiden. Ze vindt plaats op een plaat, die is gecoat met een dunne laag silicagel – de stationaire fase. Een glascapillairtje wordt gebruikt om een kleine hoeveelheid van het te analyseren mengsel te brengen op de startlijn van het TLC-plaatje, zodanig dat er een klein vlekje ontstaat (Fig. 6). Een ontwikkelkamer (een bekersglas afgesloten met een omgekeerd petrischaaltje) is gevuld met het gewenste eluens (de mobiele fase), zodanig het vloeistofniveau 2-3 mm hoog staat in het bekersglas en dus onder der startlijn blijft. Het TLC-plaatje met de opgebrachte vlekjes wordt met een pincet verticaal in de ontwikkelkamer geplaatst. De ontwikkelkamer wordt direct afgesloten met een petrischaaltje (Fig. 7).



Figuur 6. Opbrenging op een TLC-plaatje



Figuur 7. Ontwikkeling van het TLC-plaatje

Gedurende het experiment zal het eluens (loopvloeistof) stijgen op de het plaatje. Als het vloeistoffront van het eluens de "finish"-lijn bereikt, moet het TLC-plaatje met de pincet uit de



ontwikkelkamer verwijderd worden. De R_f -waarde (retardatiefactor) van iedere vlek op het TLC-plaatje kan daarna berekend worden.

R_f is de verhouding van de afstand afgelegd door het centrum van de vlek t.o.v. de afstand die het vloeistoffront afgelegd heeft gemeten vanaf de startlijn. Bijvoorbeeld, als een bepaalde vlek 2,5 cm omhoog loopt en het vloeistoffront 5,0 cm, dan is de R_f -waarde 0,50. Iedere stof heeft een unieke R_f -waarde, die afhankelijk is van het gebruikte eluens.

Voor een effectieve scheiding moet een geschikt eluens gekozen worden. Om een mengsel van twee gekleurde componenten te scheiden, proberen we drie verschillende eluentia uit, die onderling verschillen in de volumeverhouding waarin petroleumether en ethylacetaat erin voorkomen.

Opmerking: Je hebt een extra TLC-plaatje en capillairtje gekregen. Je kunt deze gebruiken in het geval er iets misgaat.

Volg de onderstaande instructies op:

1. Bereken de volumina om 5,0 mL mengsels te maken van petroleumether en ethylacetaat met volumeverhouding: 9:1 en 3:1. Laat je berekeningen zien op het Antwoordblad (**Taak 2.1.1.**).
2. Bereid 5 mL mengsel met de verhouding 9:1. Maak gebruik van de pipetten met maatverdeling om de noodzakelijke volumes van petroleumether en ethylacetaat over te brengen in een lege 25 mL erlenmeyer die gelabeld is met "TLC eluent". De pipetteerbalk moet samen gedeeld worden met de teamgenoot (of teamgenoten) die werkt (of werken) aan taak 3.
3. Voeg een gedeelte van het bereide eluens vanuit de erlenmeyer gelabeld met "TLC eluent" toe aan de TLC-ontwikkelkamer, zodanig dat de hoogte van het vloeistofniveau ongeveer 2-3 mm is. Plaats het petrischaaltje op de ontwikkelkamer om te voorkomen dat vluchtige oplosmiddelen kunnen verdampen.
4. Gebruik een capillairtje om een vlekje van het te onderzoeken kleurstofmengsel op het TLC-plaatje te brengen. Gebruik een pincet om het TLC-plaatje verticaal in de TLC-ontwikkelkamer te plaatsen en dek de ontwikkelkamer weer af met het petrischaaltje.

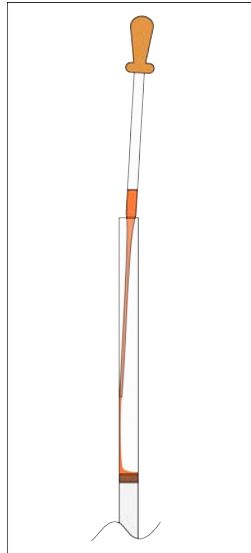


5. Wacht tot het eluens (loopvloeistof) de finishlijn heeft bereikt. Gebruik dan de pincet om het TLC-plaatje eruit te halen en wacht tot het droog is. Giet het resterende eluens in de afvalvat (het bekeerglas voor afval "Organic waste"). Houd het afvalvat afgesloten met een velletje papier om verdamping zoveel mogelijk te voorkomen.
6. Bereken de R_f -waarde. Laat je berekeningen zien op het Antwoordblad (**Taak 2.1.2**).
7. Herhaal het experiment (de stappen 2 tot en met 6) met het andere eluens (de mobiele fase van petroleumether en ethylacetaat met de volumeverhouding 3:1). Wees er attent op om een nieuw TLC-plaatje te gebruiken voor ieder nieuw experiment.
8. Herhaal nog eens de dunnelaagchromatografie, gebruik makend van het betreffende eluens uit de fles "Eluent" en laat je berekeningen zien op het Antwoordblad (**Taak 2.1.2**).
9. Rond dit gedeelte op het Antwoordblad af door de volgende onderdelen te beantwoorden:
Taak 2.1.3 t/m Taak 2.1.6.
10. Stop de TLC-plaatjes terug in het plastic zakje.

2.2. Kolomchromatografie

Terwijl de TLC hoofdzakelijk gebruikt wordt om mengsels kwalitatief te analyseren, kan kolomchromatografie (CC) toegepast worden op mengsels variërend van microgrammen tot kilogrammen. Bij deze techniek neemt het eluens (mobiel fase) de componenten langzaam mee naar beneden. De verschillende stoffen bewegen met verschillende snelheid mee naar beneden, afhankelijk van hun R_f -waarden. Wanneer een fractie van een component uit de kolom komt druppen, moet een ander leeg opvangvat onder de kolom geplaatst worden. Op deze manier kunnen meerdere verschillende fracties apart opgevangen worden in opvangvaten.

In dit deel wordt kolomchromatografie gebruikt om verschillende kleurstoffen in een bepaald monster te scheiden. Volg de instructies:



Figuur 8. Overbrenging van het monster op de kolom in de buret

1. De buret is al gevuld met silicagel en het eluens gebruikt bij de TLC-analyses. Plaats de afvalcontainer onder de buret en laat met behulp van het kraantje voorzichtig het vloeistofniveau zakken tot precies de bovenkant van de kolom, de zandlaag.
2. Gebruik de pasteurpipet om het gehele kleurstofmengsel over te brengen op de zandlaag. Laat de vloeistof daartoe voorzichtig en langzaam druppelsgewijs langs de buretwand naar beneden stromen, zodat het zandlaagje bovenop de kolom niet verstoord wordt. (Fig. 8).
3. Doe heel voorzichtig het kraantje open, zodat het mengsel de bovenkant van de kolom kan doordrenken. Sluit het kraantje onmiddellijk als het mengsel in de zandlaag getrokken is.
4. Gebruik een nieuwe pasteurpipet en was met zo weinig mogelijk eluens al het resterende gedeelte van het mengsel dat aan de binnenkant van de buret zit, naar beneden.
5. Herhaal stap 3.
6. Gebruik de laatste pipet om de buret langzaam te vullen met eluens. Denk eraan om niet de zandlaag te verstoren terwijl je de buret helemaal tot bovenin vult. Als er geen kans meer is dat de zandlaag verstoord wordt, kan de rest van het eluens direct vanuit de fles in buret gegoten worden met behulp van een trechter.
7. Cromatografie komt op gang als de buretkraan wordt geopend. Let op de kleurstofscheiding, maar pas op – **De bovenkant van het eluens mag niet de zandlaag bereiken. De zandlaag mag dus niet droogvallen!** Daarom zul je van tijd tot tijd wat meer eluens moeten toevoegen aan de buret.



8. Als de eerste kleurstofbevattende fractie uit de buret zal beginnen te komen, vervang dan het afvalvat door de maatcilinder.
9. Op het moment dat de hele kleurstoffractie is verzameld, plaats dan de afvalvat weer terug onder de buret. Dek de maatcilinder af met een velkje papier. Noteer het volume van de opgevangen fractie op het Antwoordblad (**Taak 2.3.1**).
10. Als de tweede kleurstofbevattende fractie uit de buret zal beginnen te komen, vervang dan het afvalvat weer door een andere lege maatcilinder.
11. Sluit de buretkraan na het verzamelen van de tweede fractie. Noteer het volume van de opgevangen fractie op het Antwoordblad (**Taak 2.3.3**).
12. Plak de stickers gelabeld met "Isolated colourant" op de beide maatcilinders waarin zich de opgevangen oplossingen bevinden. Zij zullen worden gebruikt bij de beoordeling.

2.3. Colorimetrische analyse

Colorimetrische analyse is een methode om een concentratie van een gekleurde stof te bepalen in een oplossing. Bij dit onderdeel zul je moeten gebruiken je ogen als een analytisch instrument. Dit om de intensiteit te bepalen van de kleur en zo te concluderen tot de hoeveelheden van je eerder gescheiden kleurstoffen. Volg de instructies:

1. Als het volume van de kleurstofbevattende oplossing in de maatcilinder lager is dan 20 mL, voeg dan wat eluens toe tot het totale volume tenminste 20 mL is.
2. Neem twee cilinders – een met de gekleurde oplossing (gelabeld " Isolated colourant ") en een die nog leeg is. Houd ze beiden boven een vel wit papier. Terwijl je verticaal vanaf de bovenkant door de vloeistof kijkt (Fig. 9), voeg je met een pasteurpipet de standaardoplossing van dezelfde kleur druppelsgewijs toe aan de lege maatcilinder tot de intensiteit van de kleur in beide maatcilinders dezelfde is. Noteer het volume V_{\min} van de standaardoplossing in de cilinder op het Antwoordblad (**Taak 2.3.1**).
3. Ga door met het laten toenemen van het volume van de standaardoplossing in de maatcilinder totdat je een duidelijk verschil ziet in kleurintensiteit tussen beide maatcilinders. Noteer het volume V_{\max} van de standaardoplossing in de cilinder op het Antwoordblad (**Taak 2.3.1**).
4. Giet de standaardoplossing in de maatcilinder terug in het oorspronkelijke vat.



5. Het wordt ten eerste aangeraden om deze analyse bij elk "colourant" (kleurstof) tenminste drie keer te herhalen. Als je het moeilijk vindt om de kleurintensiteiten goed waar te nemen, vraag dan teamgenoten om hulp.
6. Herhaal de analyse voor de andere "colourant" (kleurstof) en maak op het antwoordblad de tabel compleet in **Taak 2.3.3**.
7. Bereken de hoeveelheid van elke kleurstof (colourant) in het gegeven mengsel. Maak gebruik van de betrekking $c_1V_1=c_2V_2$, waarin c = concentratie (g/L), V = volume. De kleurstofconcentratie is in beide oplossingen 0,10 g/L.

Noteer je antwoorden op het Antwoordblad in taak 2.3.2. en 2.3.4.



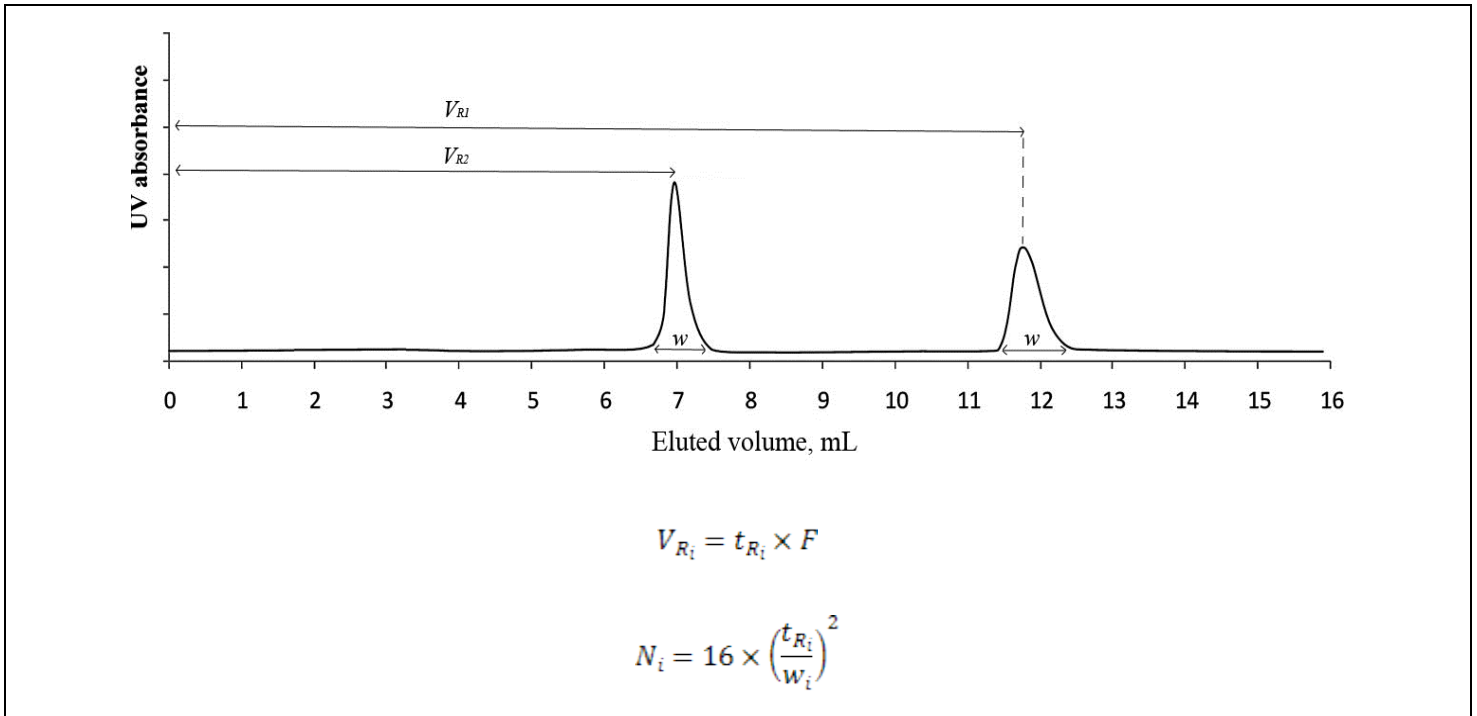
Figuur 9. Kleurvergelijking bij colorimetrische analyse

2.4. Efficiëntie van kolomchromatografie

In de hieronderstaande figuur wordt de chromatografische scheiding van twee kleurstoffen weergegeven. Het volume van de geëluëerde mobiele fase (eluens) is weergegeven op de X-as en op de Y-as staat de detectorsignaal. Het **retentievolumen** V_R is het volume van de mobiele fase die door de kolom gegaan is gerekend vanaf het startpunt tot aan het piekmaximum. De **retentietijd** t_R van een opgeloste stof is de tijd die verstrijkt tussen het startpunt en het piekmaximum van de geëluëerde opgeloste stof. **Theoretische 'plate' N** is de waarde die de efficiëntie van de kolomchromatografie aangeeft. the value which describes the efficiency of column chromatography. **W** is de piekbreedte aan de basis in mL. **F** is de volumetrische snelheid van de mobiele fase en is in dit speciale geval 1 mL/min.



Gebruik de informatie gegeven in Fig. 10 om de N -waarde te berekenen (de efficiëntie van de kolom) voor elke kleurstof. (2 punten)



Figuur 10. Grafiek van de kolomchromatografie

Beantwoord de vraag op het Antwoordblad Taak 2.4.1.

Einde van **Taak 2.**



BELGIUM (Flemish) | Experiment 1 – Amber

Blank paper



Taak 3: Dichtheidsverdeling van amber

De derde taak van het experiment zal u toelaten om de waarde van amber met behulp van dichtheden te bepalen.

Traditioneel waardeerden Fenicische kooplieden stukjes amber op basis van dichtheid. Eerst moet je de dichtheidsverdeling van amber meten. Later zul je de waarde bepalen van "Zonnesteen" als gevolg van zijn dichtheid.

Taak 3.1. Dichtheidsverdeling van amber

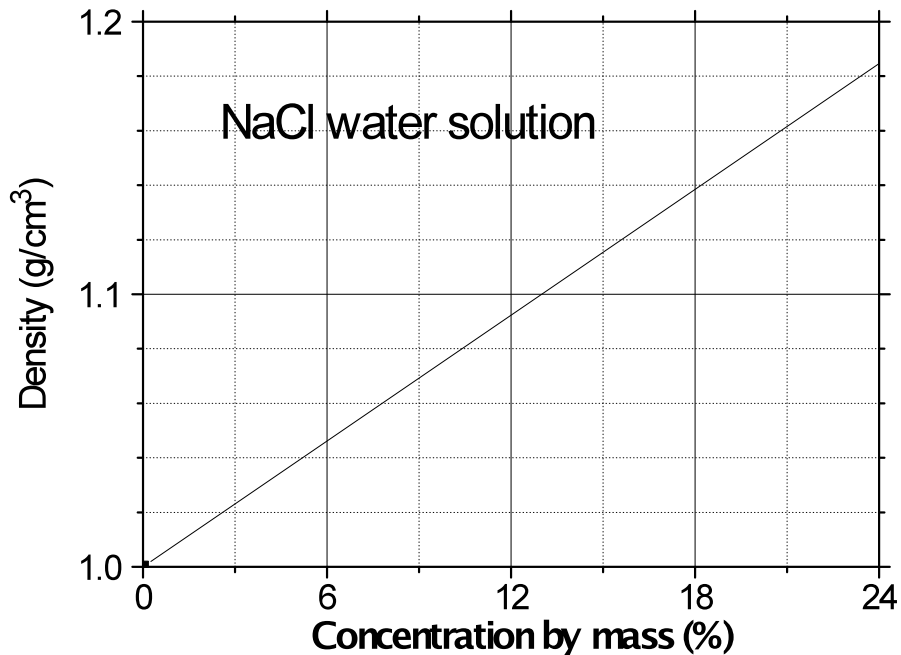
Meet hoe de dichtheden van de amberstukjes verdeeld zijn en teken een staafdiagram om deze verdeling te presenteren.

Uitrusting en materiaal:

- ~200 x kleine stukjes amber (grootte 2-5 mm)
- ~1L x 13% NaCl oplossing
- ~1L x gedestilleerd water
- 1 x 250 mL glasbeker
- 1 x 50 mL maatcilinder
- 1 x 25 mL maatcilinder
- 1 x 10 mL pipet
- 1 x Pipetteerballon (deel met je teamgenoten)
- 1x lepel
- 1 x percolator
- Papieren doekjes

Experiment

Het is bekend dat de dichtheid van NaCl oplossing in water afhangt van de NaCl massa-concentratie c (de massa-concentratie is de verhouding van de massa van NaCl tov de totale massa van de oplossing, uitgedrukt als percentage, %). Deze relatie is weergegeven in Fig. 11



Figuur 11. Dichtheid van NaCl-oplossing in water ten opzichte van de massa-concentratie

Om de verdeling van de dichtheid van de stukjes amber te bepalen, is het nodig om verschillende oplossingen NaCl te bereiden met een gekende dichtheid (tabel 3.1., ρ) en het gedrag van verschillende amberstukjes te analyseren in de NaCl-oplossing volgens de wet van Archimedes.

Deze oplossingen kunnen bereid worden door het mengen van V_1 (ml) en massa-concentratie $c_1 = 13\%$ NaCl oplossing (de dichtheid $\rho_1 = 1.10 \text{ g/cm}^3$, zie Fig. 11) met een hoeveelheid gedestilleerd water V_0 (ml). Aanbevolen waarden voor V_0 zijn aangegeven in de tweede kolom van tabel 3.1. Je kan dan de bijbehorende V_1 berekenen. (zie taak 3.1.1 tot 3.1.11)

Tabel 3.1.

Dichtheid van de oplossing, g/cm^3 (ρ)	Aanbevolen volume gedestilleerd water, mL (V_0)	Volume NaCl 13% oplossing, mL (V_1)	Aantal stukjes amber die van drijven (n)	Percentage van de stukjes amber die boven drijven(%)
1.030	80			
1.035	70			
1.040	60			
1.045	60			



...	
-----	-----	-----	-----	--

Gebruik uw berekeningen om tabel 3.1 in te vullen op het antwoordblad (3.1.7)

De dichtheid van gedestilleerd water is $\rho_0 = 1.00 \frac{\text{g}}{\text{cm}^3}$ en de massa-concentratie is $c_0 = 0$.

Taak 3.1.1. Schrijf een formule voor de totale massa van NaCl m_{NaCl} van de beginoplossing ($c_1 = 13\%$) in termen van V_1 , ρ_1 , en c_1 .

Taak 3.1.2. Schrijf een formule voor de massa van water m_w van dezelfde oplossing in termen van V_1 , ρ_1 , en c_1 .

Taak 3.1.3. Schrijf een formule voor de totale massa m van de gemengde vloeistoffen van V_1 en V_0 in termen van V_0 , V_1 , ρ_0 , en ρ_1 .

Taak 3.1.4. Schrijf een formule van de massa-concentratie c in gemengde oplossing van de vloeistoffen V_1 en V_0 in termen van V_0 , V_1 , ρ_0 , ρ_1 , en c_1 .

Taak 3.1.5. Wat is de relatie van de verhouding V_0/V_1 met c ? Gebruik ρ_0 , ρ_1 , en c_1 .

Taak 3.1.6. Wat is de relatie van de verhouding V_0/V_1 met ρ ? Gebruik in deze laatste uitdrukking de dichtheid ρ_0 , ρ_1 , en ρ . Druk V_1 uit in termen van V_0 , ρ_0 , ρ_1 , en ρ .

Nota: gebruik het feit dat de dichtheid lineair afhangt van de concentratie, zie Fig. 11

Gebruik de uitdrukking van **taak 3.1.6.** om de derde kolom van tabel 3.1 in te vullen op het antwoordblad



Taak 3.1.7. Maak de volgende metingen: maak oplossingen met behulp van de berekende waarden in tabel 3.1. (oplossing met dichtheid ρ kan gemaakt worden door het mengen van V_1 met V_0), breng alle stukjes amber in de oplossing (V_0+V_1) en tel het aantal nieuwe stukjes amber die boven drijven (n). Vul de overige kolommen in tabel 3.1 in. De stukjes die boven drijven haal je er uit en leg je op een papieren doekje. Elke volgende meting moet je doen na het verwijderen van de nieuwe stukjes die boven drijven. Herhaal het experiment totdat je tabel 3.1 volledig ingevuld hebt.

Taak 3.1.8. Teken een staafdiagram $n(\rho)$ in percentage ervan uitgaande dat de eerste staaf overeenkomt met het dichtheids-interval 1.030 g/cm^3 tot 1.035 g/cm^3 , de tweede staaf komt overeen met het dichtheids-interval 1.035 g/cm^3 to 1.040 g/cm^3 en zo verder. De staafhoogte moet gelijk zijn aan het aantal overeenkomstige nieuwe stukjes amber die boven drijven uitgedrukt als een percentage van het totale aantal stukjes amber (de hoogte van de 1^e staaf moet overeenkomen met de waarde van de cel van de laatste kolom van de 2^e rij gemeten waarden van tabel 3.1., de hoogte van de 2^e staaf moet overeenkomen met de cel van de laatste kolom van de 3^e rij gemeten waarden enz ...).

Taak 3.1.9. Bepaal van alle onderzochte stukjes amber het interval waarvan de meeste stukjes amber zijn gaan drijven.

Taak 3.1.10. Stel dat een "Zonnesteen" bijna overeenkomt met een bolvormig lichaam met een diameter gelijk aan 18.50 cm en een gewicht van 3526.32 g. Bereken zijn volume en dichtheid.

Taak 3.1.11. Uitgaande van het experiment, leg dan volgende uit: "Waarom heeft amber, die in de zee gevonden is, meestal een onregelmatige vorm, en dit in vergelijking met andere stenen die er meer afgerond en gepolijst uit zien?"

Schrijf de antwoorden van de taken (3.1.1. – 3.1.11.) op het antwoordblad.

Einde van **Taak 3**



Taak 4: “Zonnesteen” evaluatiecatalogus

Fenicische historische documenten bewijzen dat de evaluatie van amber een zeer precies, nauwkeurig en een belangrijk proces was. Eerst werden massa en dichtheid bepaald met oude weegtechnieken, vervolgens de kleurtoon en kleurintensiteit en tenslotte werd de prijs bepaald door het soort insluitsel.

Uw taak is om de evaluatiecatalogus, op basis van onderstaande informatie, te gebruiken om te bepalen hoeveel zwaarden, speren en pijlen de Litouwse handelaar Gintaras zou hebben ontvangen voor een "Zonnesteen" op de Fenicische markt.

- Het meest gebruikte betaalmiddel waren wapens: zwaarden, speren en pijlen.
- Een zwaard had de waarde van 10 speren of 100 pijlen.
- De beginwaarde werd vastgesteld op basis van de massa, daarna waren andere factoren belangrijk in volgende volgorde: kleurtoon, kleurintensiteit, dichtheid en het insluitsel.
- De beginwaarde werd vermenigvuldigd met een coëfficiënt gebaseerd op de genoemde eigenschappen.
- Rode amber was twee keer zo duur als gele amber (er is een lineaire correlatie, en de coëfficiënt voor zuivere rode amber is 2).
- Tenslotte werd het insluitsel geëvalueerd in termen van zeldzaamheid: hoe zeldzamer het soort insluitsel in het stuk amber, des te waardevoller het was.

Instructie voor het bepalen van de waarde van amber :

Taak 4.1.1. Leid de formule af voor de beginwaarde van amber (in zwaarden).

Taak 4.1.2. Afhankelijk van uw resultaat die je via **taak 2** verkregen hebt, bereken dan de “Zonnesteen” coëfficiënt waarde met betrekking tot de kleurtoon.

Taak 4.1.3. Ervan uitgaande dat het kleurstofmengsel voor kolomchromotografie werd verkregen uit 1 g monster van “Zonnesteen”, bereken dan de coëfficiënt met betrekking tot de kleurintensiteit. U moet uw gegevens gebruiken van **taak 2**.



Taak 4.1.4. Wat is het verliespercentage van “Zonnesteen” op basis van zijn dichtheidsverdeling?

Gebruik de dichtheidswaarde van de “Zonnesteen” van **taak 3.1.10** en vind het overeenkomstig percentage op basis van de dichtheidsverdeling in **tabel 3.1** van **taak 3.1.7** of de grafiek van **taak 3.1.8**. Dit percentage zou de vermindering van de waarde van “Zonnesteen” zijn. (0.25 punten)

Taak 4.1.5 Het bleek dat een “Zonnesteen” een insluitsel bevat, hetzelfde dat je bepaald hebt voor de grootste waarde in **taak 1**. Bereken welke aanvullende waarde (in zwaarden, speren en pijlen) het meest waardevolle insluitsel bijdraagt tot de totale prijs.

Taak 4.1.6. Bereken de hypothetische waarde van “Zonnesteen” op de Fenicische markt (in zwaarden, speren en pijlen).

Einde van **taak 4**.