



## **Zbirka laboratorijskih vaj namenjenih spremljanju kalitve semen, ki se uporabljajo v prehrani kot kalčki – metabolizem in prehranska vrednost kalčkov**

*Avtor: Jana Ambrožič-Dolinšek, Terezija Ciringar*

Institucija: Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko

### **Strategija (metoda):** LABORATORIJSKO – EKSPERIMENTALNA

Naj vključuje: razvoj metod v katerih učenci aktivno konstruirajo lastno znanje, praktično delo, proučevalno (Inquiry) in problemsko zasnovane naloge.

### **Starostna skupina, razred (vrsta srednje šole):**

7 do 9 r. OŠ; 1 do 2r. GIMNAZIJA; ŽIVILSKA ŠOLA

Kompetence, ki se razvijajo:

a) Generične kompetence, ki naj bi jih še posebej razvijali so:

1. zbiranje informacij;
2. analiza in organiziranje informacij;
3. interpretacija;
4. sinteza zaključkov;
5. učenje in reševanje problemov;
6. prenos teorije v prakso;
7. uporaba matematičnih idej in tehnik;
8. prilagajanje novim situacijam;
9. skrb za kakovost;
10. samostojno in timsko delo;
11. organiziranje in načrtovanje dela;
12. verbalna in pisna komunikacija;
13. medsebojna interakcija;
14. varnost.

So predmetno neodvisne. Razvijamo jih pri vseh predmetih in predmetnih področjih.

b) predmetno-specifične kompetence - opredeljene v dokumentih projekta:

V kolikor izhajamo iz predpostavke, da so kompetence kompleks sestavljen iz **znanj, spretnosti in stališč**, potem s poukom biologije (in iz nje izpeljanih sorodnih disciplin) razvijamo predvsem kompetence, ki se vsebinsko nanašajo na obravnavo živih bitij kot kompleksov, znotraj katerih poteka proces sestavljen iz številnih, med seboj povezanih procesov - **življenje**. V organizmu se dogajajo simultano fizikalni, kemijski in življenjski procesi, v človeku in med ljudmi (morda v manjši meri še med katerimi drugimi organizmi) pa še psiho-socialni odnosi, kar določa človeka kot družbeno bitje. To daje biologiji specifično mesto med drugimi naravoslovnimi disciplinami.



Povezave s kemijo in fiziko so močne. Kompetenc na področju biologije na nivoju poznavanja in razumevanja življenjskih procesov ter na molekularnem nivoju ni mogoče razvijati brez poznavanja fizikalnih in kemijskih procesov, je pa to mogoče na nivoju pojavov, organizmov in ekosistemov, kjer biologija ponuja osnovo razumevanje dogajanj v okolju in družbi.

### **Umestitev v učni načrt/Nova vsebina:**

#### UN Naravoslovje 6. In 7. R:

- doseči razumevanje pojmov, dejstev in zakonitosti s področja nežive in žive narave in pestrosti življenja;
- razvijati sposobnosti za preučevanje procesov in pojavov;
- doseči, da z lastnim iskanjem in preučevanjem udeleženci pridejo do določenih spoznanj in si oblikujejo pozitiven odnos do narave;
- spodbujati razumevanje o soodvisnosti znanja s področja naravoslovnih predmetov;
- razvijati sposobnosti za opazovanje ter spretnosti za učinkovito in varno raziskovanje;
- razvijati sposobnosti za posploševanje in uporabo pridobljenih spoznanj;
- spodbujati spoznanja, da je človek odvisen od narave in njen sestavni del;
- razvijati spoštovanje do vseh oblik življenja ter razumevanje o medsebojni povezanosti žive in nežive narave;
- spoznavati fizikalne zakonitosti in na podlagi teh razvijati razumevanje pojavov v naravi;
- razvijati sposobnosti opisovanja kemijske spremembe z besednimi opisi;
- postopno spoznavati fizikalne in kemijske lastnosti izbranih snovi;
- spoznavati naravne vire snovi in njihovo uporabo;
- razvijati sposobnosti za varno delo v šolskem laboratoriju in s snovmi v vsakdanji rabi;
- spodbujati kritično presojanje o škodljivosti in negativnem vplivu pretiranih človeških posegov v naravno okolje;
- povezovati poprejšnje znanje in izkušnje udeležencev z novim znanjem.

#### UN Biologija 8. In 9. R

- razviti sposobnosti za preučevanje življenjskih procesov in pojavov;
- doseči, da z lastnim iskanjem in preučevanjem pridobijo nekatera spoznanja in si oblikujejo odgovoren odnos do življenja;
- spodbuditi razumevanje o soodvisnosti znanja iz biologije z drugim naravoslovnim, družboslovnim in tehničnim znanjem;
- razviti sposobnosti za zaznavanje in razumevanje ekoloških problemov;
- razviti sposobnosti za opazovanje ter spretnosti za učinkovito in varno raziskovanje;
- razviti sposobnosti za posploševanje in uporabo pridobljenih spoznanj ter lastnih izkušenj;



- razviti odgovoren odnos do narave in okolja ter spodbuditi zavzetost za njegovo aktivno varovanje;
- zbuditi spoznanje, da je človek odvisen od narave in je njen sestavni del;
- okrepiti in spodbuditi spoštovanje do vseh oblik življenja ter razviti razumevanje in zavedanje o medsebojni povezanosti žive in nežive narave;
- doseči spoznanje, da je mnogo poklicev, v katerih ljudje uporabljajo znanje, spoznanja, spretnosti ipd., ki jih dobijo pri pouku biologije;
- da poiščejo, kje v svojem življenju in poklicu uporabljajo znanje biologije.

#### UN Biologija gimnazija:

#### ***Raziskovanje in poskusi***

#### ***Zgradba in delovanje rastlin***

#### ***Pridobivanje energije, izmenjava in transport snovi***

17 razumejo, da se ogljikovi hidrati, ki nastanejo med fotosintezo, porabijo za pridobivanje energije za poganjanje življenjskih procesov (celično dihanje) in za izgradnjo lastnih organskih snovi ter da se del snovi, ki so nastale med fotosintezo, začasno uskladišči (založne snovi).

#### ***Razmnoževanje, rast in razvoj***

23 spoznajo, da so pri rastlinah glavna območja celičnih delitev v vršičkih poganjka in korenine, in to povežejo z načinom rasti rastlin (rastline neprestano spreminjajo obliko svojega telesa; kloni rastlin imajo različno telesno podobo).

27 razumejo pomen razširjanja semen za preživetje vrste in povežejo načine razširjanja semen z značilnostmi semen oz. plodov.

#### ***Upravljanje delovanja organizma in odzivi na spremembe v okolju.***

30 spoznajo, da se zaradi pritrjenosti rastline spremembam v okolju ne morejo umakniti, zato se odzivajo s spremembami delovanja na celični ravni (npr. izražanje genov) in s hormonsko regulacijo.

31 na osnovi primerov razumejo, kako rastline preživijo neugodne življenjske razmere (npr. odmetavanje listov, kopičenje založnih snovi v založnih organih, enoletnice).

32 na osnovi primerov spoznajo načine odziva rastlin na spremembe abiotičnih in biotičnih dejavnikov (npr. svetloba, patogeni).

34 poznajo neposreden in posreden pomen rastlin za človeka.

#### **Način evalvacije:**

1. Na evalvacijskem listu označite katere generične kompetence so učenci ali dijaki z navedeno dejavnostjo razvijali?
2. Kako bi bilo mogoče dejavnost izboljšali, dopolnili ali popravili?
3. Kako bi bilo mogoče principe, na katerih je zasnovano laboratorijsko eksperimentalna vajo (dejavnost) prenesti v druge učne situacije?



Tabela 1: Evalvacijski list

|    | Generične kompetence                 | Vodilna | Pomembna | Vključena | Obrobna | Ni vključena |
|----|--------------------------------------|---------|----------|-----------|---------|--------------|
| 1  | zbiranje informacij;                 |         |          |           |         |              |
| 2  | analiza in organiziranje informacij; |         |          |           |         |              |
| 3  | interpretacija                       |         |          |           |         |              |
| 4  | sinteza zaključkov                   |         |          |           |         |              |
| 5  | učenje in reševanje problemov;       |         |          |           |         |              |
| 6  | prenos teorije v prakso;             |         |          |           |         |              |
| 7  | uporaba matematičnih idej in tehnik; |         |          |           |         |              |
| 8  | prilagajanje novim situacijam;       |         |          |           |         |              |
| 9  | skrb za kakovost;                    |         |          |           |         |              |
| 10 | samostojno in timsko delo            |         |          |           |         |              |
| 11 | organiziranje in načrtovanje dela;   |         |          |           |         |              |
| 12 | verbalna in pisna komunikacija;      |         |          |           |         |              |
| 13 | medsebojna interakcija               |         |          |           |         |              |
| 14 | varnost                              |         |          |           |         |              |

## TEORETIČNI DEL:

**Uživanje kalčkov je danes zelo popularno. Kalčki so zdrava hrana predvsem v času, ko manjka sezonske zelenjave.** Vzgoja kalčkov je enostavna in zanje ne potrebujemo posebne opreme, tehnologija pridelovanja pa je dobro poznana. Najpogostejše jih vzgajamo iz semena lucerne, pšenice, ječmena, prosa, vrtna kreše, kapusnic, sončnic, čebule in še bi jih lahko našteali. Prav zato, ker je uporaba kalčkov v zadnjem času tako zelo razširjena, smo sklepali, da bi jih lahko uporabili, kot zelo priročen rastlinski material za laboratorijsko delo na eni strani z računalniško podprtim laboratorijem, na drugi s klasično metodo laboratorijskega dela. Primernost kalčkov utemeljujemo z: enostavnostjo postopkov povezanih s kalitvijo, lahko dostopnostjo semen, ceno potrošnega materiala, varnostjo in odsotnosti etičnih pomislekov, dodelane tehnologije kalitve, z njimi lahko izvajamo vaje neodvisno od letnega časa, hitrosti kalitve, možnosti primerjave med semeni različnih vrst; možnostjo spremljave tako rastlinskega metabolizma in prehranske vrednosti.



Računalniško podprt laboratorij je kombinacija aktivnega laboratorijskega dela z laboratorijskim materialom in ob pomoči informacijsko komunikacijske tehnologije (Špernjak, 2010). Računalniško podprte vaje so eden, najbolj priljubljen načinov laboratorijskega dela (Šorgo in Špernjakova, 2009). Poleg priljubljenosti dela z računalnikom ima tako laboratorijsko delo nekaj prednosti pred klasičnim laboratorijskim: možnost samodejnega hkratnega izvajanja meritev z večjim številom merilnikov (npr. spremljamo lahko porabo, sproščanje  $O_2$  in  $CO_2$  pri dihanju kalčkov), spremljanje zelo hitrih in zelo počasnih sprememb. Pri klasični izvedbi bi moral nekdo rezultate beležiti ročno, kar pomeni, da bi moral biti pri eksperimentu ves čas prisoten. (Puhek, 2009).

Prvi cilj gradiva je, pripraviti in nadgraditi nabor vaj s katerimi lahko učenci, dijaki in študentje analizirajo metabolizem kalitve in nadaljnji razvoj semen v kalčke, rast in razvoj kalečih semen, prehrambno vrednost kalčkov in vpliv različnih zunanjih dejavnikov na kalitev semen, dihanje, vsebnost vitaminov. Drugi cilj pa je, nadgradnja obstoječih vaj, tako, da bi jih računalniško podprli. Vaje zajete v tem gradivu so primerne tudi za raziskovanje drugega rastlinskega materiala, nekatere tudi za živalski material, kar zaradi možnega transfera viša njihovo pedagoško vrednost.

Pri načrtovanju gradiva za eksperimentalno delo smo težili k čim večjemu podajanju kvantitativnih rezultatov. Vsebina vaj oz. navodil za delo vsebuje naslednje sestavne elemente za načrtovanje, in izvedbo:

- NASLOV EKSPERIMENTA (iz katerega je mogoče razbrati tematsko področje laboratorijskega dela),
- CILJI,
- HIPOTEZE,
- POTREBŠČINE,
- POTEK DELA (podano v opisni obliki in obliki diagrama),
- REZULTATI IZVEDENIH EKSPERIMENTOV (skozi načrtovanje vaj smo težili k podajanju kvantitativnih rezultatov oz. podatkov, v manjši meri so predstavljeni kot kvalitativni; rezultati so navedeni pri vseh vajah, razen v sklopu preverjanja prisotnosti proteinov v kalčkih, kjer smo navedli samo recept za preverjanje omenjenega pojma),
- VREDNOTENJE (ANALIZA IN DISKUSIJA),

»ŽELIŠ VEDETI VEČ«? Vaje smo zasnovali problemsko, zato so teoretske osnove ena izmed zadnjih elementov, kjer preverjamo poznavanje razumevanje dejstev, pojmov in relacij, ki jih učenci pri posamezni vaji osvojijo.

Eksperimenti oz. vaje so zasnovane po naslednjih kriterijih:

- so varni tako za dijake kot učence z ekološkega vidika, kjer so zahtevan posebni varnostni ukrepi, je to v navodilih posebej poudarjeno (varnostne oznake),
- cena potrošnega materiala majhna, lahka dostopnost semen,



- čas izvedbe v šolski uri; nekaj jih je časovno daljših (analiza vitamina c, proteini, amilazna aktivnost), zato primernih za izvenšolske aktivnosti kot so biološki, kemijski krožek, naravoslovne dejavnosti in raziskovalne naloge,
- v čim večji meri kvantitativni, kjer to bodisi zaradi prezahtevnih relacijskih pojmov ali vsebinske zahtevnosti ne gre, se poslužujemo kvalitativne tehnike.

## PRIPOROČILA UČITELJU EVALVATORJU:

### DEJAVNOSTI :

- Motivacija preko sproščenega pogovora, opazovanja različnih didaktičnih gradiv slik posnetkov, izvedba preliminarnega motivacijskega eksperimenta in napoved naloge za doseg učnega cilja.
- Naloga –načrt za doseg učnega cilja, obsega izbor potrebnega opazovanega objekta-rastline, izbor potrebnega materiala in skrbno načrtovanje dokaznega eksperimenta
- Načrtujejo način spremljanja in beleženja podatkov ter njihove obdelave (tehtanje rastlinskega materiala, beleženje časa. beleženje opaženih sprememb barvila).
- Poročanje - postopno prehajajo od vodene oblike k samostojnemu beleženju in poročanju, opažanju in rezultatov in preverjanju hipotez; spodbujamo jih k rabi IKT kjer učenci lahko spoznajo njeno smiselno namembnost pri konkretnem primeru

### DIDAKTIČNA PRIPOROČILA:

- Za uvodno motivacijo si naj učenci s pomočjo razgovora, reševanja učnega lista s pomočjo različnih virov v okviru vsebin in ciljev učnega procesa utrjujejo in poglobljajo ustrezna teoretična in praktična znanja , ki naj bo vodena do te mere, da si bodo postavili jasen cilj za doseg novega spoznanja. Morda že za motivacijo naredite kakšen praktični preizkus za potrditev že usvojenega znanja, kar lahko pripomore k samozavestnejšemu pristopu, za doseg zastavljenega cilja.
- Predlagam, da za zastavljeni cilj naredite nabor potrebnega materiale, to je opazovanega objekta – rastline ( uporabite kalčke; z učenci opazovali njihov **razvoj rastlin od kalitve naprej**, to je na primer fižol, kreša , koruza ) in potrebnega pribora (čaše ali epruvete najlonska mrežica , lahko nogavica v katero ujamete kaljene rastline nad barvilom, ki ga porabite za testiranje, predlagam ekstrakt rdečega zelja, ki ga lahko učenci pripravijo sami ali iz šolskega laboratorija vzamete bromtimolmodro, apnico...).
- Predlagamo tudi, da učencem predstavite Vernier-jeve vmesnike in predstavite katere meritve omogočajo. Učence spodbudite k



razmišljanju, kako bi s tema instrumentoma lahko izmerili dihanje rastlin.

- Učenci naj samostojno načrtujejo eksperiment; seveda najprej idejno in nato tudi praktično.
- Posebno pozornost velja nameniti sestavi naloge oziroma učnega lista za preverjanje predznanja in pridobljenega znanja preko praktičnega eksperimentalnega dela, ki ima v tem predmetnem, področju pomembno in nenadomestljivo mesto. Pri tem naj bo glavno vodilo učni načrt posameznega predmeta z minimalnimi in temeljnimi standardi znanj. Te naloge oziroma učni listi za preverjanje znanja so pomoč, kot poglobljena in kvalitetna povratna informacija o različnih vidikih učenčevega znanja. Učencu pa omogočajo »avtorefleksijo, samopreverjanje in avtokorekcijo« (Rutar Ilc, 2003)

Kaj dosežemo z vključevanjem zgoraj omenjenih kompetenc?

Definicija kompetence je zmožnost učinkovitega uporabljanja znanja v različnih situacijah in je sinteza, preplet znanj, sposobnosti, spretnosti in ima tudi svojo čustveno – motivacijsko komponento. Z upoštevanjem čim več kompetenc dosežemo čim večjo aktivnost učencev, ki iščejo probleme in rešujejo eksperimente, in pri tem uporabljajo vse možne naravoslovne postopke. Če učitelj poskuša vključiti v pouk čim več generičnih kompetenc, bo pravzaprav naredil pouk izkustven - dosegel bo, da ne bo poučevanja ampak samo še učenje ( da se bodo učenci pravzaprav sami učili). Če pogledata kompetence vidita da gre za neka pravila oziroma obveznosti, ki vodijo k takemu modernemu konstruktivističnemu pouku (izkustvenemu) ki vključuje načrtovanja, eksperimentiranja iskanja virov informacij, računanje, vrednotenje.....

Zato predlagamo, da aktivnosti potekajo v več fazah (kar lahko učitelj poljubno spreminja):

Nekaj iztočnic za vodenje razprave in izvedbo ure s kompetenčnim pristopom:

### Faza 1:

Učitelji ugotavljajo koliko učenci že vedo o kaljenju semen in o tem, kaj se dogaja v njih; morda s testi znanja s vprašanji odprtega in zaprtega tipa in tako dobijo vpogled v poznavanje delovanja kalčkov.

V tej fazi se predstavijo teoretske osnove - Vernierjevi vmesniki in meritve, ki jih omogočajo. Morda predstavite katero od vaj, predstavljeno v naših gradivih. V tej fazi naj se izbere en problem ali vprašanje povezano z dihanjem. Ta problem bodo dijaki reševali v uri ki sledi .

Prilagam idejni osnutek za trditve. Učitelj lahko pomaga pri iskanju problema za eksperiment.

|                                    |  |
|------------------------------------|--|
| Zakaj je potrebno da bi to vedeli? |  |
|------------------------------------|--|



|  |  |
|--|--|
| Kaj vem o temi?                                  |  |
| Kaj bi rad izvedel o izbrani temi?               |  |
| Kaj se mi je zdelo zanimivo?                     |  |
| Pozitivne strani                                 |  |
| Negativne strani                                 |  |
| Uporabnost                                       |  |
| Varnost - tveganje                               |  |
| Sprejemljivost                                   |  |
| Porajanje novih vprašanj                         |  |
| Predvidevanje kakšni bodo rezultati.             |  |
| Kaj mi je všeč?                                  |  |
| Česa ne maram ali mi ni všeč?                    |  |
| Ali se vam zdi da je na vaše mnenje kdo vplival? |  |
| Kaj sem se naučil?                               |  |

1. Učenci vsak zase, v dvojicah ali v skupinah poskušajo najti neko temo ali znanstven problem, ki bi ga želeli raziskati in ga predstavi drugim.
2. Sledi soočenje izbira reševanja enega problema. Učitelj skupaj z učenci izbere tisto temo, problem, pojav, ki bi ga raziskali. Tema naj bo čim bolj življenjska in čim bližje življenjskim situacijam, ki so jim izpostavljeni. Dijake torej povabimo da najdejo takšen problem, ki bo sprožal nova vprašanja! Pri tem lahko probleme razdelijo na več manjših in zanje poiščejo rešitve. Predstavijo svoje izkušnje, stališča, jih izmenjajo in se soočijo med sabo. Izmenjajo stališča in izboljšajo svoje znanje.
3. Dijaki se naučijo poslušati drug drugega in spoštovati ter upoštevati mnenja in nasvete drugih.
4. Srednješolci na podlagi svojih poizvedovanje oblikujejo svoja vprašanja. Vsak naj pripravi vsaj dva vprašanja za diskusijo.

## Faza 2:

Izvedba eksperimenta pri čemer je potrebno vključiti generične kompetence. Nekaj iztočnic za diskusijo rezultatov s kompetenčnim pristopom:

1. Zakaj se je nekaj zgodilo na določen način in ne drugače.
2. Zakaj se je nekaj zgodilo na določen način in ne drugače.
3. Naredijo načrt s katerim bodo poskušali najti odgovor na to vprašanje.
4. Predstavijo svoje izkušnje, stališča, jih izmenjajo in se soočijo med sabo.
5. Izmenjajo stališča in izboljšajo svoje znanje.
6. Dijaki se naučijo poslušati drug drugega in spoštovati ter upoštevati mnenja in nasvete drugih.
7. Oblikujejo majhne skupine, zberejo podatke, jih uredijo, o njih razpravljajo, ugotovijo kaj so odkrili in o vsem poročajo drug drugemu.
8. Na podlagi svojih zamisli in izkušenj poskušajo odgovoriti na ta vprašanja – vse skrbno dokumentirajo.
9. Cel proces dokumentirajo na papirju in ga zaključijo s poročilom.
10. Ves proces se nato ovrednoti.





## **VAJE :**

1. vaja: Kvalitativni test reduktivnih sladkorjev v kalčkih lucerne
2. vaja: Kvantitativni test reduktivnih sladkorjev v kalčkih lucerne
3. vaja: Amilazna aktivnost kalčkov
4. vaja: Kvantitativni test vitamina C kalčkom lucerne
5. vaja: Določanje koncentracije proteinov v kalčkih po Lawry-evi metodi



## 1. vaja: Kvalitativni test redukativnih sladkorjev v kalčkih lucerne

### CILJI

Dokazati prisotnost redukativnih sladkorjev v ekstraktu kalčkov lucerne (*Medicago sativa*) starih 2, 3 in 4 dni.

Oceniti kvalitativni test redukativnih sladkorjev v kalčkih lucerne (*Medicago sativa*).

### HIPOTEZA


Vsebnost redukativnih sladkorjev v kalčkih narašča s časom.

### POTREBŠČINE

- kalčki lucerne (*Medicago sativa*) stari 2, 3 in 4 dni, voda, terilnica s pestilom, filtrirni papir, lijak, manjša čaša, višja epruveta, gorilnik, oprijemalka,
- KEMIČALIJE: Fehlingov reagent I. ( $3,5\text{g Cu SO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O} + 100\text{ ml}$  destilirane  $\text{H}_2\text{O}$ ) in Fehlingov reagent II. ( $18\text{g C}_4\text{H}_4\text{O}_6\text{NaK} + 6\text{g NaOH} + 100\text{ml}$  destilirane  $\text{H}_2\text{O}$ )

### POTEK DELA

Kalčke strij v terilnici. Dodaj nekaj ml vode in ekstrakt prefiltriraj.

Fehlingov test: V epruveto nalij približno 4 ml ekstrakta (2 prsta) in dodaj najprej 1ml Fehlingovega reagenta I.  (1/2 prsta) nato pa enako količino Fehlingovega reagenta II. ter segrevaj nad plamenom do nastanka oborine.

### VARNO DELO

Pri delu moramo biti posebej pozorni, saj imamo opravka s kemikalijami (glej varnostne oznake). Pri segrevanju vzorca bodite posebej pozorni, da je epruveta obrnjena v stran od oči vas in vaših kolegov.

### REZULTATI IZVEDENEGA EKSPERIMENTA

Pri vaji ste uporabili kalčke lucerne (*Medicago sativa*) stare 2, 3 in 4 dni. Po opravljenem kvalitativnem testu za redukativne sladkorje ste dobili naslednje rezultate (sliki 1, 2):



Slika 1: Kalčki Lucerne 2, 3 in 4 dni od leve proti desni (Šimek, 2010).



Slika 2: Rezultat kvalitativnega testa za reduktivne sladkorje.

## VREDNOTENJE

1. Na podlagi izvedenega eksperimentalnega dela razloži kateri dan je bila največja aktivnost proizvodnje reduktivnih sladkorjev v kalčkih?
2. Ali čas kalitve vpliva na količino reduktivnih sladkorjev?
3. Kateri dejavniki meniš, da vplivajo na količino proizvedenih reduktivnih sladkorjev? Načrtuj eksperiment

## ŽELIŠ VEDETI VEČ?

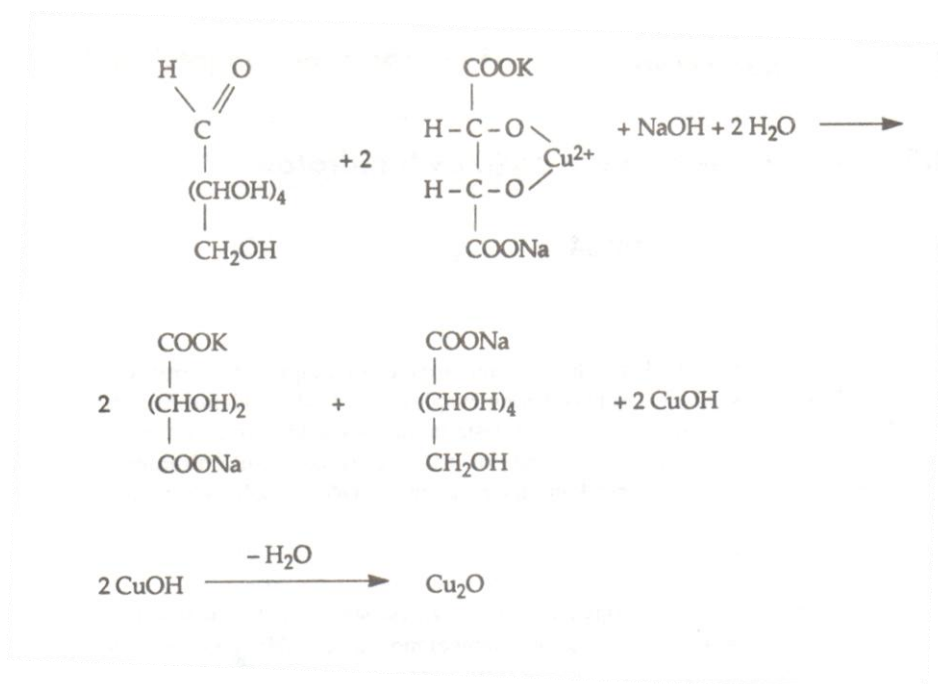
Reduktivni sladkorji so aldoze in ketoze s prosto reaktivno -OH skupino, ki ni blokirana z glikozidno vezjo. Reduktivni sladkorji so vsi monosaharidi kot sta glukoza in fruktoza in nekateri disaharidi, kot so na primer maltoza, laktoza in celobioza. Saharoza ni reduktivni sladkor (Ambrožič- Dolinšek, 2001).

Poznamo naslednje reakcije sladkorjev:

- FEHLINGOVA REAKCIJA,
- BENEDICTOVA REAKCIJA,
- NYLANDERJEVA REAKCIJA,
- TOLLENSOVA REAKCIJA,
- BARFOEDOVA REAKCIJA.

## FEHLINGOVA REAKCIJA

V alkalnem mediju sladkor- reducent reducira  $\text{Cu}^{2+}$  ione, ki so kompleksno vezani na tartratni ion, do rdeče – rjavega obarvanega bakrovega (I) oksida  $\text{Cu}^+$ .



Slika 3: Princip Fehlingove reakcije (Požek-Novak,

1990)

Fehlingova reakcija ni specifična reakcija na sladkorje. Po drugi strani pa je potrebno poudariti, da boljše in natančnejše metode za kvantitativno določanje sladkorjev reducentov temeljijo prav na uporabi Cu(II) spojin. Nevarnost, da se bodo poleg sladkorja oksidirali tudi drugi reducenti, je pri uporabi Cu(II) spojin manjša.






## 2. vaja: Kvantitativni test reduktivnih sladkorjev v kalčkih lucerne

### CILJ

Priprava umeritvene krivulje

- Dokaz prisotnosti reduktivnih sladkorjev v ekstraktu kalčkov lucerne (*Medicago sativa*)

### PRIBOR IN KEMIKA LIJE

- Natrij- kalijev tartrat (raztopi 30g v 50ml vode), 
- Natrijev hidroksid (2 mol/l), 
- 3,5-dinitrosalicilna kislina  (suspendiraj 1g v 20 ml natrijevega hidroksida),
- Dinitrosalicilni reagent (pripravi svežega z združitvijo raztopin 1 in 2 ter dopolni do 100ml),
- Sladkorni standardi (glukoza, fruktoza, saharoza),
- Kalčki lucerne (*Medicago sativa*),
- Tehnica,
- Vrela vodna kopel in spektrofotometer Spectrovis,
- Epruvete, 100 ml merilne bučke, steklen palčke
- Čaše.

### POTEK DELA

Priprava reagenta

1. Zatehtaj 30 g natrij-kalijevega tartrata, in ga raztopi v 50 ml destilirane vode.
2. Pripravi 2mol/L NaOH. 1g 3,5- dinitrosalicilne kisline suspendiraj v 20ml, 2mol/ NaOH.
3. Dinitrosalicilni reagent pripravi svežega z združitvijo raztopin 1 in 2 ter dopolni do 100ml. Raztopino med stalnim intenzivnim mešanjem segrevaj.

### Priprava standardnih raztopin glukoze

Zatehtaj 1.5g glukoze, jo kvantitativno prenesi v 100 ml merilno bučko, dopolnii do 100 ml in dobro premešaj. Pripravi 5 merilnih bučk z volumnom 100 ml in jih označi. V bučke odpipetiraj 2, 3, 6, 8 in 10 ml (v vsako bučko enako količino) standardne raztopine glukoze. Z destilirano vodo dopolni do 100 ml in dobro pretresi. Dobili smo raztopine sladkorja z masnimi koncentracijami 0,3 mg/mL, 0,45 mg/mL, 0,9 mg/mL, 1,2 mg/mL, 1,5 mg/mL. (Za umeritveno krivuljo sladkorja fruktoze uporabimo enako proceduro, saj se glukoza in fruktoza ne razlikujeta v molski masi, pač pa konformaciji. Kemijsko je monosaharid z enako empirično formulo kot glukoza  $C_6H_{12}O_6$ . Za razliko od glukoze, ki spada med aldehide, fruktoza spada med ketone.)



### Priprava raztopin za merjenje s spektrofotometrom Spectrovis

Pripravi 6 epruвет. V prvo odpipetiraj 10 ml destilirano vode (kontrolni poskus). V ostalih 5 epruвет odpipetiraj:

- 1 ml raztopin za umeritveno krivuljo (masne koncentracije 0,3 mg/mL, 0,45 mg/mL, 0,9 mg/mL, 1,2 mg/mL, 1,5 mg/mL),
- 1 ml DNS (dinitrosalicilnega reagenta),
- 2 ml destilirane vode.

Epruvete segrevaj v vreli vodni kopeli 5 minut (poteče reakcija med glukozo in DNS reagentom). Epruvete ohladi in dodaj 10 ml destilirane vode in dobro premešaj.

### Merjenje absorbance s spektrofotometrom SpectroVis

Vključi računalnik preko USB priključka vključite SpectroVis. Zaženi program Logger Pro3. Izmeri absorbance vsem pripravljenim raztopinam standardov glukoze in fruktoze (navodila za delo spektrofotometrom Spectrovis- priloga 1). Pripravi umeritveno krivuljo za standardne raztopine glukoze in fruktoze.

### Priprava kalčkovnega ekstrakta semen Lucerne

Kalčke zatehtaj (5g), jih ob postopnem dodajanju destilirane vode strite. Ekstrakt oddekaniraj v 50ml čašo in z destilirano vodo dopolnite do oznake. Pripravi epruveto kamor odpipetiraj 1 ml raztopine kalčkov, 1 ml DNS (dinitrosalicilnega reagenta), 2 ml destilirane vode. Epruveto segreva v vreli vodni kopeli 5 minut (poteče reakcija med glukozo in DNS reagentom). Epruveto ohladi in doda 10 ml destilirane vode in dobro premeša. S spektrofotometrom Spectrovis izmeri absorbance pripravljenemu vzorcu. Iz umeritvene krivulje odčitaj koncentracijo redukativnih sladkorjev v kalčkih.

### VARNO DELO

Pri izvedbi eksperimenta bodi posebej pozoren na varnostne oznake kemikalij. Temu primerno se tudi zaščiti.

### REZULTATI IZVEDENEGA EKSPERIMENTA

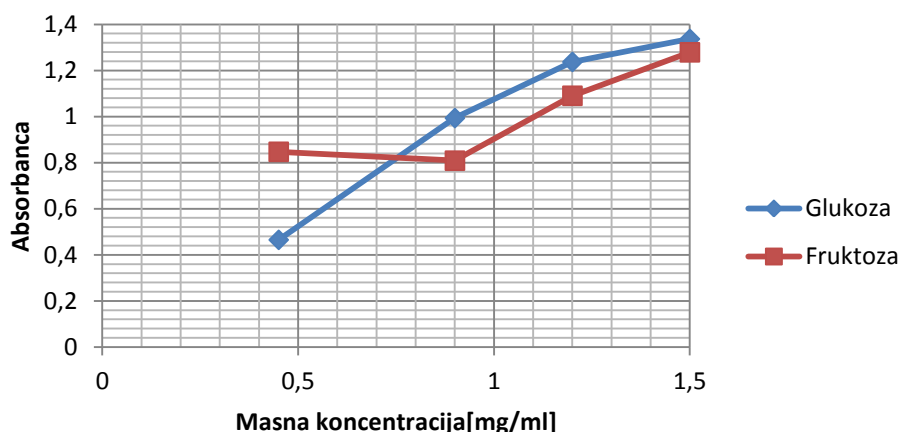
Preglednica 1: Rezultat eksperimentalnih meritev

| Masna koncentracija[mg/ml] | Absorbanca glukoze | Absorbanca fruktoze |
|----------------------------|--------------------|---------------------|
| 0,3                        | 0,2795             | 0,4656              |
| 0,45                       | 0,4653             | 0,8472              |
| 0,9                        | 0,9936             | 0,8087              |
| 1,2                        | 1,2372             | 1,0903              |
| 1,5                        | 1,3368             | 1,279               |



Zatehtali smo 5 g kalčkov Lucerne. Iz grafa smo odčitali izmerjeno absorbanco 1,1226 kar pomeni, da je v pripravljenem vzorcu kalčkov približno 1 mg/ml fruktoze in glukoze. Če preračunamo na 1 g kalčkov, to pomeni:

5g kalčkov lucerne.....1 mg /ml glukoze  
1 g kalčkov lucerne.....x mg /ml glukoze  
**X= 0.25 mg /ml glukoze**



Slika 4: Odvisnost absorbance od masne koncentracije reduktivnih sladkorjev

## VREDNOTENJE

1. Uporabili ste kalčke Lucerne, katerim ste izmerili absorbanco. Po opravljenem kvantitativnem testu za reduktivne sladkorje ste dobili naslednje rezultate (tabela 3 in graf 4). Absorbanca izmerjenega vzorca kalčkov Lucerne je bila 1,1226. Izračunaj masno koncentracijo reduktivnih sladkorjev v kalčkih? (preračunaj na 1 g kalčkov)
2. V tabeli imaš navedene izmerjene absorbance različnih masnih koncentracij glukoze. Grafično prikaži rezultate.

Preglednica 2: absorbanca v odvisnosti od masne koncentracije

| masna koncentracija<br>(mg/mL) | absorbanca |
|--------------------------------|------------|
| 0                              | 0,56       |
| 0,15                           | 0,62       |
| 0,3                            | 0,63       |
| 0,45                           | 0,69       |
| 0,9                            | 0,74       |
| 1,2                            | 0,82       |
| 1,5                            | 0,84       |



- S spektrofotometrom smo izmerili absorbance standardom fruktoze, saharoze, glukoze in neznanemu vzorcu. Sklepaj, kateri podatek predstavlja reduktivne sladkorje? Kaj to pomeni za vzorec?

Fruktoza: 0,7186

Saharoza: 0,1042

Glukoza: 0,6967

Vzorec marmelade: 0.1223

### ŽELIŠ VEDETI VEČ?

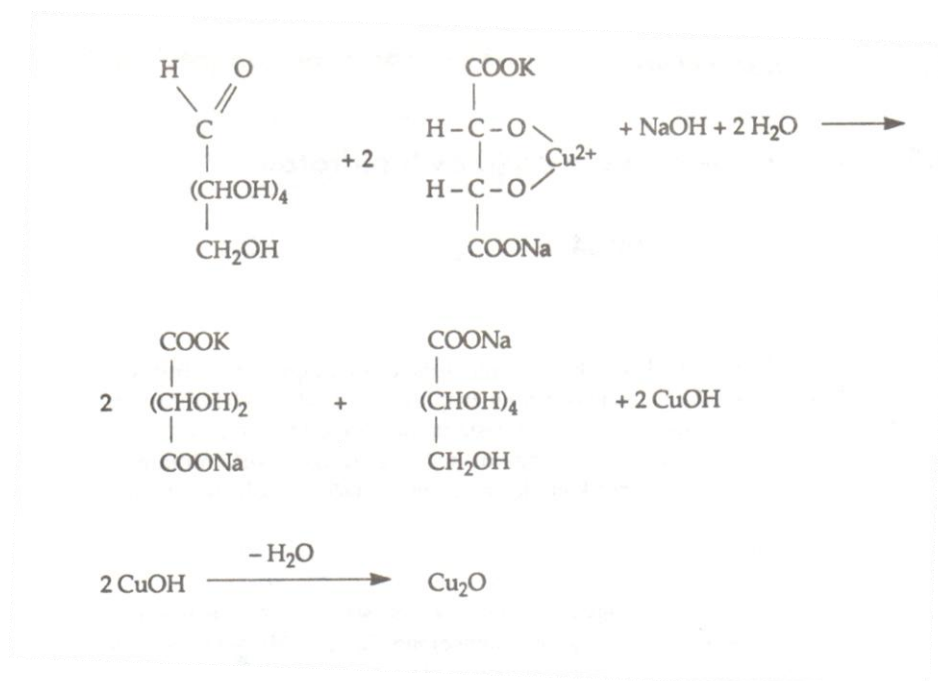
Reduktivni sladkorji so aldoze in ketoze s prosto reaktivno -OH skupino, ki ni blokirana z glikozidno vezjo. Reduktivni sladkorji so vsi monosaharidi kot sta glukoza in fruktoza in nekateri disaharidi, kot so na primer maltoza, laktoza in celobioza. Saharoza ni reduktivni sladkor. ( Ambrožič- Dolinšek, 2001 )

Poznamo naslednje reakcije sladkorjev:

- FEHLINGOVA REAKCIJA,
- BENEDICTOVA REAKCIJA,
- NYLANDERJEVA REAKCIJA,
- TOLLENSOVA REAKCIJA,
- BARFOEDOVA REAKCIJA.

### FEHLINGOVA REAKCIJA

V alkalnem mediju sladkor- reducent reducira  $\text{Cu}^{2+}$  ione, ki so kompleksno vezani na tartratni ion, do rdeče - rjavega obarvanega bakrovega (II) oksida  $\text{Cu}^+$ .







#### Slika 5: Princip Fehlingove reakcije (Požek-Novak, 1990)

Fehlingova reakcija ni specifična reakcija na sladkorje. Po drugi strani pa je potrebno poudariti, da boljše in natančnejše metode za kvantitativno določanje sladkorjev reducentov temeljijo prav na uporabi  $\text{Cu(II)}$  spojin. Nevarnost, da se bodo poleg sladkorja oksidirali tudi drugi reducenti, je pri uporabi  $\text{Cu(II)}$  spojin manjša.

### 3.vaja: Amilazna aktivnost kalčkov

#### CILJ

S klasično metodo po Bergmeyer-ju, (Bergmeyer in Gewehn, 1974) dokazati amilazno aktivnost različnih vrst kalčkov

#### HIPOTEZA

Amilazna aktivnost bo v kalčkih glede na posamezno vrsto kalčkov nespremenjena

#### POTREBŠČINE

- Kalčki redkve (*Raphanus sativus*) in lucerne (*Medicago sativa*),
- Terilnica, pestilo, destilirana voda
- Čaše 100 ml, bučka z okroglim dnom,
- Kapalka, mikropipeta, termometer
- Vodna kopel, zaščitne rokavice.
- Fosfatni pufer pH = 7,2,
- 1% raztopina škroba,
- jodovica



Slika 6: Amilazna aktivnost kalčkov.

#### POTEK DELA

Kalčke zmaceriraj v porcelanasti terilnici, oddekaniraj ekstrakt v epruveto in dodaj 1 ml fosfatnega pufru (20 mmol) z vrednostjo pH = 7,2. Vso homogenizirano vsebino postavi v vodno kopel pri 30°C.

Nato dodaj 50 µL 1% raztopine škroba v fosfatnem pufru in v časovnih intervalih 0, 15, 30 in 45 minut kontroliraj prisotnost škroba z jodovico, pripravljeno po metodi Wolfram s sod. (1983).

#### VARNO DELO

Pri izvedbi eksperimenta bodi posebej pozoren na varnostne oznake kemikalij. Temu primerno se tudi zaščiti.

## REZULTATI IZVEDENEGA EKSPERIMENTA

Amilazna aktivnost kalčkov lucerne, redkve in rukole je prikazana v preglednici 6.

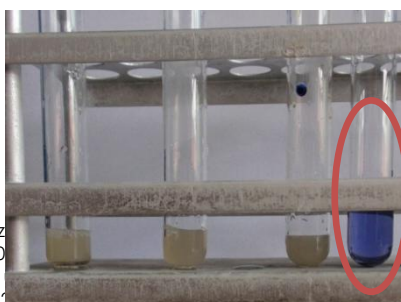
Preglednica 3: Rezultat amilazne aktivnosti kalčkov

| Preverjanje<br>amilazne aktivnosti<br>[min] | 0 min | 15 min | 30 min |
|---|-------|--------|--------|
| Vrsta kalčka                                |       |        |        |
| Rukola                                      | +     | +      | +      |
| Redkev                                      | +     | +      | -      |
| Lucerna                                     | +     | +      | -      |



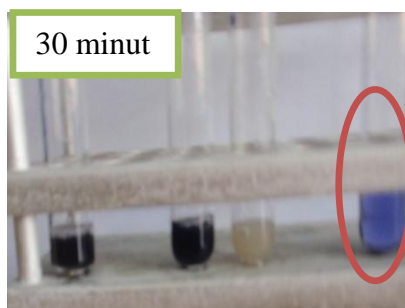
Slika 7: Pozitivni test amilazne aktivnosti kalčkov rukole

- Na podlagi kvalitativnih rezultatov lahko podamo naslednje zaključke te vaje:
- test amilazne aktivnosti je bil pozitiven pri vseh treh vrstah kalčkov, rukoli, redkvi in lucerni,
- po časovnem obdobju 30 minut je bila amilazna aktivnost Rukole še pozitivna, pri ostalih dveh vrstah kalčkov ni več prisotna,
- rezultati amilazne aktivnosti kalčkov se razlikujejo med posameznimi vrstami.





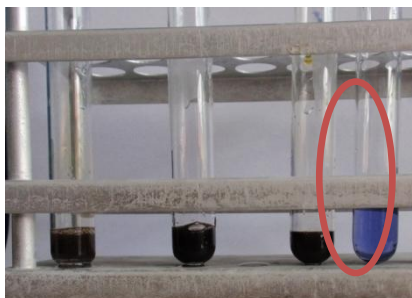
**Slika 8: Pozitivni test amilazne aktivnosti kalčkov lucerne, redkve in ukole (od leve proti desni) ob začetku poskusa.**



**Slika 9: Negativni test amilazne**

**Redkve in Rukole (od leve proti desni)**

**aktivnosti kalčkov Lucerne,**



**Slika 10: Pozitivni test amilazne aktivnosti kalčkov Rukole (od leve proti desni)**

## VREDNOTENJE

Pozorno prouči rezultate testa amilazne aktivnosti kalčkov. Kaj prikazuje oz. predstavlja na slikah 55-57 obkrožena epruveta? Kakšen je njen namen? Komentiraj v uvodu postavljeno hipotezo!

## ŽELIŠ VEDETI VEČ?

### AMILAZE (GLIKOZIDAZE)

Amilaze cepijo škrob v maltozne enote. Ime amilaze je danes v rabi kot skupno ime: razlikujemo alfa amilaze ali dekstrinogene amilaze in beta amilaze- saharogene amilaze.

Amilaze so v naravi zelo razširjena skupina encimov iz razreda hidrolaz, ki cepijo škrob in glikogen v maltozne enote. Razlikujemo  $\alpha$ -amilaze in  $\beta$ -amilaze.

$\alpha$ -amilaze prično s cepitvijo makromolekule v sredini, prvi produkti cepitve so oligosaharidi s 6 do 7 glukoznih enot. Domnevajo, da encim  $\alpha$ -amilaza cepi spiralno strukturo molekule in sicer sosednje, to je za en navoj oddaljene glikozidne vezi. Amilopektin se cepi precej neurejeno. Pri daljšem učinkovanju encima se večji odcepki razgradijo še do maltoze, kjer se hidroliza ustavi.



$\beta$ -amilaze napadajo makromolekulo do konca in odcepijo vedno zadnji dve glukozni enoti. Amiloza se hidrolizira skoraj popolnoma, amilopektin pa približno do polovice. Tako končno preostane razmeroma visokomolekularni »mejni dekstrin«. Samo, če je hkrati prisotna  $\alpha$ -amilaza, se razgradnja nadaljuje.

$\alpha$ -amilaze in  $\beta$ -amilaze se torej ločijo po načinu hidrolitske razgradnje s polisaharidi. (Požek-Novak, 1990)

#### 4. vaja: Kvantitativni test vitamina C kalčkom lucerne



##### CILJ

S titracijo z jodovico določiti količino vitamina C v kalčkih lucerne (*Medicago sativa*).

##### HIPOTEZA

Kalčki Lucerne (*Medicago sativa*) ne vsebujejo vitamina C.

##### POTREBŠČINE

- merilna bučka, vitamin C, tehtnica, urno steklo, destilirana voda, erlenmajerica s širokim vratom, pipeta
- škrobovica,  – koncentrirana klorovodikova kislina, 
- bireta,
- terilnica, pestilo, čaše 100ml,

##### POTEK DELA

###### a) STANDARDIZACIJA JODOVICE

V merilni bučki z volumnom 250 ml raztopi 50 mg vitamina C in raztopino razredči z destilirano vodo na navedeni volumen. V erlenmajerico s širokim vratom odpipetiraj 10 ml raztopine, dodaj 2 kapljici koncentrirane klorovodikove kisline in 1 ml škrobovice ter raztopino titriraj z jodovico do nastanka modro obarvane kompleksne spojine »jodov škrob«. Na osnovi porabe jodovice pri titraciji izračunaj koliko ml jodovice ustreza 1mg vitamina C.



Slika 11: Jodov »škrob«

###### b) ANALIZA VZORCA

V terilnici stri kačke, ekstrakt oddekaniraj v čašo. V erlenmajerico s širokim vratom odpipetiraj 50 ml raztopine, dodamj 2 kapljici koncentrirane



klorovodikove kisline in 1 ml škrobovice ter raztopino titriraj z jodovico do nastanka modro obarvane kompleksne spojine «jodov škrob». Izračunaj vsebnost askorbinske kisline v vzorcu .



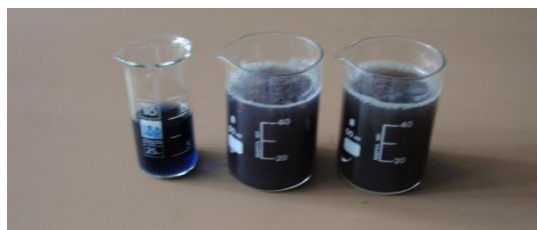
Slika12: Analiza vzorca

### VARNO DELO

Pri izvedbi eksperimenta bodi posebej pozoren na varnostne oznake kemikalij. Temu primerno se tudi zaščiti. Pri delu s koncentrirano klorovodikovo kislino uporablaj digestorij( oz. to opravi laborant).

### REZULTATI IZVEDENEGA EKSPERIMENTA

Pri vaji smo uporabili tehniko določanja vitamina C, tj. titracije vzorca z jodovico. Najprej smo pripravili standardizacijo jodovice z raztopljenim vitaminom C, izračunali koliko ml jodovice ustreza 1mg vitamina C. Sledila je titracija vzorcev kalčkov rukole, redkve in lucerne ter nadaljnja analiza. Titrirali smo trikrat po 50 ml vzorca in s pomočjo titra barvila izračunali vsebnost askorbinske kisline v vzorcu.



Slika13: "JODOV ŠKROB"od desne proti levi (standardna raztopina, rukola, redkev)



Preglednica 4: Rezultati titracije z jodovico

| Zaporedne titracije | STANDARDNA RAZTOPINA | RUKOLA  | REDKEV  | LUCERNA |
|---------------------|----------------------|---------|---------|---------|
| 1                   | 0.70 ml              | 0.60 ml | 0.55 ml | 0.50 ml |
| 2                   | 0.50 ml              | 0.40 ml | 0.50 ml | 0.55 ml |
| 3                   | 0.55 ml              | 0.45 ml | 0.70 ml | 0.30 ml |
| Povprečje           | 0.58 ml              | 0.48 ml | 0.58 ml | 0.45 ml |

### STANDARDIZACIJA JODOVICE

Na osnovi porabe jodovice pri titraciji izračunamo koliko ml jodovice ustreza 1 mg vitamina C. Uporabimo lahko več načinov izračunov, mi bomo uporabili sklepanje.

$V_r = 250 \text{ ml}$

$m \text{ vitamina C} = 50 \text{ mg}$

$m \text{ vzorca} = 10 \text{ ml}$

Torej, 50 mg vitamina C smo raztopili v 250 ml bučki. 3-krat smo titrirali 10 ml vzorca- raztopine z jodovico do nastanka modro obarvane kompleksne spojine »jodov škrob«. Na osnovi porabe jodovice pri titraciji smo izračunali koliko ml jodovice ustreza 1 mg vitamina C.

10 ml vzorca.....x vitamina C

250 ml raztopine.....50 mg vitamina C

$X = (50 \text{ mg} \times 10 \text{ ml}) / 250 \text{ ml} = 2 \text{ mg vitamina C}$

V 10 ml vzorcu, ki smo ga titrirali je 2 mg vitamina C

2 mg vitamina C..... 0.58 ml jodovice

1 mg vitamina C..... X ml jodovice

$X = (1 \text{ mg} \times 0.58 \text{ ml}) / 2 \text{ mg} = 0.29 \text{ ml jodovice}$

0.29 ml jodovice ustreza 1 mg vitamina C

Nadaljujemo tako, da osnovi porabe jodovice pri titraciji vzorca kalčkov izračunamo koliko mg vitamina C ustreza porabljeni jodovici.

RUKOLA (pri titraciji porabili 0.48 ml jodovice)

1 mg vitamina C.....0.29 ml jodovice

x.....0.48 ml jodovice

$x = 1.65 \text{ mg vitamina C}$   
rukole

v 50 ml vzorca je 1.65



v 50 ml vzorca kalčkov  
mg vitamina C





Slika14: " Jodov škrob" rukole

REDKEV (pri titraciji porabili 0.58 ml jodovice)  
1 mg vitamina C.....0.29 ml jodovice  
x.....0.58 ml jodovice  
x = 2 mg vitamina C v 50 ml vzorca kačkov redkve  
v 50 ml vzorca je 2 mg vitamina C



Slika15: " Jodov škrob" redkve

LUCERNA (pri titraciji porabili 0.45 ml jodovice)  
1 mg vitamina C.....0.29 ml jodovice  
x.....0.45 ml jodovice  
x = 1.55 mg vitamina C v 50 ml vzorca kačkov lucerne  
v 50 ml vzorca je 1.55 mg vitamina C

### VREDNOTENJE

- Primerjali smo vrste kalčkov, ki so v zadnjem času najpogostejše na jedilniku. Ugotovili smo in z izračunom podprli, da je v 50 ml vzorca kačkov od 1.55 do 2 mg vitamina C. Računsko potrdi koliko vitamina C je v 1 g kalčkov ?
- V merilni bučki z volumnom 250 ml smo raztopili tabletko, ki vsebuje 50 mg vitamina C in raztopino razredčili z destilirano vodo na navedeni volumen. 10 ml te raztopine smo nakisali s HCl, ji dodali 1 ml škrobovice ter raztopino titriral z jodovico do ekvivalentne točke. Pri titraciji smo



porabili 18.10 ml jodovice. Nato smo za titracijo 50 ml jabolčnega soka porabili 7.25 ml jodovice. Koliko mg vitamina C vsebuje 1 dm<sup>3</sup> jabolčnega soka? (Račun, rezultat)

Na osnovi porabe jodovice pri titraciji izračunamo koliko ml jodovice ustreza 1 mg vitamina C. Uporabimo lahko več načinov izračunov, mi bomo uporabili postopka s sklepanjem.

Vr = 250 ml

m vitamina C = 50 mg

m vzorca = 10 ml

Torej, 50 mg vitamina C smo raztopili v 250 ml bučki. Vzeli smo 10 ml vzorca. Vsak vzorec smo nato 3 krat titrirali z jodovico do nastanka modro obarvane kompleksne spojine »jodov škrob«. Na osnovi porabe jodovice pri titraciji smo izračunali koliko ml jodovice ustreza 1 mg vitamina C.

10 ml vzorca.....x vitamina C

250 ml raztopine.....50 mg vitamina C

$X = (50 \text{ mg} \times 10 \text{ ml}) / 250 \text{ ml} = 2 \text{ mg}$  vitamina C

V 10 ml vzorcu, ki smo ga titrirali je 2 mg vitamina C

2 mg vitamina C..... 18.10 ml jodovice

1 mg vitamina C..... X ml jodovice

$X = (1 \text{ mg} \cdot 18.10 \text{ ml}) / 2 \text{ mg} = 9.05 \text{ ml}$  jodovice

9.05 ml jodovice ustreza 1 mg vitamina C

## ANALIZA VZORCA

Nadaljujemo tako, da osnovi porabe jodovice pri titraciji vzorca izračunamo koliko mg vitamina C ustreza porabljeni jodovici.

Za titracijo 50 ml vzorca smo porabili 7.25 ml jodovice

1 mg vitamina C.....9.05 ml jodovice

x.....7.25 ml jodovice

$x = 0.801 \text{ mg}$  vitamina C v 50 ml vzorca

v 1000 ml vzorca je 16.02 vitamina C

- Načrtuj eksperiment, kjer boš preverjal obstojnost vitamina C v kalčkih, kaljenimi pod različnimi pogoji.

## ŽELIŠ VEDETI VEČ?

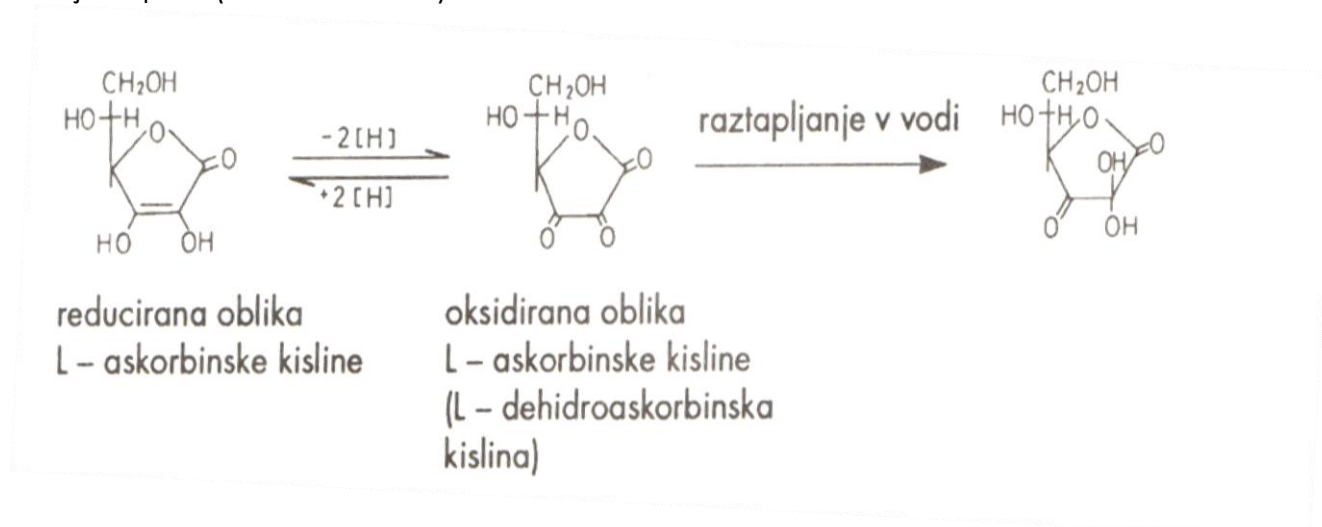
Vitamin C (askorbinska kislina) je esencialen nutrient za človeka. Sodeluje v oksidacijskih procesih v celicah, pri mnogih hidroksilacijah. Prav tako sodeluje v metabliznu aminokislina prolin. Prolin se oksidira v peptidni verigi s posredovanjem hidroksilaze, ki kot donor vodika izkorišča 2-oksoglutarat in potrebuje koencim askorbinsko kislino. (Požek-Novak, 1990)

Vpliva na tvorbo vezivnega tkiva in tako na normalen razvoj kosti, zob in hrustanca, utrjuje stene kapilar, pospešuje tvorbo protiteles, deluje proti

nekaterim strupenim snovem (prostim radikalom, nitrozaminom v črevesu, nekaterim toksičnim zdravilom), uravnava koncentracijo holesterola v krvi.

Človek potrebuje dnevno 30 do 75 mg vitamina C in ga mora dobiti s hrano, je torej esencialna sestavina hrane. (Požek- Novak, 1990)

Nahaja se v svežem sadju in zelenjavi, deloma ga izdelujejo črevesne bakterije, pridobivajo pa ga tudi industrijsko (Petauer 1993). Za rastlino je vitamin C pomemben kot eden najmočnejših reducentov v celični presnovi, sodeluje v oksido-redukcijskih procesih kot donor vodika, pomemben pa je tudi kot regulator rasti in razvoja rastlin (Horemans in sod., 2000). Za vitamin C velja, da je zelo neobstojen. Uničujejo ga segrevanje, kisik, oksidanti, stik s kovinami in lužnato okolje. Nasprotno, kisline povečajo njegovo obstojnost. V vodi je topen (Petauer, 1993).



Slika 16: Prehod L-askorbinske kisline v L-dehidro askorbinsko kislino

Askorbinsko kislino so ugotovili kot antiskorbutni vitamin in jo čisto izolirali leta 1932. Kemično je lakton 2- keto-L- glukonske kisline in je močan reducent. Kemično in biokemično je pomembna zlasti naslednja reverzibilna reakcija:

Askorbinsko kislino smo določili s titracijo z jodovico. Barvilo askorbinsko kislino oksidira in se pri tem razbarva. Vodna raztopina je temno modre barve; pri titraciji se zaradi kislega pH najprej obarva rdeče, nato pa se zaradi redukcije z askorbinsko kislino razbarva. Takoj ko začne rdeča barva zastajati, prenehamo titrirati.



Slika17: Obarvanje raztopine po dodatku kisline



Slika18: Redukcija z askorbinsko kislino- razbarvanje raztopine



## 5. vaja: Določanje koncentracije proteinov v kalčkih po Lawry-evi metodi

### CILJ

Eksperimentalno, iz umeritvene krivulje določiti koncentracijo proteinov v kalčkih (Habulin in Primožič, 2008).

### HIPOTEZA

Kaleča semena vsebujejo proteine.

### POTREBŠČINE

- pipete, epruvete,
- terilnica, pestilo, kački,
- spektrofotometer
- reagenti:

Reagent A: (1 mol/l=M)  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  in 0,25 M



NaOH



Reagent B:  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  (1 g/l) in K-Na-



tartrat (20 g/l)

Reagent C: Folin-Ciocalteu reagent razredčen s 3X volumnom dionizirane vode (reagent : voda = 1 : 3 (v/v)).

### POTEK DELA

Zatehtaj določene količine encimskega preparata- kalčkovega ekstrakta v epruvete ter dodaj po 5 ml destilirane vode v vsako epruveto. Dobro pretresi, da se proteini popolnoma raztopijo v vodi.

Pripravljene raztopine različnih koncentracij encimskega preparata ter dobljen vzorec z neznano koncentracijo centrifugiraj 10 min pri hitrosti 3000  $\text{min}^{-1}$ .

Vsem vzorcem določi koncentracijo prisotnih proteinov po naslednjem postopku:

1. Odpipetiraj 2 ml vzorca določene koncentracije dodanega encimskega preparata v epruveto.
2. Po vrsti dodaj 2 ml reagenta A in 0,8 ml reagenta B.
3. Vsebinsko epruveto pazljivo pretresi.
4. Po 10 min dodajte 1,5 ml reagenta C. Ponovno premešaj. Epruveto z vzorcem in dodanimi reagenti pusti stati na sobni temperaturi 10 minut, da se razvije modra barva.

Odčitaj absorbanco pri  $\lambda = 700 \text{ nm}$ .

Kot referenčno raztopino uporabi destilirano vodo.

Nato odčitaj koncentracijo prisotnih proteinov v raztopini iz umeritvene krivulje.

## VARNOST

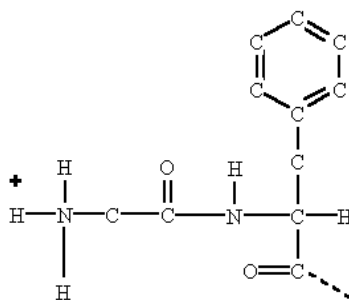
Pri izvedbi eksperimenta bodi posebej pozoren na varnostne oznake kemikalij. Temu primerno se tudi zaščiti.

## ŽELIŠ VEDETI VEČ?

Proteini so polimeri amino kislin, kjer so amino kislinske enote med seboj povezane s peptidnimi vezmi (Slika 19).

Slika19: Del proteinske strukture.

Kriteriji za izbiro metode za določevanje proteinov v raztopini so odvisni od prikladnosti, uporabnosti proteinov za analizo, od prisotnosti dodatkov oz. substanc, ki motijo analizo in od potrebne stopnje natančnosti analize.



Nasplošno velja, da z metodami za določevanje koncentracije proteinov bolj natančno določimo koncentracijo kompleksnim mešanicam proteinov. Določitev koncentracije raztopine čistih proteinov je lahko zelo nenatančna, odvisno od načina analize, razen da je analiziran encim uporabljen tudi kot standard za umeritveno krivuljo.

### Različne metode za določevanje koncentracije proteinov:

1. Določevanje koncentracije proteinov na osnovi absorbanč
2. Kolorimetrična metoda za določevanje koncentracije proteinov Lowry-jeva metoda za določevanje koncentracije proteinov v raztopini Lowry-jeva metoda je metoda za določanje proteinov široke uporabe. Lowry-jeva metoda temelji na dveh reakcijah. Prva reakcija je formiranje bakrovega ion kompleksa z amidnimi vezmi, tvorba reduciranega bakra v alkalnih raztopinah. Druga reakcija je redukcija Folin-Ciocalteu-jevega reagenta (fosfomolibdat) z aromatskimi amino kislinskimi ostanki (tirozin in triptofan).
3. Reducirani Folin-Ciocalteu-jev reagent je moder in ga je mogoče zaznati s spektrofotometrom v območju od 500 do 750 nm. Uporaba Folin-Ciocalteu-jevega reagenta za detekcijo bakra naredi to metodo do 100 krat bolj občutljivo kot je Bierut-ova reakcija sama. Poznanih je več modifikacij osnovne Lowry-jeve metode za določevanje koncentracije proteinov. Osnovno metodo so modificirali predvsem z namenom, da poenostavijo proceduro in omogočijo prisotnost



nekaterih substanc v vzorcu, katerih osnovna metoda ne dopušča (biomaterialov kot so lipidi) (Habulin in Primožič, 2008).

### Literatura:

1. Ambrožič Dolinšek J.(2001). Fiziologija, navodila za vaje. Fakulteta za naravoslovje in matematiko. Maribor
2. Bergmeyer H.U. and Gawehn K.(1970). Methoden der enzymatischen Analyse Verlag Chemie. Weinheim. Berlin
3. Habulin M.,Primožič M.(2008): Biokemijska tehnika, navodila za laboratorijske vaje (zbrano gradivo), Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Univerza v Mariboru
4. Hormans N. Foyer CH.Potters G.and Asard H.(2000) Ascorbate function and associated transport system in plants. Plant Physiology and Biochemistry.38, 7-8
5. Krajncič B.,(1994): Botanika (anatomija z morfologijo)., Fakulteta za kmetijstvo., Univerza v Mariboru
6. Požek-Novak T.,(1990): Biokemijski eksperimenti v šoli., Zavod Republike Slovenije za šolstvo.,Ljubljana
7. Petauer T.,(1993). Leksikon rastlinskih bogastev. Tehniška založba Slovenije, Ljubljana, Slovenija.
8. Puhek M. (2009). Interaktivne računalniške simulacije bioloških laboratorijskih vaj, Diplomsko delo, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Univerza v Mariboru.
9. Šorgo A., Špernjak A . (2009). Primerjava priljubljenosti treh različnih načinov izvedbe bioloških laboratorijskih vaj med osnovnošolci, Didactica slovenica, 24
- 10.Šimek J. (2010): Uporaba spektrofotometra SpectroVis pri vajah z rastlinskimi barvili. Diplomsko delo, Univerza v Mariboru, Fakulteta za naravoslovje in matematiko, Oddelek za biologijo



## PRILOGA

Prevod navodil za SpectroVis (Šimek, .2010)

Vernier SpectroVis

Spectrofotometer

(Naročniška šifra: SVIS)



SpectroVis je prenosni spektrofotometer za vidno svetlobo.

Kaj vključuje SpektroVis?

- Eno SpectroVis enoto
- 15 plastičnih kivet s pokrovi
- En standardni USB kabel
- Navodila (ta dokument)

## Programske zahteve

Logger Pro 3 (verzija 3.6 ali novejša) programska oprema je obvezna, če uporabljate računalnik. LabQuest različica 1.1 ali novejša je potrebna če uporabljate LabQuest. Obiščite oddelek za prenos programov na [www.vernier.com](http://www.vernier.com) za posodobitve svoje programske opreme.

Uporaba SpectroVis z računalnikom

- Namestite programsko opremo Logger Pro 3 (verzijo 3.6 ali novejšo) na računalnik preden uporabite SpectroVis.
- Povežite SpectroVis z USB priključkom ali napajalnim vmesnikom.
- Ko prvič povežete SpectroVis z računalnikom, vam lahko računalnik zastavi nekaj vprašanj. **Opomba:** Ne iščite na spletu gonilnike naprav. Le ti se naložijo, ko boste zagnali Logger Pro 3.

Umerite SpectroVis

- Za umerjanje SpektroVisa izberite umeri (Calibrate) ► Spectrometer iz eksperimentalnega menija (Experiment menu).
- Kiveto napolnite do  $\frac{3}{4}$  z destilirano vodo in jo namestite v prostor za kivete.
- 3. Sledite navodilom v pogovornem oknu (Dialog box), da končate umerjanje in nato pritisnite .

Zbiranje podatkov

Obstajajo tri splošne možnosti zbiranja podatkov za merjenje absorbance;

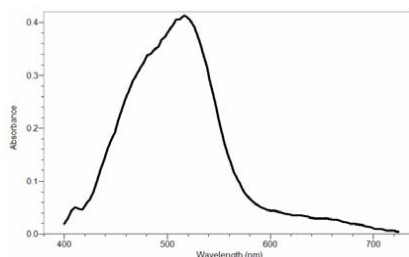
- absorbanca v primerjavi z valovno dolžino, ki proizvaja spekter,
- absorbanca v odvisnosti od koncentracije za Beer-ov zakon,
- in absorbanca v odvisnosti od časa za kinetične eksperimente.

Izmerite absorpcijski spekter vodnega vzorca

(Absorbanca v odvisnosti od valovne dolžine)

1. Napolnite kiveto približno  $\frac{3}{4}$  polno z vzorčno raztopino. Vzorec namestite v nosilec, držalo za kivete v SpektroVisu.



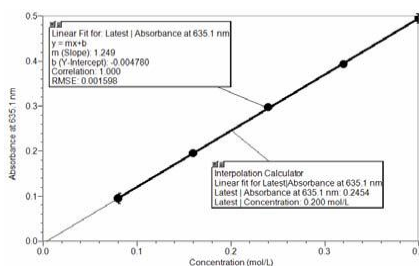


Slika 1: Tipičen absorpcijski spekter

2. Pritisnite  in nato  za končanje zbiranja podatkov.

Ravnanje pri Beer-ovem zakonu  
(absorbanca v odvisnosti od koncentracije)



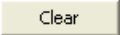
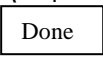
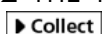


1. Izmerite absorpcijske spektre, kot je zapisano zgoraj.
2. Pritisnite na gumb za zbiranje podatkov (Configure Spectrometer),
3. Izberite absorbanco v odvisnosti od koncentracije kot način zbiranja. Valovna dolžina maksimuma absorbance bo izbrana avtomatsko. Pritisnite  za nadaljevanje ali pa  in izberite valovno dolžino na grafu ali na seznamu valovnih dolžin.
4. V režo za kiveto vstavite svojo standardno rešitev za Beer-ov zakon. Pritisnite  in nato . Vpišite koncentracijo vzorca in nato pritisnite
5. Vstavite svoj drugi standardni vzorec v Spektrovis. Ko se odčitek absorbance stabilizira pritisnite . Vpišite koncentracijo drugega vzorca in pritisnite
6. Ponovite korak 5 za vse ostale standardne vzorce. Po vstavljenem zadnjem vzorcu pritisnite  za konec zbiranja podatkov.
7. Pritisnite linearno prilaganje , da vidite najboljšo primerno linijo enačbe za standardne rešitve.
8. Vstavite v režo za kiveto neznan vzorec raztopine. Izberite interpolacijski kalkulator (Interpolation Calculator) iz menija za analiziranje (Analyze menu). Prikazala se vam bo pomoč (helper box) z neznanim absorbanco in koncentracijo.
9. Pritisnite  .



Slika 2: Tipična analiza neznanega vzorca po Beer-ovem zakonu




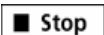
Vodenje kinetičnih eksperimentov (Absorbanca v odvisnosti od časa)

1. Izmerite absorpcijske spektre kot je opisano spodaj.
2. Izberite konfiguriraj spektrometer ikono za zbiranje podatkov, .
3. Izberite absorbanco v odvisnosti od časa kot način zbiranja podatkov. Izbrana bo valovna dolžina maksimuma. Pritisnite  nadaljevanje ali kliknite  in izberite valovno dolžino na grafu ali iz seznama valovnih dolžin.
4. Privzete nastavitve so 1 vzorec na sekundo za 200 sekund. Če želite spremeniti nastavitve parametrov zbiranja podatkov za vaš eksperiment, izberite zbiranje podatkov (Data Collection ) iz eksperimentalnega menija (Experiment menu) in opravite nujne spremembe. Nato pritisnite .
5. Zmešajte reaktante, prenesite ~2 mL reakcijske zmesi v kiveto in jo namestite v SpectroVis. Pritisnite . Če želite zbiranje podatkov zaključiti prej pritisnite .
6. Izberite ikono ustrezna krivulja,  za izračun funkcije z vašimi podatki.

#### Uporaba spektrometra za merjenje emisijskega spektra

SpectroVis se lahko uporablja za merjenje emisijskih spektrov svetlobnega vira kot je LED ali razelektritveno plinska cev. Nakup SpectroVis optičnega kabla (order code: SVIS-FIBER) je potreben.

#### Merjenje emisijskega spektra

1. Vstavite optični kabel v SpectroVis, postavite v vrsto bele trikotnike. Zaženite programsko opremo Logger Pro 3.
2. Izberite spremeni enoto (Change Units) ► Spectrometer ► intenziteta (Intensity) iz eksperimentalnega menija. Intenziteta je relativno merilo.
3. Vrh kabla optičnih vlaken povežite z izvorom svetlobe. Pritisnite . Za konec zbiranja podatkov pritisnite .

Če se spekter poveča (ravni in široki vrhovi), naraste razdalja med izvorom svetlobe in konico kabla optičnih vlaken ali se zmanjša čas zbiranja podatkov. Če izvajate teste z gorenjem, ne namestite vrha kabla optičnih vlaken bližje ognju kot 4-5 cm.

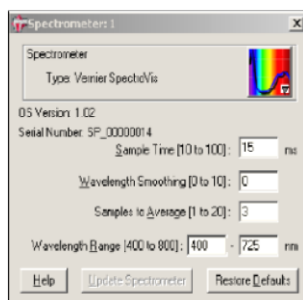
Za prilagoditve parametrov zbiranja podatkov izberite namesti senzorje (Set Up Sensors) ► Spectrometer iz eksperimentalnega menija. Nastavite čas zbiranja podatkov na ustrezno vrednost in znižajte vzorce na povprečno 1.

#### **Spreminjanje nastavitve v Logger Pro 3**

##### Spektrometer pogovorno okno (Dialog Box)

Seznam vseh nastavitvev za spektrometer se nahaja v pogovornem oknu (Dialog Box).

Za prikaz tega okna izberite nastavitve senzorja (Set Up Sensors ) ► prikaži vse povezave (Show All Interfaces) iz eksperimentalnega menija.




Slika 3

Obstajajo štiri parametri navedeni v pogovornem oknu.

1. Čas zbiranja podatkov: podoben hitrosti zapiranja zaklopke na kameri. Logger Pro avtomatsko izbere primeren čas zbiranja med umerjanjem. Opomba: Pri študiju emisij boste morda morali čas vzorčenja spremeniti ročno.
2. Izravnalna valovna dolžina: število sosednjih odčitkov na obeh strane dane vrednosti, ki se uporablja za izračun povprečne vrednosti.
3. Vzorci za povprečje: število odčitkov vzetih med danimi valovnimi dolžinami za izračun povprečne vrednosti.
4. Obseg valovne dolžine: območje se določi z vrsto uporabljenega spektrometra.

S klikom na sliko spektrometra v tem pogovornem oknu, boste pridobili dostop do štiri možnosti: umerjanje, nastavitve zbiranje podatkov, za podporo odprte spletno stran in merske enote. Kliknite na predmet, ki ga želite izbrati.

### Nastavitve spektrometra, pogovorno okno zbiranja podatkov

Če želite prikazati to polje, kliknite na gumb za nastavitve zbiranja podatkov (Configure Data Collection button), . Obstajajo tri regije v tem polju.

1. Graf: Grafični prikaz celotnega spektra analize vzorca v kivetu. Kot privzeta bo valovna dolžina največje absorbance - vrh in označena s poljem. S klikom na ploskev zelene valovne dolžine lahko izberete drugo valovno dolžino. Polje pod grafom vam omogoča, da izberete del grafa in ga analizirate kot en razpon valovnih dolžin.
2. Nastaviti način zbiranja: Ponujene so tri možnosti zbiranja podatkov. Privzeta je analiza celotnega spektra- absorbance v odvisnosti od valovne dolžine.
3. Celoten spekter/ izberi valovno dolžino: Ta stolpec navaja vse razpoložljive valovne dolžine. Le ta postane aktiven ko izberete absorbance v odvisnosti od koncentracije ali absorbance v odvisnosti od časa. Preverite polje za vse valovne dolžine, ki jih želite uporabiti pri poizkusu. Ko izberete valovno dolžino iz seznama, se na grafu pojavi polje. Uporabite gumb za odstranitev vseh valovnih dolžin izbranih na grafu.

### Določanje valovnih dolžin za uporabo v eksperimentih



Kadar ravnate z laboratorijem Beer-ov zakon ali kinetičnim laboratorijem jima je skupno, da lahko izberete eno valovno dolžino, pri kateri bo potekal poizkus. Kakorkoli, pri Logger Pro 3 lahko izberete kolikor valovnih dolžin hočete. Obstajajo trije načini izbire valovne dolžine oz. valovnih dolžin.

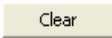
1. Izvedite celoten spekter analize preiskovalne raztopine

Zberemo spekter absorbance vzorca raztopine in preučimo graf. Pojdite na nastavi spektrometer pogovorno okno zbiranja podatkov (Configure Spectrometer Data Collection Dialog Box) in izberite absorbanco v odvisnosti od koncentracije. Valovna dolžina maksimalne absorbance bo izbrana avtomatsko.

2. Uporabite vzorec raztopine za določitev vrha absorbance

To je varianta prejšnje metode, kadar ne želite obdržati kopije celotnega spektra analize. Po končanem umerjanju SpektroVis-a vstavite vzorec raztopine in pritisnite konfiguriraj spektrometer pogovorno okno zbiranja podatkov. Izberite absorbanco v odvisnosti od časa za kinetične eksperimente ali izberite absorbanco v odvisnosti od koncentracije za eksperimente Beer-ovega zakona. Valovna dolžina maksimuma absorbance bo izbrana avtomatsko.

3. Ročno izberite valovno dolžino absorbance

Ta metoda se lahko uporablja, če že veste natančne valovne dolžine, ki se uporabljajo v poskusu. Po umerjanju SpectroVis-a, pojdite na Konfiguriraj spektrometer pogovorno okno zbiranja podatkov. Izberite abs. v odvisnosti od koncentracije ali abs. v odvisnosti od časa. Pritisnite  . Izberite valovno dolžino na grafu ali iz seznama valovnih dolžin.

### Izberite razpon valovnih dolžin za uporabo v eksperimentu

Morda boste želeli za merjenje absorbance ali %T vzorca v skupini valovnih dolžin raje kot posamezno valovno dolžino.

Tukaj obsajata dva načina izbire skupine valovnih dolžin iz pogovornega okna zbiranja podatkov nastavitvev spektrometra.

1. Izberite valovne dolžine v danem trenutku s preverjanjem polj v izbranem stolpcu valovnih dolžin.
2. Postavite kazalec na graf v pogovornem oknu. Kliknite levo in povlecite čez območje valovnih dolžin, ki jih želite analizirati. Prepričajte se, da obravnavate mejno valovno dolžino kot enojen obseg v polju.

### Merjenje

SpectroVis lahko izmeri absorbanco ali % prepustnost. Privzeta je absorbanca. Če želite to spremeniti, izberite spremeni enoto (Change Units) ► Spectrometer iz eksperimentalnega menija (Experiment menu). Kliknite vašo izbiro na seznamu. Lahko tudi merite jakosti. Če boste želeli to narediti boste morali kupiti SpektroVis pribor optičnih vlaken (SpectroVis Optical Fiber accessory), ki se prodajajo ločeno.

### Uporaba SpektroVis-a z LabQuest-om

1. Uporabite USB kabel za povezavo SpektroVis-a z LabQuest-om.



2. Vključite LabQuest. LabQuest-app se bo zagnal samodejno in prikazal se bo meritveni zaslon.

#### Umerite SpektroVis

1. Napolnite kiveto približno  $\frac{3}{4}$  polno z destilirano vodo in jo namestite v režo za kivete v SpektroVis-u. Kiveto namestite tako, da je prosojna stran obrnjena proti izvoru svetlobe.
2. Izberite Calibrate ► USB:Spectrometer iz senzornega menija (Sensors menu). Ob pozivu izberite končaj umerjanje (Finish Calibration). Po prikazu sporočila, umerjanje končano (Calibration Completed), pritisnite OK.

#### Izmerite absorpcijski spekter vzorca vodne raztopine ( Absorbanca v odvisnosti od valovne dolžine)

1. Napolnite kiveto  $\frac{3}{4}$  polno z vzorcem vodne raztopine, ki ga želite testirati. Namestite vzorec v SpektroVis.
2. Pričnite zbirati podatke. Za končanje zbiranja podatkov pritisnite rdeč gumb za stop.

#### Ravnanje pri Beer-ovem zakonu za eksperimente (Absorbanca v odvisnosti od koncentracije)

1. Izmerite absorpcijski spekter kot je zapisano zgoraj. Na zaslonu pritisnite Mode (način). Spremenite način v dogodke z vstopom (to Events with Entry).
2. Valovna dolžina maksimuma absorbance bo izbrana samodejno ( $\lambda_{max}$ ). Če želite izbrati dolgo valovno dolžino, lahko kliknete na graf za izbor nove valovne dolžine ali uporabite puščico na tipkovnici za premik kurzorja na novo valovno dolžino.
3. Vnesite ime (koncentracija) in enoto (mol/L). Pritisnite OK.
4. Prikazalo se bo opozorilno okno s svarilom da obstoječi spekter shranite ali izbršete. Odločite se in nadaljujte z zbiranjem podatkov.
5. Vstavite svoj prvi standardni vzorec za Beer-ov zakon v držalo za kiveto. Pričnite z zbiranjem podatkov. Po stabiliziranju odčitkov absorbance kliknite Keep (ohrani). Vpišite koncentracijo raztopine in pritisnite OK.
6. Vstavite svoj drugi standardni vzorec v SpektroVis. Po stabilizaciji odčitkov absorbance pritisnite Keep. Vnesite koncentracijo drugega vzorca in pritisnite OK.
7. Ponovite korak 5 za vse ostale standardne vzorce. Po preizkusu zadnjega vzorca pritisnite rdeč stop gumb za končanje zbiranja podatkov.
8. Za izračun najboljše linije enačbe za vaše standarde, izberite ustrezno krivuljo (Curve fit) iz menija analiziraj (Analyze menu). Izberite linearno za ustrezno enačbo in pritisnite OK. Graf se bo ponovno prikazal z linearno regresijo enačbe.
9. Namestite kiveto, ki vsebuje neznan vzorec raztopine v SpektroVis. Kliknite meritveni jeziček in vpišite prikazane vrednosti absorbance. Pritisnite graf in sledite linearno regresijo enačbe za določitev koncentracije neznanega.



Ravnanje pri kinetičnih eksperimentih  
(Absorbanca v odvisnosti od časa)

1. Izmerite absorpcijske spektre kot je zapisano zgoraj.
2. Valovna dolžina maksimalne absorbance ( $\lambda_{\max}$ ) bo izbrana avtomatsko. Če želite izbrati dolgo valovno dolžino, lahko kliknete na graf za izbor nove valovne dolžine ali uporabite puščico na tipkovnici za premik kurzorja na novo valovno dolžino.
3. Na merilnem zaslonu kliknite način (Mode). Spremenite način zbiranja podatkov na odvisnega od časa (Time Based).
4. Če želite lahko spreminjate stopnjo, interval in/ali trajanje zbiranja podatkov. Pritisnite OK, ko boste pripravljeni nadaljevati. Pojavilo se vam bo opozorilno okno, ki bo od vas zahtevalo shranitev ali izbris trenutnega spektra. Odločite se in nadaljujte z zbiranjem podatkov.
5. Zmešajte reaktante, prelijte ~2 mL reakcijske zmesi v kiveto in jo vstavite v SpectroVis. Začnite zbirati podatke. Za predčasno končanje lahko kliknete rdeč stop gumb.
6. Za izračun funkcije za vaše podatke izberite ustrezno krivuljo (Curve Fit) iz analiznega menija (Analyze menu). Izberite ustrezno enačbo in nato pritisnite OK. Zaslonski graf se bo ponovno prikazal.

### Uporaba spektrometra za merjenje emisijskih spektrov

SpectroVis se lahko uporablja za merjenje emisijskih spektrov svetlobnega vira kot je LED ali razelektritveno plinska cev. Nakup SpectroVis optičnega kabla (order code: SVIS-FIBER) je potreben. Če izvajate teste z gorenjem, ne namestite vrha kabla optičnih vlaken bližje ognju kot 4-5 cm.

Merjenje emisijskega spektra

1. Vstavite optični kabel v SpectroVis, bele trikotnike postavite v vrsto.
2. Zaženite LabQuest. LabQuest App bo začel avtomatsko in prikazal se bo merilni zaslon.
3. Na merilnem zaslonu izberite spremeni enoto (Change Units) ► USB:Spectrometer ► intenziteta (Intensity) iz senzor menija. SpectroVis intenziteta je relativno merilo.
4. Izberite senzorji (Sensors) ► zbiranje podatkov (Data Collection). Spremenite čas zbiranja podatkov na 40 ms.
5. Vrh kabla optičnih vlaken povežite z izvorom svetlobe. Pričnite z zbiranjem podatkov. Pritisnite rdeč stop gumb za prekinitev zbiranja podatkov. Če se spekter poveča (ravni in široki vrhovi), naraste razdalja med izvorom svetlobe in konico kabla USB ali se zmanjša čas zbiranja podatkov. Za prilagoditve parametrov zbiranja podatkov kliknite senzor in izberite zbiranje podatkov (Data Collection). Nastavite čas zbiranja podatkov na ustrezno vrednost in znižajte vzorce na povprečno 1.

### Določanje valovne dolžine za uporabo v eksperimentih

Po tem, ko zberete celoten spekter absorbance vzorca, bo LabQuest opredelil valovno dolžino maksimalne absorbance ( $\lambda_{\max}$ ). Če želite izbrati



dugo valovno dolžino, lahko kliknete na graf celotnega spektra ali uporabite puščico na tipkovnici za premik kurzorja na novo valovno dolžino. Drugi način za spremembo valovne dolžine je, presedlate na merilni zaslon, kliknite na izmeri sam (meter itself) in izberite spremeni valovno dolžino (Change Wavelength). Vpišite valovno dolžino po svoji izbiri in pritisnite OK. Če valovno dolžino, ki ste jo vnesli, SpectroVis ne meri, bo sam izbral valovno dolžino najbližje vaši.

#### Vzorčni eksperimenti

Na voljo vam je več eksperimentov za uporabo SpectroVis-a. Lahko si jih naložite iz naše spletne strani ([www.vernier.com/spectroscopy](http://www.vernier.com/spectroscopy)).

#### Tehnični podatki

- Dimenzija: 14.5 cm × 8.4 cm × 3.8 cm
- Napajanje: preko USB kabla iz računalnika
- Vir svetlobe: LED-osnova, približno 100,000 ur življenjske dobe
- Rang valovne dolžine: 400 nm–725 nm
- Resolucija v pikslih (Pixel): ~3 nm

#### Garancija

Vernier zagotavlja, da bo ta izdelek brez napak v materialu in izdelavi za obdobje enega leta od datuma odpreme kupcu. Ta garancija ne krije škode na izdelku zaradi zlorabe ali nepravilne uporabe.



#### **Vernier Software & Technology**

13979 S.W. Millikan Way • Beaverton, OR 97005-2886

Toll Free (888) 837-6437 • (503) 277-2299 • FAX (503) 277-2440

info@vernier.com • [www.vernier.com](http://www.vernier.com)