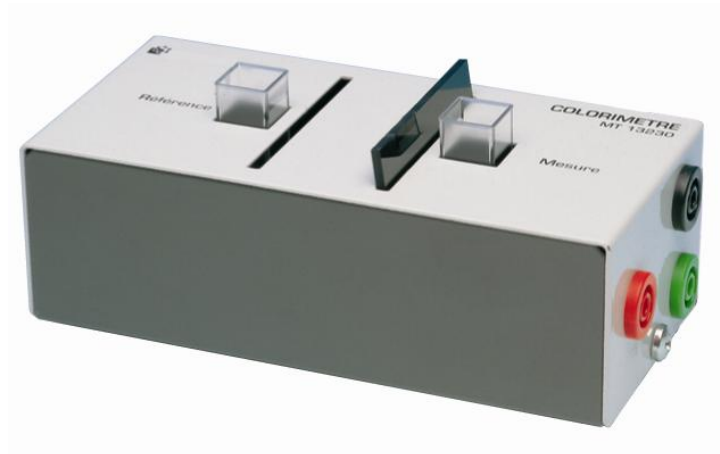


Kolorimeter

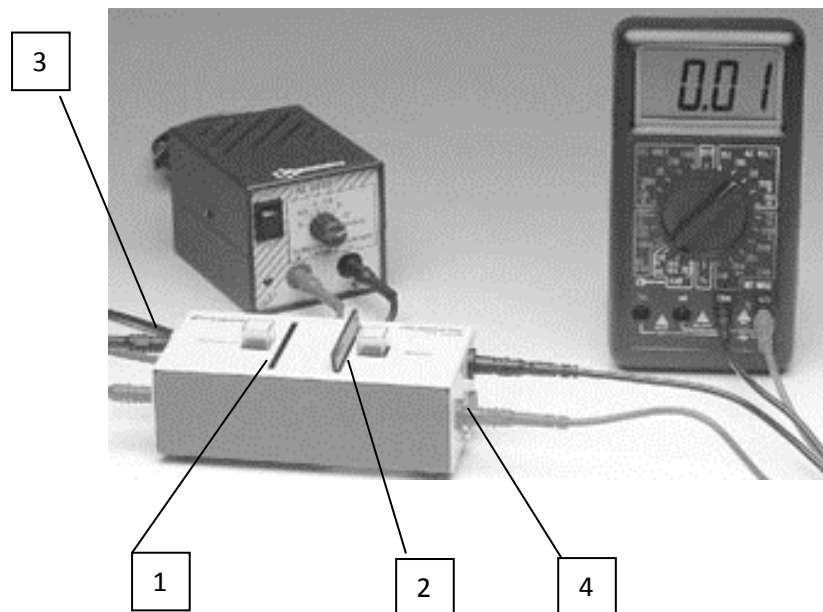


1. Allgemein:

Das Kolorimeter ist mit zwei Küvetten ausgestattet, die sich gegenüberstehen, es wird mit zwei Abdeckungen geliefert, die es erlauben, das Gerät zu "nullen".

2. Technische Daten:

- Stromversorgung: 6 Volt
- Lichtquelle: 6 V; 0,6 A
- Zwei Spalten, um die monochromatischen Filter einzusetzen; dabei ist es möglich in einer Reihe von definierten Wellenlängen zu arbeiten
- Zwei Aussparungen für die Küvetten: eine Küvette die die zu untersuchende Lösung enthält und eine zweite, die die Referenzlösung enthält (destilliertes Wasser). Man muss beachten, dass man von jedem gemessenen Wert den Messwert der Referenzlösung abzieht.
- Zwei Messwertaufnehmer (fotosensorisch) nach Durchgang des Lichtes durch die Filter und die Lösung: der eine für die Testlösung, der andere für die Vergleichs- (Referenz-) Lösung.
- Anschlussbuchsen für Bananenstecker (4 mm Durchmesser) geeignet für den Anschluss der Verbindungskabel mit der Messküvette (schwarz und rot) und mit der Referenzküvette (schwarz und grün).



3. Beschreibung

1. Öffnungen für die gegenüberliegenden Küvetten, die die Testlösung oder die Vergleichslösung enthalten
2. Spalt, um die monochromatischen Filter einzusetzen.
3. Anschlussbuchsen, um die Stromversorgung (6V) anzuschließen.
4. Anschlussbuchsen, für Verbindung Multimeter (Ohm-Meter) mit der Messküvette (schwarz und rot) und mit der Referenzküvette (schwarz und grün).

4. Funktionsweise des Gerätes

Dieses Kolorimeter ist für Unterrichtszwecke vorgesehen und dazu geeignet, die Substanzen zu bestimmen, die die Eigenschaft haben, Lichtstrahlen zu absorbieren und um die fortschreitende Enzymatik zu verfolgen.

Ein Lichtstrahl durchdringt die Küvette mit der Lösung mit veränderlicher Intensität; bestimmte Lichtstrahlen werden dabei durch die Lösung absorbiert.

Das Nachlassen der Lichtintensität am Ausgang des Gefäßes ist proportional zu der Dicke des Gefäßes, zu der Intensität der Lichtquelle und zu der Konzentration der dissoziierten Substanzen.

Der physikalische Messwertaufnehmer wandelt den entstehenden Energiefluss in einen messbaren elektrischen Wert um. Die Spannung U am Anfang der Lichtquelle war bekannt und stabil; es ist so möglich den Widerstand R zu messen (mit dem Ohm-Meter).

Das Kolorimeter CONATEX erlaubt also die Entwicklung der Konzentration einer Substanz bei einer enzymatischen Reaktion zu verfolgen oder einfach um die Konzentration einer gegebenen Lösung dissoziierter Substanzen zu bestimmen.

5. Erforderliches Material

- Kolorimeter (Best-Nr.: 2013230)
- Stromversorgung 6V, ca 1 A
- Ein oder zwei Multimeter: Referenz- und Versuchsbestimmung (z. B. Best-Nr: 1001159)
- 6 Verbindungskabel
- Küvetten (Best-Nr.: 2013233)
- Satz monochromatischer Filter (fakultativ), erlaubt eine Auswahl von verschiedenen Wellenlängen

6. Praktische Arbeiten:

Versuch Nr. 1:

Untersuchung der Zuckerkonzentration in einer Zwiebel:

a) Notwendige Arbeitsmittel:

- Wasserbad
- Zentrifuge
- Mörser mit Pistill
- Waage
- 7 Versuchsröhrchen
- Ein Kristalliergefäß
- Eine Pipette 10 ml
- Ein Becherglas 100 ml
- Ein graduiertes Reagenzglas 10 ml
- Eine Zwiebel
- 35 ml Lösung nach Benedict plus 65 ml Wasser.
- Kupfersulfat $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 17,3 g
- Natriumkarbonat Na_2CO_3 100,0 g
- Natriumcitrat 173,0 g
- Destilliertes Wasser 1000 ml
- Glucose-Lösung je 10 ml: 0,8%; 0,6%; 0,4%; 0,2%
- 2-molare Chlorhydridsäure 5,0 ml
- Bullrichsalz
- Sand

b) Vorgehensweise:

- 1) Gießen Sie 10 ml verdünnter Benedictlösung in 6 Versuchsröhrchen. Fügen Sie 1 ml Wasser in eines dieser Röhrchen und 1ml jeder der 4 Glucoselösungen entsprechend in die 4 anderen; in das sechste Röhrchen wird das wie folgt präparierte Zwiebelextrakt gegeben:
- 2) Zerstampfen Sie eine Zwiebelscheibe (zwischen 1 und 2 Gramm, die genaue Masse muss exakt bekannt sein) in einem Mörser mit etwas Sand. Fügen Sie 5 ml der 2molaren Chlorhydridlösung zu und zerkleinern Sie weiter gründlich. Gießen Sie anschließend möglichst viel der Flüssigkeit in eine Zentrifuge. Zentrifugieren und sammeln Sie die auf der Flüssigkeit schwimmende Masse, lassen Sie diese Masse 2

- Minuten lang kochen, um den Zucker in Glucose umzuwandeln. Lassen Sie die Flüssigkeit erkalten und gießen Sie sie mit 10 ml Wasser in ein Reagenzglas. Füllen Sie diese Flüssigkeit in eine Kristallierschale und fügen Sie ein wenig Bullrichsalz hinzu bis zum Verschwinden der Gärung.
Fügen Sie 1 ml dieser Lösung mit 10 ml Benedict-Lösung neutralisiert in das sechste Versuchsröhrchen.
- 3) Nachdem Sie die 6 Versuchsröhrchen geschüttelt haben, erhitzen Sie diese für einige Minuten im Wasserbad auf höchster Temperatur. Lassen Sie sie wieder erkalten. Gießen Sie die 5 Röhrchen, die einen Niederschlag enthalten, in die Zentrifugenröhrchen und zentrifugieren Sie sie.
Das Ablesen am Kolorimeter kann von dem Moment an beginnen, wenn die Flüssigkeit keine Eigenrotation mehr beim Beobachten der Röhrchen am Spalt hat.
- 4) Einschalten des Kolorimeters wie oben erwähnt in Abschnitt 6. Füllen Sie Schritt für Schritt einige Milliliter jedes Röhrchens in die parallelstehende Messküvette und verwenden Sie dabei Röhrchen 1, gefüllt mit der verdünnten Benedict-Lösung als Vergleichslösung ohne Zucker.
Messen Sie den Widerstand in Ohm (mit dem Universalmessgerät) für jede der Eich-Glucoselösungen.
Zeichnen Sie die Widerstandskurve in Abhängigkeit der Glucosekonzentration!
Vorsicht: Achtung beim Einsetzen der Küvetten: in dem Maße wie das Lichtbündel auf die Oberfläche trifft, wird die Messung beeinflusst!
- 5) Messen Sie den Widerstand der Zwiebelextrakt-Lösung und durch Reduzierung der Glucosekonzentration unter Beachtung der Eichkurve. Da Sie die genaue Masse der Zwiebelscheibe zu Anfang noch wissen, können Sie den Anteil an Glucose in der Zwiebel bestimmen.
Bemerkung: Die gemessenen Widerstände verringern sich mit den wachsenden Konzentrationen der Glucose. In der Tat, das Experiment wurde in Gegenwart eines gesättigten Mediums gemacht, die Messungen wurden mit dem in der Lösung verbleibendem Reagenz nach der Zentrifugierung gemacht, d.h. es fand noch keine Reaktion mit der Glucose statt; es kann also gefolgert werden, dass die Intensität der Verfärbung des Reagenz (oder des gemessenen Widerstands R) umgekehrt proportional zur Glucose-Konzentration ist

Versuch Nr. 2:**Kinetische Enzymatik der Verdauung von Stärke durch Speichel-Amylase:****Notwendige Lösungen:**

- Stärkelösung: 3 ml
- Iodiertes Wasser 1 Tropfen
- Speichel 0,5 ml
- Destilliertes Wasser

Diese Mengenangaben sind nur ungefähre Anhaltswerte; sie können verändert werden, wenn sich die Reaktion nicht zufrieden stellend einstellt.

Vorgehensweise:

Achtung: Achten Sie darauf, wie Sie die Küvetten einsetzen, der Auftrittswinkel des Lichtbündels auf die Küvetten beeinflusst die Messung!

- Gießen Sie in eine Küvette 3 ml Stärkelösung, ein Tropfen jodiertes Wasser und 0,5 ml dest. Wasser: Diese Küvette wird zur Vergleichsmessung dienen; d.h. man erhält den Messwert mit allen Reagenzien außer dem Speichel, der als Katalysator fungiert.
- Setzen Sie diese Küvette an den davor vorgesehen Platz auf das Kolorimeter und messen Sie mit Hilfe des Universalmeßgeräts wie unter Kapitel 6 angezeigt.
- Gießen Sie in die Messküvette 3 ml Stärkelösung, 1 Tropfen jodiertes Wasser und stellen Sie sie in die Aussparung des Kolorimeters (oder an die Stelle der Eichküvette, wenn Sie das Experiment nur mit einem Multimeter machen.)
- Fügen Sie unter Zuhilfenahme einer Pipette 0,5 ml Speichel zu, schütteln Sie es mit Hilfe eines Rührstäbchens und beginnen Sie die Messungen:
Lesen Sie ca. alle 15 Sekunden den Widerstand ab und zeichnen Sie anschließend die Kurve der kinetischen Enzymatik: Widerstand (Ohm) als Funktion der Zeit $f(t)$; die Kurve wird eine klassische Gestalt haben.

Bemerkungen:

- Arbeiten Sie nur mit absolut sauberen Küvetten.
- Fügen Sie den Speichel erst ganz zum Schluss zu, wenn die Küvette schon in das Kolorimeter eingesetzt ist.
- Lesen Sie die erste Messung sofort ab, da die "Verdauung" sehr schnell einsetzt
- Machen Sie eine Messung mit dem Universalmeßgerät bevor Sie den Speichel zufügen (Nullpunktbestimmung).