

Taak 1

# IJS

9 mei 2017



Land:

Team:

## Algemene instructies

**Je hebt 4 uur om deze taak uit te voeren.**

**Draag in de labzaal te allen tijde een labjas en een veiligheidsbril.  
Als je zelf al brildragend bent, hoeft je geen extra veiligheidsbril te dragen.  
Het is verboden te eten en/of drinken in de labzaal.**

Als je per ongeluk chemicaliën op je huid krijgt, verwijder die dan direct met kraanwater.

Alle papieren die je gebruikt hebt, inclusief kladpapier en aantekeningen, moeten na afloop van de taak ingeleverd worden.

Alle (meet)resultaten moeten ingevuld worden op het antwoordblad.

De grafieken moeten tegelijk met het antwoordblad ingeleverd worden.

**Alleen het gele antwoordblad, en de daaraan toegevoegde grafieken worden beoordeeld.**

De taak bestaat uit 4 experimenten.

Experiment 1: 32 punten

Experiment 2: 32 punten

Experiment 3: 20 punten

Experiment 4: 26 punten

# Introductie

Welkom in het 'IJsland'. Dit is je werkplek voor de komende paar uur. Je gaat onderzoeken hoe het klimaat en de omstandigheden voor het leven in het verleden waren.

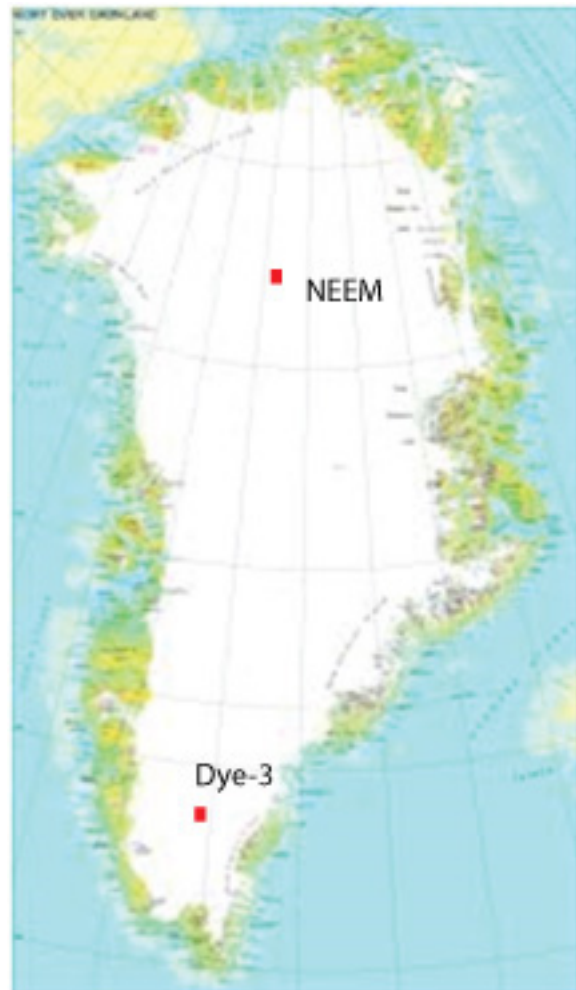
De toenemende hoeveelheid broeikasgassen in de atmosfeer heeft klimaatveranderingen tot gevolg. Experts zijn volop in discussie met elkaar over de gevolgen van deze klimaatveranderingen op de stijging van de gemiddelde wereldwijde temperatuur en in hoeverre dit de afkalving van het poolijs en het smelten van het ijs op Groenland beïnvloedt. De afkalving en het smelten van dit ijs kan tot gevolg hebben dat het niveau van het zeewater met meerdere meters toeneemt.

Om het klimaat in de toekomst te kunnen voorspellen, is het nodig om meer kennis te vergaren over het klimaat en de veranderingen hiervan in het verleden. Een van de mogelijkheden is het onderzoeken van ijskernen, monsters van de ijskap, opgeboord van het oppervlak tot op de (ver) daaronder liggende rotsbodem. In Groenland is de ijskap op sommige plaatsen meer dan 3000 m dik. Ijskernen vormen een veelomvattende bron van informatie over het klimaat in het verleden.

Metingen van de eigenschappen van ijs, de samenstelling van de onzuiverheden en de ingesloten luchtbelletjes bieden mogelijkheden om de atmosfeer, de zee en de ijskappen uit het verleden vrij gedetailleerd te onderzoeken.

Je gaat onderzoek doen aan ijskernen afkomstig van het onderzoekscentrum NEEM in Groenland. Je gaat DNA-fragmenten analyseren in monsters afkomstig van de plek Dye-3. Je gaat ook onderzoek doen aan organismen die recent leefden in zogenoemde ijsholtes in het arctische ijs. Je gaat het klimaat uit het verleden karakteriseren met behulp van fysisch, chemisch en biologisch onderzoek.

Op deze manier kun je bijdragen aan een beter begrip van het huidige klimaat en dat in de afgelopen periodes tussen de ijstijden. Hiermee vergroot je dus het begrip van de dynamica van klimaatsystemen en maak je het mede mogelijk om de invloed van toekomstige klimaatveranderingen op de ijskappen te voorspellen.



Figuur 1.0. Groenland, dicht bij de Noordpool. De locaties van de boringen NEEM en Dye-3 zijn aangegeven.

## Inleiding

Polaire ijskernen kunnen worden gebruikt om waardevolle informatie te verkrijgen over het klimaatverleden. Willi Dansgaard, een pionier in onderzoek naar polaire ijskernen, stelde in 1952 dat de verhouding tussen zware en lichte isotopen van zuurstof in de watermoleculen van polaire neerslag een sterke correlatie vertoont met de temperatuur van de atmosfeer ten tijde van de neerslag. Als gevolg daarvan kan het bestuderen van ijs van diepere lagen van ijskappen op Groenland en Antarctica informatie opleveren over het klimaatverleden gedurende tien- tot honderdduizenden jaren terug in de tijd.

Jullie krijgen hier de unieke gelegenheid om metingen en berekeningen te verrichten aan monsters van echte ijskernen uit de ijskap van Groenland. Eerst ga je metingen doen van de dichtheid van ijs en daarna ga je de temperatuur van Groenland in het verleden reconstrueren, gebruikmakend van de nieuwste laserspectroscopiemethoden.

## Materialen

- 1 cilindrische ijskern, 2 cm dik
- 1 bekeerglas van 1000 mL
- 1 fles koud demiwater
- 1 precisieweegschaal (+/-0,1 g)
- 1 aardappelvork (met vier tanden)
- 1 thermometer
- 1 plastic schuifmaat
- millimeterpapier
- 2 flessen met watermonsters van ijskernen – worden later uitgereikt
- 2 plastic pipetten
- 2 monsterflesjes

### 1.1 De dichtheid van ijs

De toplaag van Groenlands ijs bestaat uit firsneeuw. Met de term firsneeuw (in het Duits betekent het letterlijk sneeuw van het voorgaande jaar) bedoelen we het materiaal dat door een verdichtingsproces van sneeuw is veranderd in vast ijs. Het eerste deel van deze opdracht is de experimentele bepaling van de dichtheid van een echte ijskern uit de ijskap van Groenland.

**Let a.u.b. op het volgende:**

In het volgende experiment moet je werken met een stuk ijs in een omgeving met een temperatuur boven 0 °C. Daarom raden we je aan om je experiment voor te bereiden, de stappen van tevoren te lezen en een plan te maken als team voordat je de ijskern uit de vriezer haalt. Grote vertragingen tijdens het experiment kunnen leiden tot onnodig smelten van ijskern met slechte meetresultaten tot gevolg.

**Vraag 1.1**

Volg de onderstaande stappen.

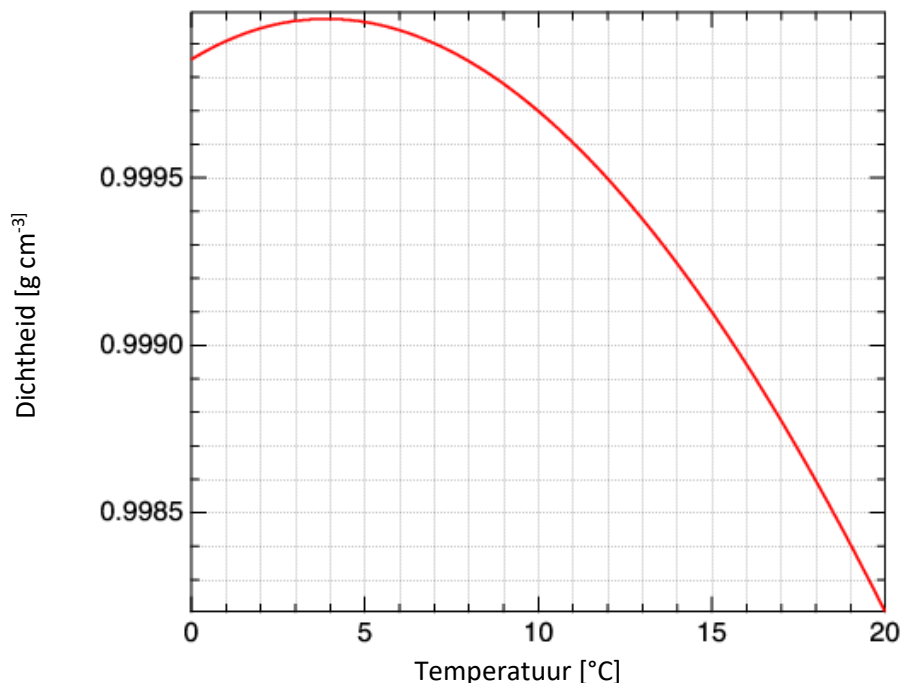
**Vraag 1.1.1**

- a. Haal het bekeerglas en het koude demiwater uit de vriezer en vul het bekeerglas met 0,5 L water. Meet de temperatuur van het water  $T_W$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.1.*

- b. Bepaal de dichtheid  $\rho_w$  van het water bij de temperatuur die je hebt gemeten, gebruikmakend van de plot in **Figuur 1.1**.

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.1.*



**Figuur 1.1.** De dichtheid van water als functie van de temperatuur.

### Vraag 1.1.2

c. Plaats het bekeerglas op de weegschaal en meet de massa van het water en het bekeerglas  $m_{w+b}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.2.*

d. Haal de ijskern uit de vriezer.

e. Meet de diameter  $D_{ijs}$  en de dikte (hoogte)  $H_{ijs}$  van je monster met behulp van de plastic schuifmaat.

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.2.*

f. Plaats het ijsmonster in het water. Meet de nieuwe massa  $m_{w+b+ijs}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.2.*

g. Oefen met de aardappelvork een kracht uit op het ijs om het onder water te dompelen. Noteer de nieuwe meetwaarde  $m_{w+b+ijs+kracht}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.2.*

### Vraag 1.1.3

h. Bereken het volume van jullie monster  $V_{ijs}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.3.*

i. Bereken de massa van de ijskern  $m_{ijs}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.3.*

j. Gebruik de resultaten van stap h en i om de dichtheid  $\rho_{ijs}$  van het ijs te berekenen.

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.3.*

k. Gebruik de resultaten van stap g en i om een tweede schatting te maken van de ijsdichtheid  $\rho'_{ijs}$ . Laat de tussenstappen in je berekening zien.

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.3.*

### Vraag 1.1.4

In deze vraag ga je onzekerheden van enkele metingen schatten met behulp van de min-max methode.

l. Bereken het verschil  $\rho'_{ijs} - \rho_{ijs}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.4.*

m. Je hebt waarschijnlijk gemerkt dat de meetwaarde die je krijgt voor  $m_{w+b+ijs+kracht}$  als het ijs wordt ondergedompeld enigszins instabiel is. Maak een schatting van de onzekerheid  $\Delta m_{w+b+ijs+kracht}$ .

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.4.*

n. Maak een schatting van de onzekerheid  $\Delta \rho'_{ijs}$  op basis van je antwoord bij stap m.

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.4.*

o. Neem aan dat de kwaliteit van het snijden van het monster en de meting met de schuifmaat resulteren in een onzekerheid van 0,2 mm voor zowel  $D_{ijs}$  als  $H_{ijs}$  en bereken de onzekerheden van de schattingen van  $V_{ijs}$  en  $\rho_{ijs}$  (dus bereken  $\Delta V_{ijs}$  en  $\Delta \rho_{ijs}$ ).

➤ *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 1.1.4.*

## 1.2 Verdichting van sneeuw tot ijs en druk in het ijs

De druk nodig voor het verdichtingsproces van de firsneeuw komt van het gewicht van het materiaal zelf. Hierdoor neemt de dichtheid toe met toenemende diepte zoals in **Figuur 1.2** is weergegeven. De druk op een diepte  $z$  wordt gegeven door de vergelijking:

$$p(z) = \frac{g \cdot m_z}{A}$$

waarbij  $g$  de gravitatieversnelling ( $9.81 \text{ ms}^{-2}$ ) en  $m_z$  de massa van een kolom overbelast ijs op diepte  $z$  en met doorsnede  $A$ .

### Vraag 1.2.1

Op basis van de vergelijking voor de druk en **Figuur 1.2**, beoordeel de volgende stellingen als waar of onwaar.

Stelling	Waar	Onwaar
$p(z)$ hangt alleen van de diepte $z$ af.		
Bij voldoende grote diepte wordt de druk $p(z)$ ruwweg een lineaire functie van de diepte.		
$p(z)$ hangt af van de diepte $z$ en de dichtheid $\rho$ .		
$p(z)$ is onafhankelijk van de diepte $z$ .		
$p(z)$ is onafhankelijk van de doorsnede $A$ van de kolom.		

➤ *Kruis je antwoorden aan op het antwoordblad in het vak 1.2.1.*

### Vraag 1.2.2

Schat de druk en dichtheid van het ijs op de volgende diepten uitgaande van **Figuur 1.2**.

Diepte $z$ [m]	Dichtheid $\rho$ [ $\text{kg m}^{-3}$ ]	Druk $p$ [kPa]
0		
80		
160		
1000		

➤ Geef je antwoorden op het antwoordblad in het vak 1.2.2.

Onze kleine boormachine kan ijskernen boren met een diameter van 74 mm en een lengte van 1 m vanuit diepten tot 350 m.

### Vraag 1.2.3

Bereken de massa van een geboorde ijskern op onderstaande diepten.

➤ Geef je antwoorden op het antwoordblad in het vak 1.2.3.

Diepte $z$ [m]	Massa $m$ [kg]
80	
160	

De grote boormachine kan ijskernen boren met een diameter van 98 mm en een lengte van 4 m op diepten tot aan de bodem van de ijskap.

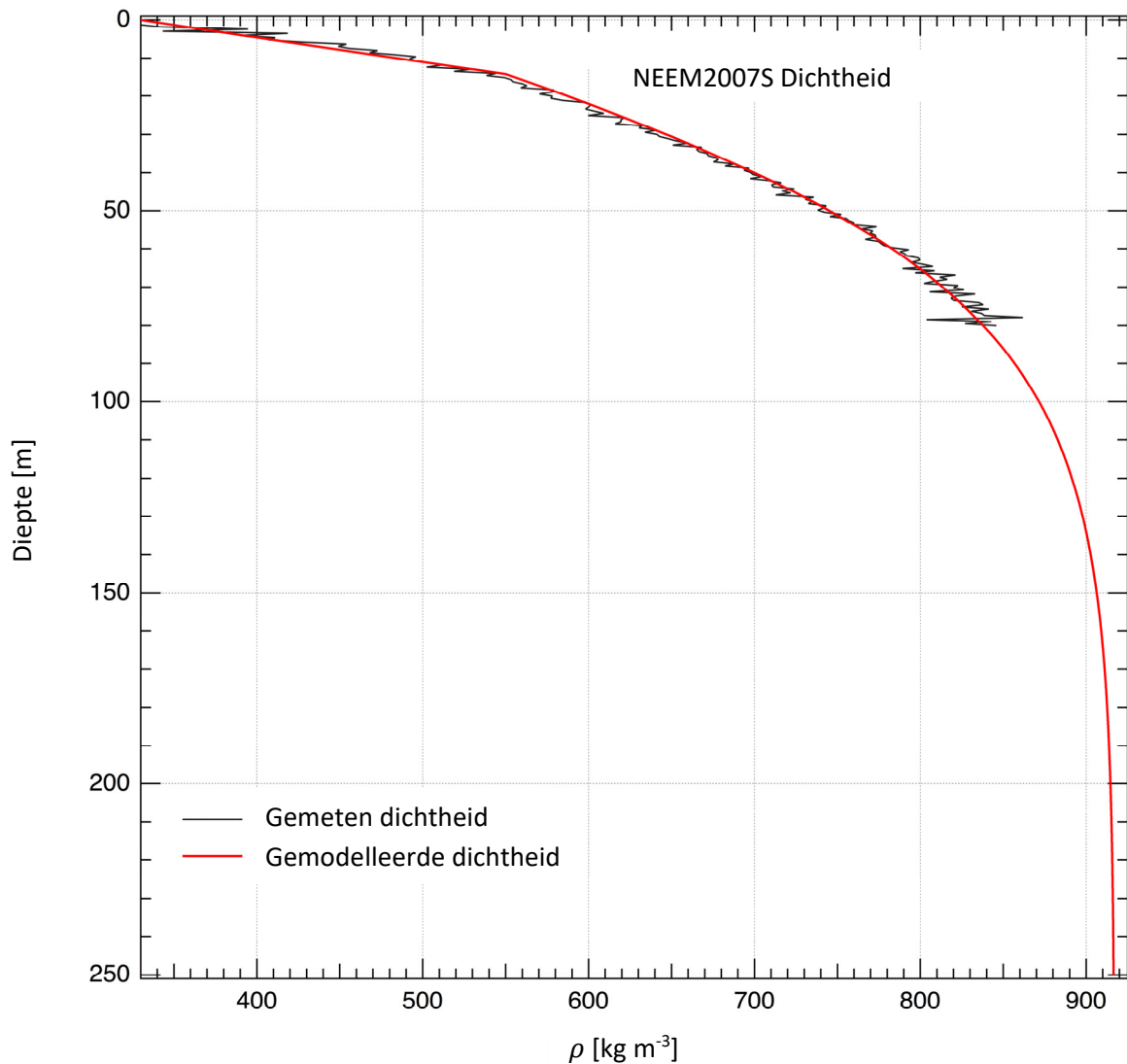
### Vraag 1.2.4

Bereken de massa van een ijskern geboord met de grote boormachine op onderstaande diepten.

➤ Geef je antwoorden op het antwoordblad in het vak 1.2.4.

Diepte $z$ [m]	Massa $m$ [kg]
1000	
2000	





Figuur 1.2. De dichtheid van inlands ijs van Groenland als functie van de diepte (let op de oriëntatie van de assen).

### 1.3 Dateren van ijs en isotopen

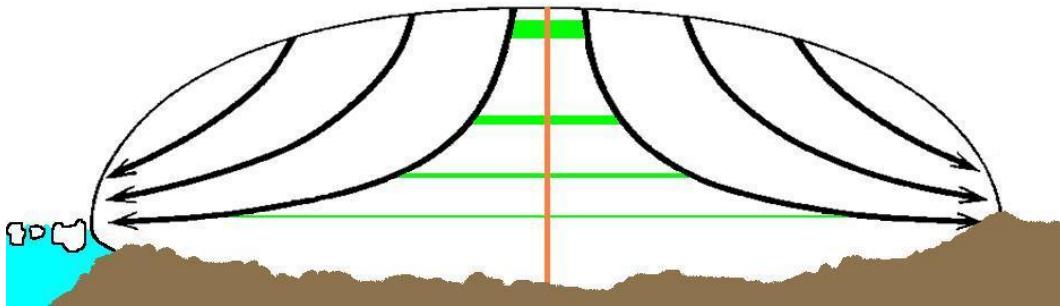
Voor het volgende deel van het experiment ga je werken met monsters van het diepere deel van de NEEM-ijskern. De NEEM-ijskern werd geboord in het noordoosten van Groenland tussen 2007 en 2012 en bevat ijs van de vorige warme periode tussen 2 ijsstijden.

Jullie krijgen twee flessen met monsters van echte ijskernen van verschillende diepten van de ijskap. Jullie moeten de ouderdom van beide monsters schatten, de temperatuur boven de ijskap berekenen en ten slotte monstersflesjes klaarmaken om isotoopanalyses op te doen met een laserspectrometer.

#### Het vloeien van ijs

Wij beschouwen ijs normaal gezien als een vaste stof. In realiteit is ijs een materiaal dat zich onder hoge druk kan gedragen als een vloeistof. Geen andere plaatsen in de wereld zijn een beter voorbeeld van dit gedrag dan de ijsskappen van Groenland en Antarctica. Elk jaar valt er een nieuwe

laag sneeuw op de ijskap. Nadat zo'n laag van 1 jaar een proces van verdichting heeft ondergaan, resulteert het gewicht van het overbelaste ijs in een continu uitrekken en dunner worden van de ijslagen. Zoals te zien is in **Figuur 1.3**, ondergaat een ijslaag met een initiële dikte van 20 cm (typisch voor het geval NEEM onder de huidige omstandigheden) een verdunningsproces dat als effect heeft dat op een diepte van 1000 m deze laag een dikte heeft van ongeveer 10 cm (50% van de initiële waarde).



**Figuur 1.3. Het vloeien van ijs**

Door heel precieze en hoge-resolutie meetwaarden van waterisotopen en chemische onzuiverheden te gebruiken, zijn we in staat de dikte van de eenjarige lagen in de ijskern te meten. In de volgende tabel kun je zien hoe groot de dikte van een éénjarige laag (**laten we deze dikte vanaf nu  $\lambda$  noemen en uitdrukken in meter per jaar**) ongeveer is, gebaseerd op echte meetresultaten verkregen van kernijs van NEEM.

**Vraag 1.3.1.**

Baseer je op de data van **Tabel 1** om een grafiek te maken van  $\lambda$  als functie van de diepte  $z$  op het millimeterpapier dat jullie kregen. Noem de grafiek "Graph 1.3.1" en bevestig hem aan het antwoordblad.

➤ *Bevestig "Graph 1.3.1" aan het antwoordblad.*

**Tabel 1**

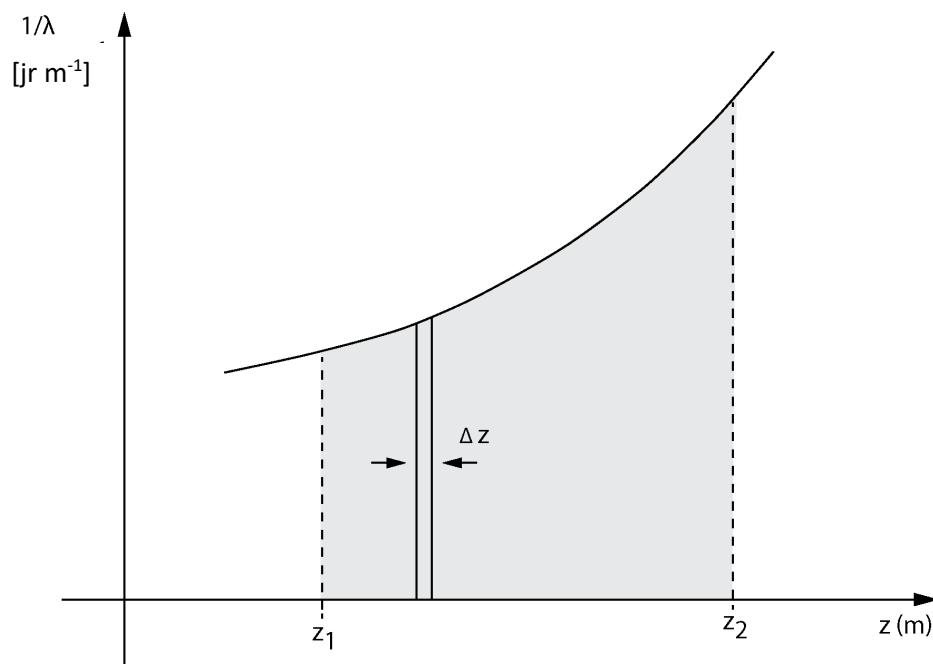
Diepte $z$ [m]	Dikte van een éénjarige laag $\lambda$ [m/jr]
0	0,25
500	0,20
1200	0,10
1400	0,04
1500	0,0125

## Ouderdom van het ijs

De grootheid  $\lambda$  is heel interessant zolang ze gebruikt kan worden om de ouderdom van een ijslaag te berekenen. Als  $\lambda$  als functie van de diepte bekend is en we een dunne laag met dikte  $\Delta z$  beschouwen, wordt de ouderdom van deze laag in aantal jaar gegeven door de vergelijking:

$$\Delta t = \frac{1}{\lambda} \cdot \Delta z$$

Voor een dikkere laag, bijvoorbeeld tussen de diepten  $z_1$  en  $z_2$  wordt het aantal jaar  $t_2 - t_1$  gegeven door de oppervlakte onder de  $1/\lambda$ -kromme zoals getoond in **Figuur 1.4**.



Figuur 1.4

### Vraag 1.3.2

Gebruik **Tabel 1** om de grootheid  $1/\lambda$  te berekenen voor de diepten 0, 500, 1200, 1400 en 1500 m. Zet de grootheid  $1/\lambda$  uit als functie van  $z$ . Verbind de punten met rechte lijnen om latere berekeningen te vergemakkelijken. Noem de grafiek "Graph 1.3.2" en bevestig hem aan het antwoordblad.

➤ Bevestig "Graph 1.3.2" aan het antwoordblad.

### Vraag 1.3.3

De grafiek die jullie gemaakt hebben in 1.3.2 kan gebruikt worden om de ouderdom van het ijs te berekenen op de gegeven diepten. Bereken de ouderdom van het ijs voor  $z = 0, 500, 1200, 1400$  en  $1500$  m (onder de term ouderdom verstaan we het totaal aantal jaar van de oppervlakte tot de bewuste diepte). Maak een nieuwe grafiek ("Graph 1.3.3") waarop je de ouderdom  $t$  als functie van de diepte  $z$  weergeeft.

➤ Bevestig "Grafiek 1.3.3" aan het antwoordblad

## Verhoudingen van waterisotopen in polair ijs

Chemische elementen met hetzelfde aantal protonen maar een verschillend aantal neutronen worden isotopen genoemd. Het watermolecuul  $\text{H}_2\text{O}$  komt in de natuur voor in verschillende varianten die verschillende isotopen bevatten. Het meest voorkomende watermolecuul bevat alleen  $^1\text{H}$  en  $^{16}\text{O}$  (waarbij de superscripts 1 en 16 het aantal kerndeeltjes weergeven), terwijl de tweede meest voorkomende varianten  $^1\text{H}^{16}\text{O}^2\text{H}$  en  $^1\text{H}_2^{18}\text{O}$  zijn.

Deze moleculaire varianten worden isotopologen genoemd. Isotopologen gedragen zich chemisch op dezelfde manier, maar door hun verschil in massa gedragen ze zich fysisch op een andere manier zoals bij verdamping en diffusie. Het is bewezen dat kleine variaties in de isotoopsamenstelling van de watermoleculen in de sneeuw die in Groenland valt, verband houden met de temperatuursveranderingen op de ijskap. Met andere woorden, als we de isotoopsamenstelling van het water van het kernijs kunnen meten van de oppervlakte tot de bodem, dan krijgen we een idee van de temperatuursgeschiedenis van Groenland van heden tot tienduizenden jaren in het verleden.

In de isotoopgeochemie wordt de isotoopsamenstelling van water uitgedrukt aan de hand van internationaal standaardwater dat Vienna Standard Mean Ocean Water (VSMOW) genoemd wordt en het symbool dat internationaal gebruikt wordt is  $\delta$  ( $\delta^{18}\text{O}$  geeft verschillen in het aantal zuurstof-18 isotopen weer en  $\delta^2\text{H}$  verschillen in het aantal waterstof-2 isotopen). Als algemene regel kunnen we stellen: hoe negatiever de waarde van  $\delta^{18}\text{O}$  in het ijs van Groenland, hoe kouder het klimaat op het ogenblik dat dit stuk ijs afgezet werd als sneeuw op de ijskap van Groenland. Doordat de grootte  $\delta$  een relatieve grootte is, heeft  $\delta$  geen eenheid en wordt ze typisch uitgedrukt in promille.

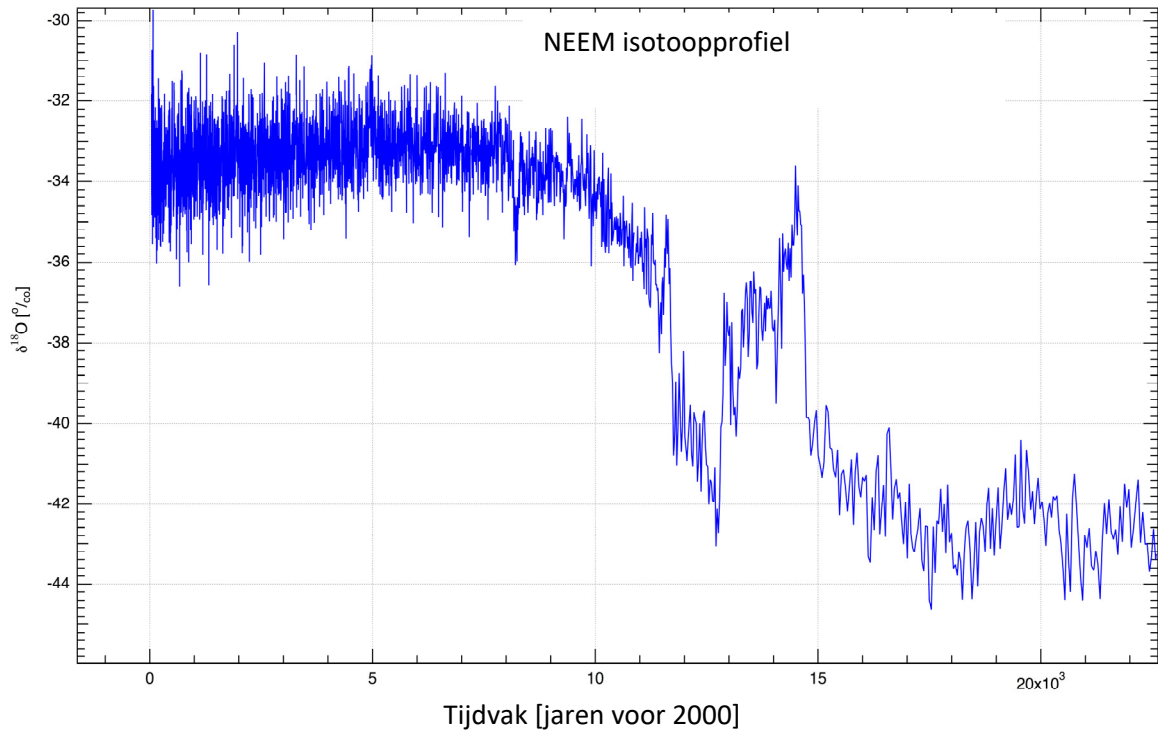
Jullie krijgen twee plastic flessen met ijskernen in vloeibare vorm. De ijskernen komen van twee verschillende diepten, genoteerd op elke fles. Samen met de flessen krijgen jullie een diagram dat het isotoprofiel van het water van het NEEM-ijskern weergeeft (**Figuur 1.5**) zowel als het verband tussen diepte en ouderdom voor de bovenste 1700 m van de NEEM-ijskern (**Figuur 1.6**).

### Vraag 1.3.4

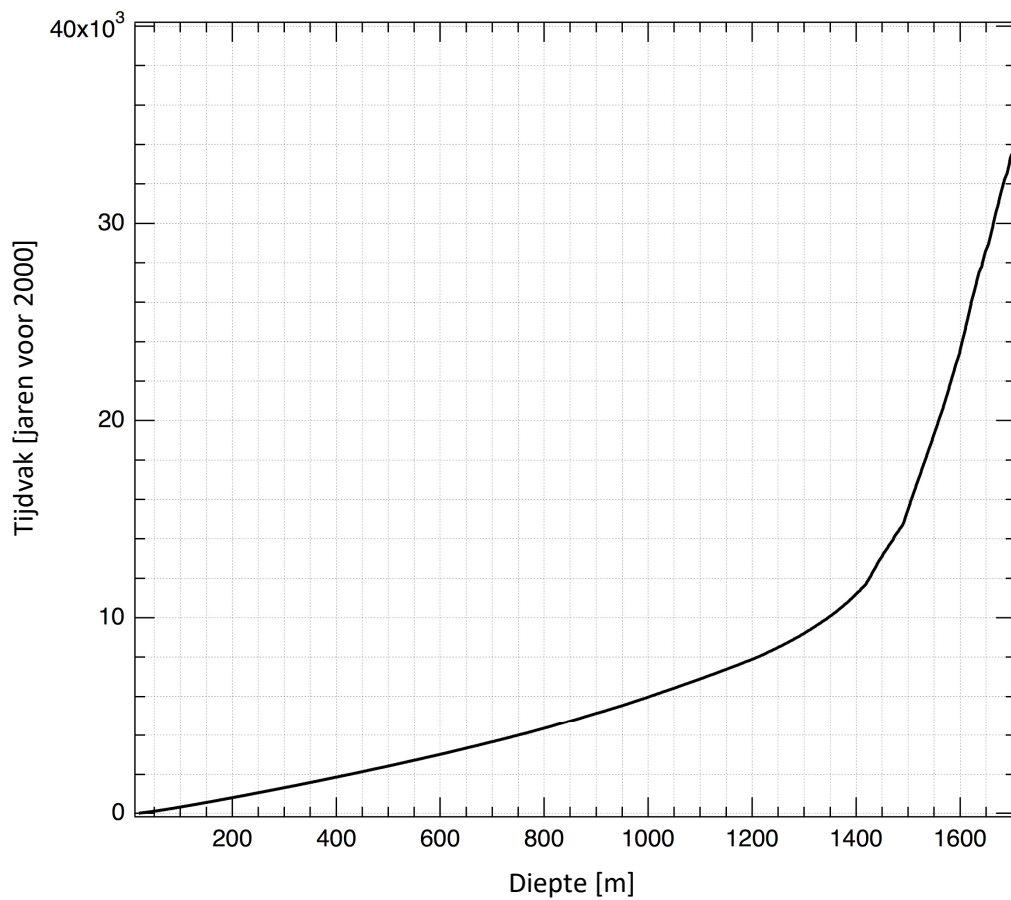
Maak een schatting van de ouderdom van beide monsters en geef deze duidelijk aan als verticale lijnen in **Figuur 1.5** en **Figuur 1.6**. Maak vervolgens, voor elk van beide monsters, een goede schatting van het  $\delta^{18}\text{O}$ -gehalte dat je verwacht op basis van het diagram met de isotoopsamenstelling dat jullie kregen.

Welk van beide monsters is volgens jou afkomstig van een periode waarin het klimaat significant kouder was dan nu?

➤ *Geef je antwoord op het antwoordblad in het vak 1.3.4.*



Figuur 1.5.  $\delta^{18}\text{O}$  als functie van de ouderdom (in jaren vóór het jaar 2000) op de NEEM boorlocatie.



Figuur 1.6. Het diepte-ouderdom verband voor de bovenste 1700 m van de NEEM ijskern.

### Vraag 1.3.5

Twee verschillende versies van een temperatuur- $\delta^{18}\text{O}$ -verband worden gegeven door de vergelijkingen hieronder ( $T$  in  $^{\circ}\text{C}$  en  $\delta^{18}\text{O}$  in promille). De eerste is lineair en de tweede kwadratisch. Gebruik beide vergelijkingen om de temperatuur boven de ijskap te berekenen op het ogenblik van afzetting voor de twee monsters die jullie kregen. Wat is het verschil in temperatuur tussen beide monsters?

$$T = 1,5 \cdot \delta^{18}\text{O} + 20,45$$

$$T = -0,1 \cdot (\delta^{18}\text{O})^2 - 4,46 \cdot \delta^{18}\text{O} - 72,43$$

➤ Geef je antwoord op het antwoordblad in vak 1.3.5

### Bereiding van monsters

Jullie gaan nu over tot het overbrengen van de ijskernmonsters naar glazen monsterflesjes. Hiervoor hebben jullie twee pipetten gekregen. Jullie moeten ongeveer 1,5 mL water overbrengen van de grote flessen naar de monsterflesjes. Bereiding van een monster is een belangrijke stap in het meetproces van isotoopverhoudingen. Als dat niet correct gebeurt, kan dat leiden tot meetfouten.

#### Houd de volgende punten in gedachten terwijl jullie aan het werk zijn:

- Verdamping van het monster kan de isotoopsamenstelling veranderen.
- Mengten van een andere soort water met het monster veroorzaakt isotoopbesmetting.

### Vraag 1.3.6

Begin nu met het overbrengen van de monsters. Etiketteer de monsterflesjes zorgvuldig en plaats ze in de houder die jullie kregen. Jullie monsters zullen komende nacht geanalyseerd worden met een Cavity Ring Down Laser Spectrometer om de kwaliteit van jullie monsterbereiding te beoordelen.

➤ Vraag een zaalassistent om jullie monsters op te halen en te checken.

### Vraag 1.3.7

Beoordeel de volgende vier stellingen als waar of onwaar.

Stelling	Waar	Onwaar
De tijdsduur van blootstelling van het monster aan de lucht in het lab kan de kwaliteit van de meting beïnvloeden.		
Slechts één pipet mag gebruikt worden bij het overbrengen van de beide monsters.		
De monsters zo koud mogelijk houden helpt bij het constant houden van de isotoopverhouding.		
De exacte hoeveelheid water overgebracht in de monsterflesjes is bepalend voor de kwaliteit van de isotoopanalyse.		

➤ Geef jullie antwoorden aan op het antwoordblad in vak 1.3.7.

## Koper- en zinkgehalte in een ijskern

De Lakivulkaan in IJsland barstte uit op 8 juni 1783; de uitbarsting duurde tot februari 1784. De grote hoeveelheid gassen en as die uitgestoten werden in de atmosfeer beïnvloedden het klimaat in Europa. Chemische analyses van ijskernen die verkregen zijn door boringen in Groenland, geven waardevolle informatie over dit soort gebeurtenissen. Het ijs is gevormd uit de samengeperste sneeuw die jaarlijks gevallen is. Elke 'jaarlaag' kan informatie geven over de temperatuur en samenstelling van de atmosfeer en dus ook over de aanwezigheid van vulkanische as in het jaar van de sneeuwval. Eerder onderzoek heeft aangetoond dat vulkanische as verhoogde gehalten aan metalen bevat.

In dit experiment ga je de koper- en zinkgehalten onderzoeken van een jaarlaag van een ijskern. Door je resultaten te vergelijken met de resultaten van andere boringen, kun je aantonen of de koper- en zinkgehalten samenhangen met de uitbarsting van Laki.

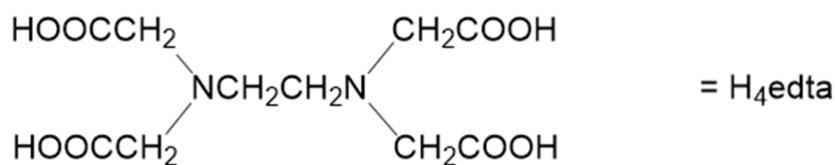
## Apparatuur en materialen

<ul style="list-style-type: none"> <li>• een trechter</li> <li>• een buret van 25 mL</li> <li>• een erlenmeyer van 100 mL</li> <li>• drie bekgelazen van 250 mL</li> <li>• drie maatcilinders van 10 mL</li> <li>• pipetten van 5, 10 (3×), 15, 20 (2×) en 25 (2×) mL</li> <li>• een pipetteerballon</li> <li>• zes maatkolven van 100 mL</li> <li>• een maatkolf van 50 mL</li> <li>• tien plastic cuvetten, 10 mm</li> <li>• een reageerbuis van 20 mL</li> <li>• tien plastic pipetten van 1 mL</li> <li>• 50 mL 0,20 M <math>\text{CH}_3\text{COOH}</math>/1,7 M <math>\text{NaCH}_3\text{CO}_2</math> bufferoplossing</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 10 mL 0,50 % xylenoloranje indicatoroplossing</li> <li>• 50 mL 0,20 M <math>\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3</math> oplossing</li> <li>• 250 mL 1,3 M <math>\text{NH}_4\text{Cl}</math>/7,0 M <math>\text{NH}_3</math> bufferoplossing, pH=10</li> <li>• 100 mL 0,0360 M <math>\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2</math> oplossing</li> <li>• 250 mL 0,0170 M EDTA-oplossing</li> <li>• 150 mL monsteroplossing gelabeld <b>(Cu/Zn)</b></li> <li>• een Vernier SpectroVis Plus-spectrofotometer</li> <li>• een computer</li> <li>• een plastic spuitfles met gedemineraliseerd water</li> <li>• een afvalcontainer gelabeld "X"</li> <li>• grafiekpapier</li> </ul>
---	--

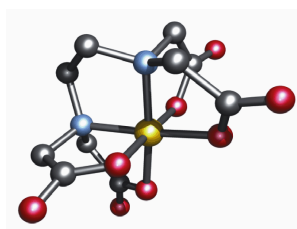
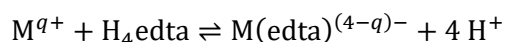
De monsteroplossing is gemaakt door 180,6 g van de ijskern te smelten en de ontstane vloeistof kwantitatief over te brengen in een maatkolf van 2000 mL. De maatkolf is vervolgens aangevuld met water tot de maatstreep. De oplossing die je gekregen hebt, gelabeld **(Cu/Zn)**, is  $10^9$  keer geconcentreerder dan de oorspronkelijke oplossing.

In dit experiment ga je de gehalten van  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Zn}^{2+}$  in de monsteroplossing gelabeld **(Cu/Zn)** bepalen. Het gehalte van  $\text{Zn}^{2+}$  ga je bepalen door middel van een EDTA-titratie en het gehalte van  $\text{Cu}^{2+}$  door middel van spectrofotometrie. Hiermee kun je dan de gehalten van  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Zn}^{2+}$  in de ijskern bepalen.

## A. EDTA (EthyleenDiamineTetra-Azijnzuur)-titratie



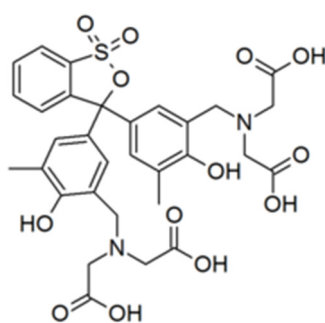
H<sub>4</sub>edta, vaak afgekort als EDTA, vormt zeer stabiele complexen met metaalionen M<sup>q+</sup> onder afgifte van H<sup>+</sup> ionen:



M(edta)<sup>(4-q)-</sup>

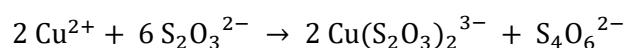
Door deze eigenschap kan EDTA in een niet al te zure oplossing gebruikt worden om metaalionen te titreren. Dit heet een complexometrische titratie.

Het equivalentiepunt van de titratie kan worden gedetecteerd met behulp van een metaalionindicator, in dit geval xylenoloranje. De indicator is vóór het equivalentiepunt gebonden aan het metaalion. Het metaal-indicatorcomplex heeft een bepaalde kleur (rood, in dit geval). Na het equivalentiepunt is de indicator vrijgekomen en de kleur van de indicator zelf, bij de gegeven pH, is zichtbaar (geel, in dit geval). Je gebruikt een oplossing van Na<sub>2</sub>H<sub>2</sub>edta · 2H<sub>2</sub>O (van nu af aan de EDTA-oplossing genoemd) om mee te titreren.



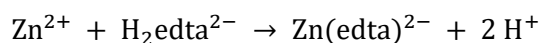
Xylenoloranje

In de EDTA-titratie die je gaat uitvoeren wordt Cu<sup>2+</sup> “gemaskeerd” door het te laten reageren met een overmaat thiosulfaat S<sub>2</sub>O<sub>3</sub><sup>2-</sup>:





Het resulterende complex  $\text{Cu}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$  reageert niet met  $\text{H}_2\text{edta}^{2-}$ . Maar  $\text{Zn}^{2+}$ , daarentegen, reageert niet met thiosulfaat en juist wel met  $\text{H}_2\text{edta}^{2-}$ . Daardoor bepaal je met de EDTA-titratie dus alleen het gehalte  $\text{Zn}^{2+}$ :



De buret die klaarstaat is gevuld met gedemineraliseerd water. Je moet de buret eerst leegmaken en dan spoelen en vullen met de 0,0170 M EDTA-oplossing. Met een pipet moet je 10,00 mL van de monsteroplossing gelabeld (**Cu/Zn**) overbrengen in de erlenmeyer van 100 mL. Dan moet je 5 mL ethaanzuur/ethanoaatbufferoplossing (0,20 M  $\text{CH}_3\text{COOH}$  / 1,7 M  $\text{NaCH}_3\text{CO}_2$ ) en 5 mL 0,20 M  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  oplossing toevoegen. Voeg aan het kleurloze mengsel zes druppels 0,5 % xylenoloranje-oplossing toe en titreer de oplossing met de EDTA-oplossing totdat de kleur van de oplossing omslaat van rood naar citroengeel.

### Vraag 2.1

- *Schrijf het toegevoegde volume EDTA-oplossing  $V_1$  op op het antwoordblad in vak 2.1.*

Het mengsel dat overblijft na de titratie moet je in de afvalcontainer (gelabeld X) gieten. Herhaal de titratie nog twee keer en schrijf ook de nieuwe waarden van  $V_1$  op op het antwoordblad in vak 2.1.

- *Bereken de gemiddelde waarde  $V_{1,\text{gem}}$  en schrijf het resultaat op op het antwoordblad in vak 2.1.*

### Vraag 2.2

Bereken  $[\text{Zn}^{2+}]$  van de monsteroplossing gelabeld (**Cu/Zn**), uitgaande van de waarde van  $V_{1,\text{gem}}$ .

- *Schrijf je berekening en het antwoord op op het antwoordblad in vak 2.2.*

### Vraag 2.3

Waarom reageert  $\text{Cu}(\text{S}_2\text{O}_3)_2^{3-}$  niet met  $\text{H}_2\text{edta}^{2-}$ ?

- *Kruis de correcte antwoorden aan op het antwoordblad in vak 2.3.*

### Vraag 2.4

Ethaanzuur,  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , is een zwak zuur met een zuurconstante  $K_z = 1,78 \cdot 10^{-5}$  M. Je kunt  $K_z$  uitdrukken als:

$$K_z = \frac{[\text{H}_3\text{O}^+] \cdot [\text{CH}_3\text{CO}_2^-]}{[\text{CH}_3\text{COOH}]}$$

- *Leid uit deze vergelijking de vergelijking voor  $[\text{H}_3\text{O}^+]$  af en schrijf deze op op het antwoordblad in vak 2.4.*

Bereken  $[\text{H}_3\text{O}^+]$  in de ethaanzuur/ethanoaatbufferoplossing.

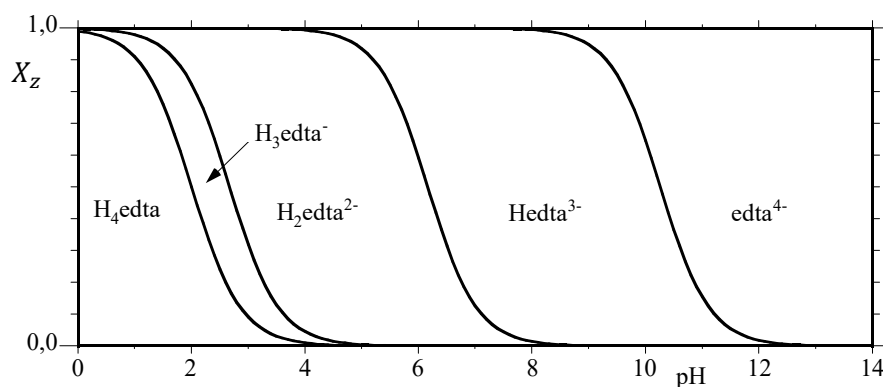
- *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 2.4.*

Bereken de pH van de bufferoplossing.

➤ *Schrijf de berekening en het antwoord op op het antwoordblad in vak 2.4.*

Voor een oplossing van een zuurbasepaar (een zuur en zijn geconjugeerde base) geeft de molfractie,  $X_z$ , weer welke fractie van het paar aanwezig is in de zure vorm. De molfractie  $X_z$  hangt af van de pH van de oplossing. Dit verband tussen de pH en  $X_z$  voor een zuurbasepaar kan grafisch weergegeven worden in een zogenaamde *Bjerrumplot*.

$H_4\text{edta}$  is een vierwaardig zwak zuur met  $pK_z$ -waarden  $pK_{z1} = 1,99$ ;  $pK_{z2} = 2,67$ ;  $pK_{z3} = 6,16$  en  $pK_{z4} = 10,22$ . Met behulp van deze waarden kan de Bjerrumplot voor het EDTA-systeem worden geconstrueerd:



Bjerrumplot voor het EDTA-systeem

### Vraag 2.5

Gebruik de bovenstaande Bjerrumplot om te **schatten** of een oplossing van  $\text{Na}_2\text{H}_2\text{edta} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  in water zuur, basisch of neutraal is. Onderbouw je antwoord met een markering op de pH-as van de Bjerrumplot op het antwoordblad.

➤ *Geef het antwoord op het antwoordblad in vak 2.5.*

## B. Spectrofotometrie

Gekleurde stoffen absorberen licht in het zichtbare gedeelte van het elektromagnetisch spectrum ( $\lambda = 400 - 700 \text{ nm}$ ). De extinctie ( $A$ ) van een oplossing van stof  $S$  in een cuvet hangt af van de weglengte ( $l$ ), de concentratie van  $S$  ( $[S]$ ) en de golflengte-afhankelijke molaire extinctiecoëfficiënt ( $\epsilon$ ) van  $S$  op de volgende manier:

$$A = \epsilon \cdot [S] \cdot l$$

Deze vergelijking heet de Wet van Lambert-Beer.

De metaalionen  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Zn}^{2+}$  reageren kwantitatief met ammonia in water onder vorming van de verbindingen  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$  en  $\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ :



Bij een bepaalde golflengte is de extinctie van een oplossing van deze verbindingen gelijk aan de som van de bijdragen van alle verbindingen in de oplossing:

$$A = A_{\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}} + A_{\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}}$$

Dit kan worden omgewerkt tot:

$$A = \varepsilon_{\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}} \cdot [\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}] \cdot l + \varepsilon_{\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}} \cdot [\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}] \cdot l$$

In het hele zichtbare deel van het spectrum is  $\varepsilon_{\text{Zn}(\text{NH}_3)_4^{2+}} = 0 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , dus de extinctie van een oplossing van  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  en een overmaat  $\text{NH}_3$  is:

$$A = \varepsilon_{\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}} \cdot [\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}] \cdot l$$

Je gaat de extinctie meten met een Vernier SpectroVis Plus Spectrofotometer die is aangesloten op een computer en met behulp van cuvetten met een weglengte van  $l = 1,00 \text{ cm}$ . Een ammonium/ammoniabufferoplossing (1,3 M  $\text{NH}_4\text{Cl}$  / 7 M  $\text{NH}_3$ , pH = 10) levert de ammonia en een 0,0360 M oplossing van koper(II)perchloraat,  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$ , levert de  $\text{Cu}^{2+}$ .

**LET OP! Wees voorzichtig met de ammonium/ammoniabufferoplossing. Deze is behoorlijk basisch en kan brandwonden veroorzaken! Ook moet je de ammoniadampen niet inademen.**

Je moet zes oplossingen (1-6) met bekende concentraties  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$  maken door respectievelijk 0; 5,00; 10,00; 15,00; 20,00 en 25,00 mL van de 0,0360 M  $\text{Cu}(\text{ClO}_4)_2$  oplossing te pipetteren in de zes verschillende maatkolven van 100 mL. Aan elke maatkolf moet je vervolgens 20,00 mL van de ammonium/ammoniabufferoplossing toevoegen. Vul ten slotte de maatkolven aan met gedemineraliseerd water tot de maatstreep en meng de inhoud grondig.

### Vraag 2.6

Bereken van elk van de oplossingen 2-6 de concentratie  $\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ .

➤ *Schrijf de antwoorden op op het antwoordblad in vak 2.6.*

Gebruik oplossing 1 als blanco en meet de extinctie van oplossingen 2-6 bij  $\lambda = 618 \text{ nm}$  ( $A_{618}$ ). In Appendix C staat uitgelegd hoe je de spectrofotometer moet gebruiken.

➤ *Schrijf de antwoorden op op het antwoordblad in vak 2.6.*

Gebruik een pipet om 25,00 mL van de monsteroplossing gelabeld (**Cu/Zn**) over te brengen in een maatkolf van 50 mL. Voeg dan met behulp van een pipet 10,00 mL

ammonium/ammoniabufferoplossing toe. Vul de maatkolf aan met gedemineraliseerd water tot de maatstreep en meng de inhoud grondig. Label deze oplossing met nummer **7**.

### Vraag 2.7

**Meet** de extinctie  $A_{618}$  van oplossing **7** bij  $\lambda = 618$  nm.

- *Schrijf het antwoord op op het antwoordblad in vak 2.7.*

Zet de waarden van  $A_{618}$  voor oplossingen **2-6** uit tegen  $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}]$  op het grafiekpapier. Label de grafiek met de tekst "Graph 2.7"). Trek de best passende rechte lijn door de punten en bereken vervolgens de helling en de y-asafsnode.

- *Voeg de grafiek gelabeld "Graph 2.7" toe aan het antwoordblad.*

### Vraag 2.8

**Bepaal** de helling en de y-asafsnode.

- *Geef op het grafiekpapier zien welke waarden je gebruikt voor de berekening en schrijf die berekening en het antwoord op op het antwoordblad in vak 2.8.*

### Vraag 2.9

Bereken de molaire extinctiecoëfficiënt,  $\epsilon_{\text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}}$  bij  $\lambda = 618$  nm.

- *Schrijf de berekening en het resultaat op op het antwoordblad in vak 2.9.*

### Vraag 2.10

Gebruik de waarde van  $A_{618}$  die je gemeten hebt voor oplossing **7** om  $[\text{Cu}^{2+}]$  in de monsteroplossing (**Cu/Zn**) te berekenen.

- *Schrijf de berekening en het resultaat op op het antwoordblad in vak 2.10.*

Gebruik een maatcilinder om 10 mL van de monsteroplossing (**Cu/Zn**) over te brengen in de reageerbuis. Voeg druppelsgewijs ammonium/ammoniabufferoplossing toe. Als je een paar druppels hebt toegevoegd ontstaat een neerslag. Voeg meer bufferoplossing toe totdat de neerslag volledig is opgelost.

### Vraag 2.11

Geef met een chemische formule aan welke stof de neerslag zou kunnen zijn.

- *Schrijf het antwoord op het antwoordblad in vak 2.11.*
- *Schrijf op het het antwoordblad in vak 2.11 een set kloppende reactievergelijkingen op voor de vorming van de neerslag.*

## C. De ijskern

### Vraag 2.12

Bereken de gehalten van  $\text{Cu}^{2+}$  en  $\text{Zn}^{2+}$  in de ijskern in pg/g ( $1 \text{ pg} = 10^{-12} \text{ g}$ ).  
Molaire massa's: Cu: 63,54 g/mol; Zn: 65,38 g/mol.

➤ *Schrijf de berekeningen en de antwoorden op op het antwoordblad in vak 2.12.*

In een andere boring in Groenland zijn acht ijskernen verkregen van dieptes tussen de 67,155 m en 67,785 m met daarin jaarlagen van de tijdsperiode 1782 t/m 1785. Ook deze zijn geanalyseerd op hun gehalten koper en zink en hieruit zijn de volgende resultaten verkregen:

Diepte (m)	monsternummer	Cu (pg/g)	Zn (pg/g)
67,155 – 67,230	1	0,46	35
67,230 – 67,305	2	1,6	26
67,315 – 67,400	3	2,9	42
67,740 – 67,485	4	6,4	35
67,485 – 67,555	5	2,0	11
67,555 – 67,625	6	20,5	490
67,645 – 67,745	7	3,2	21
67,745 – 67,785	8	1,2	24

De conclusie was dat de relatief hoge gehalten van koper en zink in monster nummer 6 veroorzaakt zouden kunnen zijn door de uitbarsting van Laki. Vergelijk jouw resultaten met de bovenstaande om te bepalen of de gehalten van koper en zink in jouw ijskern ook aan de uitbarsting van Laki kunnen worden gerelateerd.

➤ *Kruis het correcte antwoord aan op het antwoordblad in vak 2.13.*

### Leven van metazoa in extreme omstandigheden

Over de hele aarde bestaan veel verschillende typen extreme en gure habitats (plaatsen waar organismen leven). In dergelijke habitats worden de levende organismen uitgedaagd door extreme fysisch-chemische factoren, zoals temperatuur, beschikbaarheid van water, zoutgehalte, pH en zuurstofspanning. Om deze vijandige omgevingen aan te kunnen, vereisen deze organismen speciale aanpassingen en alleen de meest weerbare overleven. Organismen die op de Noordpool leven zijn, dat zal je niet verbazen, aangepast aan zeer lage temperaturen. Holtes in het ijs (ontstaan door het smelten van stof in het ijs) bieden een niche voor bepaalde algen, bacteriën en metazoa. In dit experiment krijg je een monster dat een nabootsing is van het materiaal gevonden in een ijsholte.



Figuur 3.1. Ijsholte.

### Materialen

- Petrischaal met het sedimentmonster
- Stereomicroscop
- Ontleednaald (dissectienaald)
- Identificatietabel ([Appendix A1](#))
- Afbeeldingentabel ([Appendix A2](#))

### Vind en identificeer metazoa-levensvormen

#### Vraag 3.1

Vind en identificeer actieve en bewegende microscopische metazoa-levensvormen (tot 1 mm lang) in het sedimentmonster. Gebruik bij de identificatie de stereomicroscop en de identificatietabel ([Appendix A1](#))

➤ *Vul de antwoorden in op je antwoordblad*

### Let op:

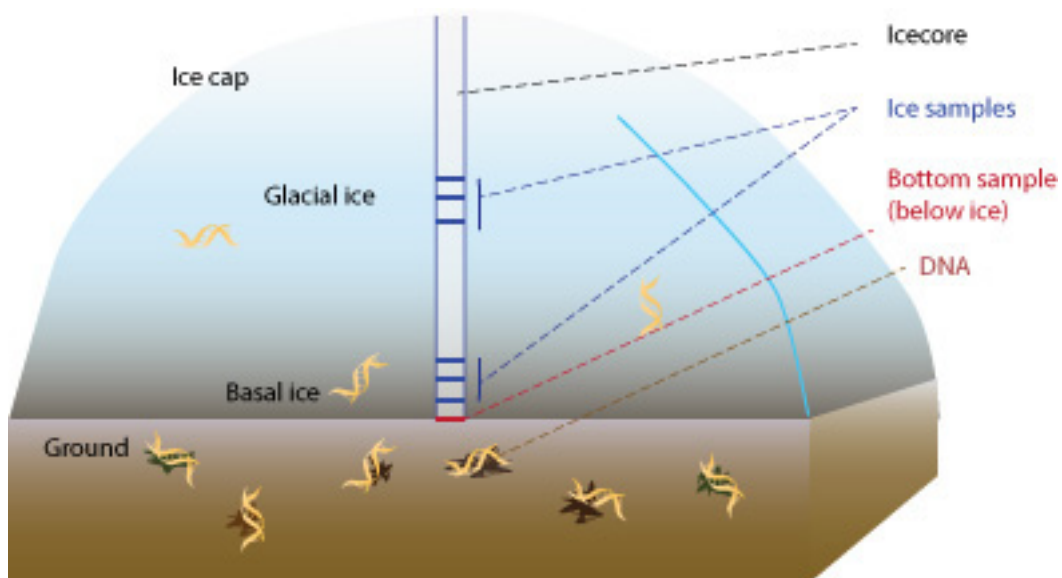
1. Op de uitgereikte bijlage ([Appendix A2](#)) zijn afbeeldingen te zien van dieren die in het monster aanwezig zijn, maar ook van dieren die NIET microscopisch zijn en/of NIET in het sedimentmonster aanwezig zijn. De nummers aangegeven met een asterisk (\*) in de identificatietabel ([Appendix A1](#)) verwijzen naar een specifieke afbeelding in [Appendix A2](#).
2. Hieronder zie je de "Terminologie". Kijk daarnaar voor je de antwoorden invult.
3. Als je de antwoorden correct invult op je antwoordblad, d.w.z. met exact die microscopische metazoa die echt aanwezig zijn in het monster, levert je dat alle punten op.

## Terminologie

<b>Metazoa</b>	(Enkelvoud metazoön): een dier dat uit meer cellen bestaat, met cellen die gedifferentieerd zijn in weefsels.
<b>Radiale symmetrie</b>	Het dier heeft een centrale as waarlangs het verdeeld kan worden in een aantal spiegelbeelden. Het dier heeft geen linker- en rechterkant.
<b>Aanhangsels</b>	Uitwendige uitstulpingen uit het lichaam van het dier, zoals poten en antennes.
<b>Cilium (meervoud cilia)</b>	Dun uitsteekseltje, lijkt op een haar. Steekt uit de oppervlakte van een cel. Cilia kunnen beweeglijk of onbeweeglijk zijn.
<b>Stekels</b>	Stekelige aanhangsels die zorgen dat het dier kan bewegen en/of chemische stoffen en mechanische krachten kan waarnemen.
<b>Geleed</b>	Uit leden bestaand. De leden zijn beweeglijk met elkaar verbonden.

## Oude Groenlandse habitats

Diep onder de ijskap helemaal onderaan op de bodem, vind je overblijfselen van leven dat bestond voor het ijs het land bedekte. Er zijn monsters genomen 2 000 tot 3 000 m diep in het ijs, op een plek met de naam Dye-3. In het ijs bij de bodem (basaal ijs) zitten bodemdeeltjes die door het bewegen van ijs omhooggeduwd zijn. Daarin zit heel wat oud genetisch materiaal. Door in de geboorde ijskern naar dit genetisch materiaal in het ijs dicht bij de bodem te kijken, kunnen we inzicht krijgen in het klimaat uit het verre verleden en in de diversiteit van de planten die er was voor het ijs Groenland bedekte. Uit de ijskern is oud bodem-DNA geëxtraheerd.



Figuur 4.1. Een ijskern boren uit de ijskap

*Icecore = ijskern Sample= monster*

In dit experiment ga je DNA analyseren uit zulke monsters en vaststellen welke type habitat in Groenland bestond voordat de ijskap gevormd werd. Je gaat op zoek naar de aanwezigheid van indicatorplanten, die aanwezig zijn in bepaalde klimaatniches en die specifieke temperatuereisen hebben om te kunnen overleven en te groeien. De verschillende groeivoorwaarden die vereist zijn voor de specifieke plantenfamilies zijn voor ons een aanwijzing voor de temperatuurbereiken van hun habitat, voor de lengte van zomer- en winterperiode en voor bijv. het bestaan van een bos. Uit dit soort informatie kun je afleiden welk type habitat er volgens jou in Groenland was voor de grote ijskap er kwam.

Het DNA dat we willen onderzoeken wordt vermeerderd door het uitvoeren van een PCR (Polymerase Chain Reaction). Jij gaat het oude omgevings-DNA analyseren door middel van gelelektroforese en je gaat je resultaten vergelijken met DNA-bibliotheken van huidige planten.



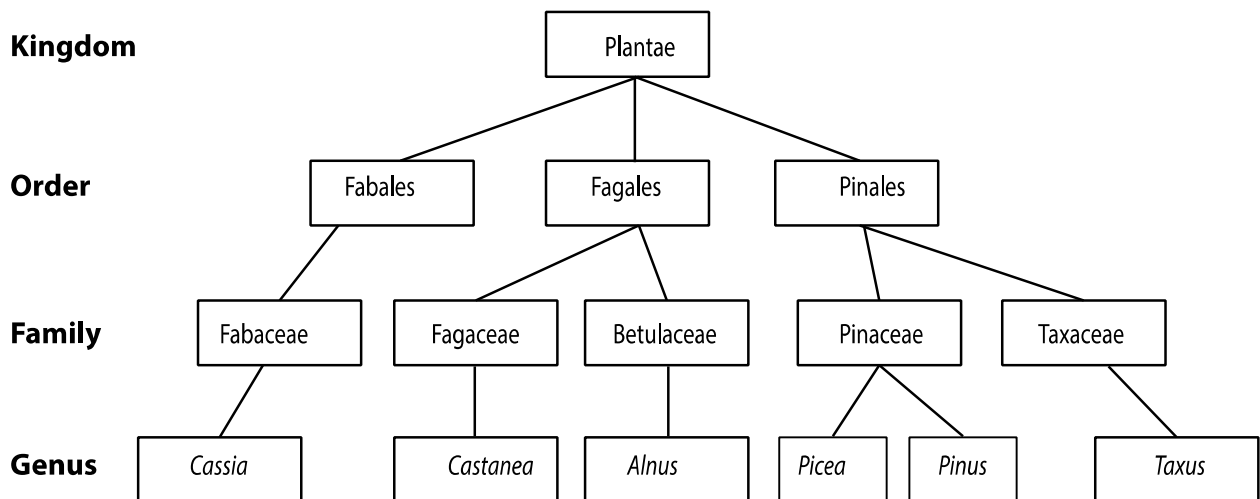
Om de aanwezigheid van een specifieke plantenfamilie na te gaan zijn primers<sup>1</sup> ontwikkeld om een specifieke plaats in het genoom voor elke indicatorfamilie die van belang is aan te geven. Als er een indicatorfamilie aanwezig is in je monster, dan zie je een band op je gel.

## Materialen

- 1 gel cassette
- 1 FlashGel® apparaat met kabels en stroomvoorziening
- 1 stroombron
- 1 fles buffer, met opschrift "Buffer 4"
- 1 micropipet van 2-20 µL
- micropipettips
- PCR-buisjes met DNA-monsters en primers voor indicator**families** (voor Experiment 4A)
- PCR-buisjes met DNA-monsters en primers voor indicator**genera** (voor Experiment 4B)
- pluisvrije doekjes
- afvalbak
- appendix B

## Taxonomieboom

Je gaat op zoek naar specifieke plantenfamilies en plantengenera in je monster. Deze families en genera worden gebruikt als klimaatindicators, omdat ze alleen kunnen groeien als het klimaat overeenkomt met wat ze nodig hebben. Bij het analyseren van je resultaten, heb je [Appendix B](#) nodig en [figuur 4.2](#) en [figuur 4.3](#).



**Figuur 4.2. Taxonomieboom met indicatorfamilies en indicatorgenera.**  
Merk op dat deze taxonomieboom niet volledig is.

<sup>1</sup> Primers zijn korte enkelstrengs DNA-fragmenten (20-30 nucleotiden lang) die ontworpen zijn om aan een DNA streng te binden, waaraan zij complementair zijn. Tijdens een PCR zal het DNA-polymerase beginnen met kopiëren van de DNA-streng vanaf de plaatsen waar de primer zit. Zo wordt de **complementaire** DNA-streng gemaakt en vermenigvuldigd.

## Elektroforese

Via elektroforese zal je oude DNA-fragmenten in de ijskap onderzoeken..

### Vraag 4.1

➤ Zet de **letters** die voor de correcte woorden staan in de vakjes bij 4.1.

### Woorden

A Aminozuur	G Base	M putjes	S Desoxyribose-moleculen
B DNA-ladder	H DNA-fragmenten	N Vetzuren	T Fosfaatgroepen
C Glucosemoleculen	I Groeven	O Kortste	U Koolhydraten
D Lading	J Lengte	P Langste	V Laadkleurstof
E Moleculen	K Negatieve pool	Q Netto negatieve lading	W Positieve pool
F Netto positieve lading	L Proteïne	R Afmeting	X Macromoleculen

### Text

Een elektroforese wordt uitgevoerd in een elektroforesecassette. Monsters worden geladen in de { Woord 1 } van een gel, die bedekt is met een buffer.

In een elektrisch veld kunnen macromoleculen zoals { Woord 2 } en { Woord 3 } gescheiden worden. De scheiding hangt af van het verschil in { Woord 4 } en { Woord 5 } van de moleculen.

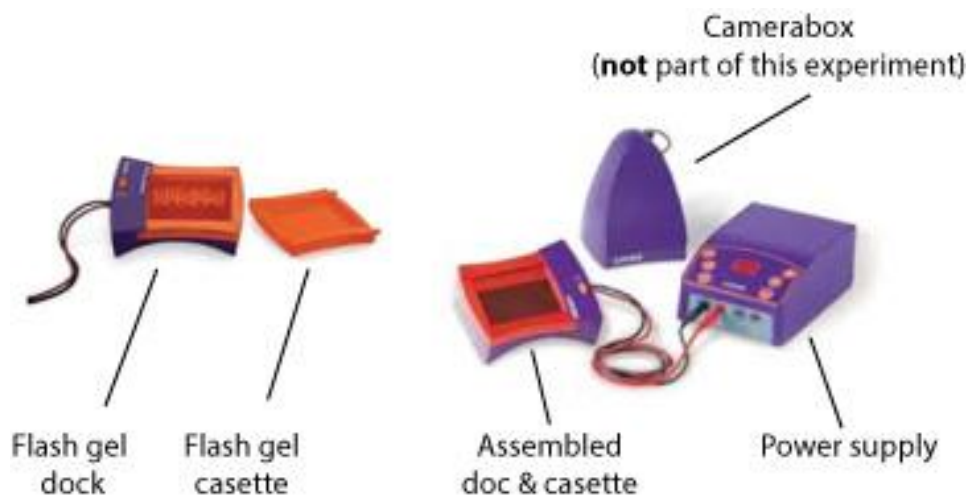
Nucleïnezuren migreren naar de { Woord 6 } doordat ze een { Woord 7 } dragen, te wijten aan de aanwezigheid van { Woord 8 }. Proteïnen daarentegen kunnen zowel naar de positieve als de negatieve pool migreren, daar hun globale lading afhangt van hun { Woord 9 }-samenstelling.

## Experiment 4A. Analyse van de DNA-monsters met behulp van gelelektroforese

Oud DNA gebonden aan bodemdeeltjes dat bewaard gebleven is in het onderste ijs gunt ons een blik op de oude natuurhistorie. Omdat het materiaal bevroren is en zuurstofvrij gehouden is, is het materiaal weliswaar deels afgebroken, maar van korte stukjes DNA is de nucleotidevolgorde (sequentie) behouden gebleven. We kunnen de DNA-code van de overgebleven korte stukjes DNA gebruiken als een taxonomische bibliotheek van de voorgaande genera van deze geografische omgeving van Groenland. Bekijk de onderstaande lijst van de verschillende families waarnaar we op zoek zijn, in de monsters verkregen met behulp van PCR-amplificatie met gebruikmaking van familie-specifieke primers:

1. Taxaceae
2. Pinaceae
3. Betulaceae
4. Fabaceae
5. Fagaceae

De verschillende DNA-monsters verwijzen naar verschillende indicatorfamilies waar we naar op zoek zijn.



Figuur 4.3 Het Lonza 'Flash gel'-systeem

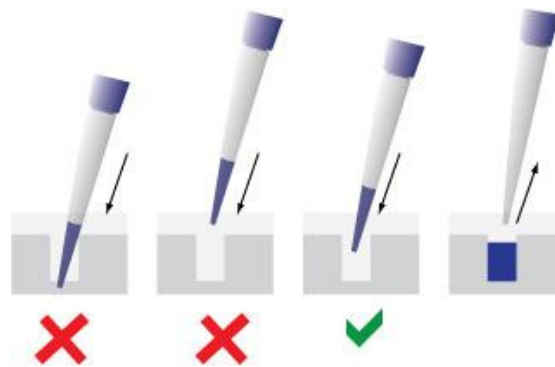
### Instructies

1. Maak de zak open en verwijder de cassette.
2. Verwijder de verzegeling van de cassette.
3. Zorg ervoor dat de putjes goed gevuld worden met "Buffer 4" en verwijder de buffer uit de cassette, maar niet uit de putjes. Als je twijfelt vraag dan de assistent – je krijgt geen strafpunten.
4. Zet de cassette in het 'dock'.

5. Laadt uit de PCR-buisjes (5  $\mu$ L per monster) op de gel zoals te zien in **Figuur 4.4** hieronder. Noteer waar je de monsters laadt.

**NB: Gebruik slechts 5 putjes; de andere 6 putjes heb je later nog nodig.**

6. Verbind de kabels met de spanningsbron, zoals met kleurcodering is aangeduid.
7. Stel de spanningsbron als volgt in: voltage 195 V DC of zoals aangegeven bij de labtafel, vermogen 15 W of zoals aangegeven bij de labtafel, stroomsterkte: 25 mA en de tijd op 10 minuten.
8. Start de elektroforese met de spanningsbron.
9. Bekijk het experiment elke minuut door het licht aan te doen met behulp van de lichtschaakelaar. Laat de elektroforese maximaal 9 minuten lopen.



**Figuur 4.4.** Het laden van een monster op de gel.

## De resultaten van experiment 4A analyseren

### Vraag 4.2

De familie was aanwezig, indien je een signaal op de gel ziet. Noteer de namen van de families die je hebt geanalyseerd in de vakjes in de tekeningen van de gels op je antwoordblad en duid aan of de bewuste familie aanwezig was in je monster of niet.

Dit doe je door + (aanwezig) of – (afwezig) te zetten onder de naam van de familie in de tekeningen van de gels op het antwoordblad.

> *Schrijf de namen van de families die je geanalyseerd hebt in vak 4.2 van je antwoordblad.*

### Vraag 4.3

Bepaal of onderstaande beweringen juist of onjuist zijn voor wat betreft de flora op Groenland.

Gebruik hiervoor de gegevens van experiment A en de informatie in [Appendix B](#)

Beweringen	Juist	Onjuist
In die tijd kwamen geen planten voor		
In die tijd kwamen slechts 4 families voor		
Tijdens de winters was de temperatuur lager dan – 2 °C en tijdens de zomer boven 10 °C.		
In die tijd kwamen slechts 3 families voor		
We kunnen niets besluiten wat betreft de temperatuur door zuiver voort te gaan op informatie over de families.		
In die tijd was Groenland gedeeltelijk bebost		

> *Vink je antwoorden aan in de corresponderende vakjes van tabel 4.3*

### Vraag 4.4

Welke families zouden relevant zijn om nader te onderzoeken? Taxaceae, Fagaceae, Pinaceae, Fabaceae en/of Betulaceae?

> *Omcirkel de namen van de families die interessant zouden zijn om te onderzoeken in het vak 4.4. van je antwoordblad.*

## Experiment 4B. Analyse van de DNA-monsters met behulp van gelelektroforese

De DNA-monsters gaven aan naar welke indicator genera (geslachten) we dienen te zoeken

Hieronder heb je de lijst van de verschillende genera (geslachten) waarnaar we op zoek zijn in de DNA-monsters, verkregen na PCR-vermeerdering en met gebruik van genera-specifieke primers:

B.1. Alnus

B.3. Pinus

B.5. Cassia

B.2. Picea

B.4. Taxus

B.6. Castanea

## Richtlijnen

1. Draag er zorg voor dat de putjes (slotjes) van de monsters goed gevuld zijn met buffer; de buffer 4 in de cassette mag wel verwijderd worden, maar niet de buffer in de putjes (slotjes).
2. Steek de cassette in het 'dock'.  
**NB: Gebruik enkel de putjes (slotjes) die je NIET hebt gebruikt in het vorige experiment!**
3. Laad de monsters uit de PCR-buisjes in de putjes (5  $\mu$ L per monster). Vergeet niet te noteren welk monster je in welk putje laadt!
4. Steek de kabels volgens de kleurcode in de stroombron.
5. Stel in: voltage 195 V DC (of zoals aangeduid op de labtafel), vermogen 15 W (of anders zoals aangeduid), stroomsterkte: 25 mA, en tijd 10 minuten.
6. Start de elektroforese door op de juiste knop van de stroombron te drukken.
7. Observeer om de minuut het experiment door het licht aan te zetten. De elektrofores zelf laat je maximaal 9 minuten lopen.

## Analyse van de resultaten van experiment 4B

Zoals in experiment 4A gebruik je de bijgevoegde taxonomische boom en de tabel met de indicatorgenera (geslachten).

### Vraag 4.5

Noteer de namen van de genera (geslachten) die je hebt onderzocht in de vakjes en duid aan of het betreffende **genus** al dan niet aanwezig was in je monster.

> *Dit doe je door + (aanwezig) of – (afwezig) in te vullen op je antwoordblad bij 4.5.*

### Vraag 4.6

Welk type habitat was dominant op de locatie van Dye-3? Gebruik voor je antwoord experiment 4B, Appendix B, en vorige antwoorden

Stelling	
Regenwoud.	
Gemengd loofwoud in gematigd klimaat.	
Slijk- en modder (een vochtig terrein zonder bebossing, gedomineerd door turfvormende planten).	
Prairie (een open terrein met grasland).	
Boreale wouden (Taiga) met een mix van naald- en loofbomen.	

> *Vink het correcte antwoord aan bij 4.6.*

### Vraag 4.7

We willen zeker zijn dat de DNA-monsters van het basaal ijs echt een aanwijzing vormen van de vroegere ecosystemen en niet afkomstig zijn van contaminatie die via luchtcirculatie in de loop der tijd Groenland heeft bereikt.

Waar zou je monsters uit de ijslaag nemen om te controleren op de aanwezigheid van vreemd DNA afkomstig uit de lucht?

Plaats van monstername	Juist	Onjuist
In het midden van de ijskap, dicht bij het basale ijs, waar vreemd DNA van planten ingesloten kan zijn samen met lucht, andere verontreinigingen uit de lucht en sneeuw.		
In het zuivere ijs, veel dicht bij de oppervlakte dan bij het basale ijs.		
Alleen aan de bovenkant van de ijskap, omdat deze het meeste kans maakt om besmet te raken.		
In de atmosferische lucht zelf, omdat de verontreinigingen daar voorkomen.		
Monsters van de atmosferische lucht en van de ijskap, omdat beiden de verontreinigingen bevatten.		

➤ *Vink de correcte antwoorden aan bij 4.7.*

#### Vraag 4.8

Uitgaande van de indicatorgenera (geslachten), wat kun je zeggen over de meest waarschijnlijke klimaatomstandigheden in Groenland tijdens de periode waarin die organismen voorkwamen? Wat waren de boven- en ondergrenzen van de temperaturen? Gebruik [Appendix B](#).

Stelling	Juist	Onjuist
De temperatuur tijdens de zomers lag boven 10 °C.		
Tijdens de winter daalde de temperatuur tot – 40 °C.		
De winters waren niet kouder dan –17 °C.		
Tijdens de winter zakte de temperatuur niet beneden –1 °C.		

➤ *Vink de correcte antwoorden aan bij 4.8.*

### Uitgaande van een eiwitsequentie het coderend m-RNA bepalen

De onderzoekers van Dye-3 stotten bij het bestuderen van hun waarnemingen op een eiwitfragment. Jouw taak bestaat erin te bepalen welke mogelijke sequenties van organische basen in mRNA hiervoor kunnen coderen en een mogelijke specifieke primer te kiezen om dit te testen via PCR (polymerase chain reaction).

De aminozuursequentie in het eiwitfragment is:

**Met-Phe-Asp-Gln-Asp-Tyr-Trp**

### Vraag 4.9

Maak gebruik van de genetische code (Figuur 4.5), om het aantal mogelijke mRNA-combinaties, die voor de eiwitsequentie coderen, te berekenen.

		Second Letter					
		U	C	A	G		
1st letter	U	UUU   Phe UUC   UUA   Leu UUG	UCU   Ser UCC   UCA   UCG	UAU   Tyr UAC   UAA   Stop UAG   Stop	UGU   Cys UGC   UGA   Stop UGG   Trp	U C A G	
	C	CUU   Leu CUC   CUA   CUG	CCU   Pro CCC   CCA   CCG	CAU   His CAC   CAA   Gln CAG	CGU   Arg CGC   CGA   CGG	U C A G	
	A	AUU   Ile AUC   AUA   AUG   Met	ACU   Thr ACC   ACA   ACG	AAU   Asn AAC   AAA   Lys AAG	AGU   Ser AGC   AGA   Arg AGG	U C A G	
	G	GUU   Val GUC   GUA   GUG	GCU   Ala GCC   GCA   GCG	GAU   Asp GAC   GAA   Glu GAG	GGU   Gly GGC   GGA   GGG	U C A G	

Figuur 4.5.

> Noteer je antwoord bij 4.9.

### Vraag 4.10

Welke van volgende mRNA-sequenties is één van de mogelijke coderende combinaties voor de eiwitsequentie?

- 5' -AUG UUU GAU GAG GAC UAU UGG-3'
- 5' -AUG UUC CCA CAG GAC UAC UGG-3'
- 5' -AUG UUC GAU CAG GAC UAC UGG-3'
- 5' -AUG UUU GAU GGA GAU UAU UGG-3'
- 5' -AUG GGA GAU CAG GAU UAU UGG-3'

> Noteer je antwoord op het antwoordblad bij 4.10.

### Vraag 4.11

Welke van volgende sequenties zou je als specifieke primer (12 baseparen) gebruiken voor verdere analyse? Normaal gebruikt men een 'voorwaartse' en een 'reverse' primer.

- 3' -CTC CTG ATA ACC-5'
- 3' -GTT CTG ATG ACC-5'
- 3' -GTC CTG ATG ACC-5'
- 3' -CTT CTA ATA ACC-5'
- 3' -GTC CTA TTA ACC-5'

> Noteer je antwoord op het antwoordblad bij 4.11.

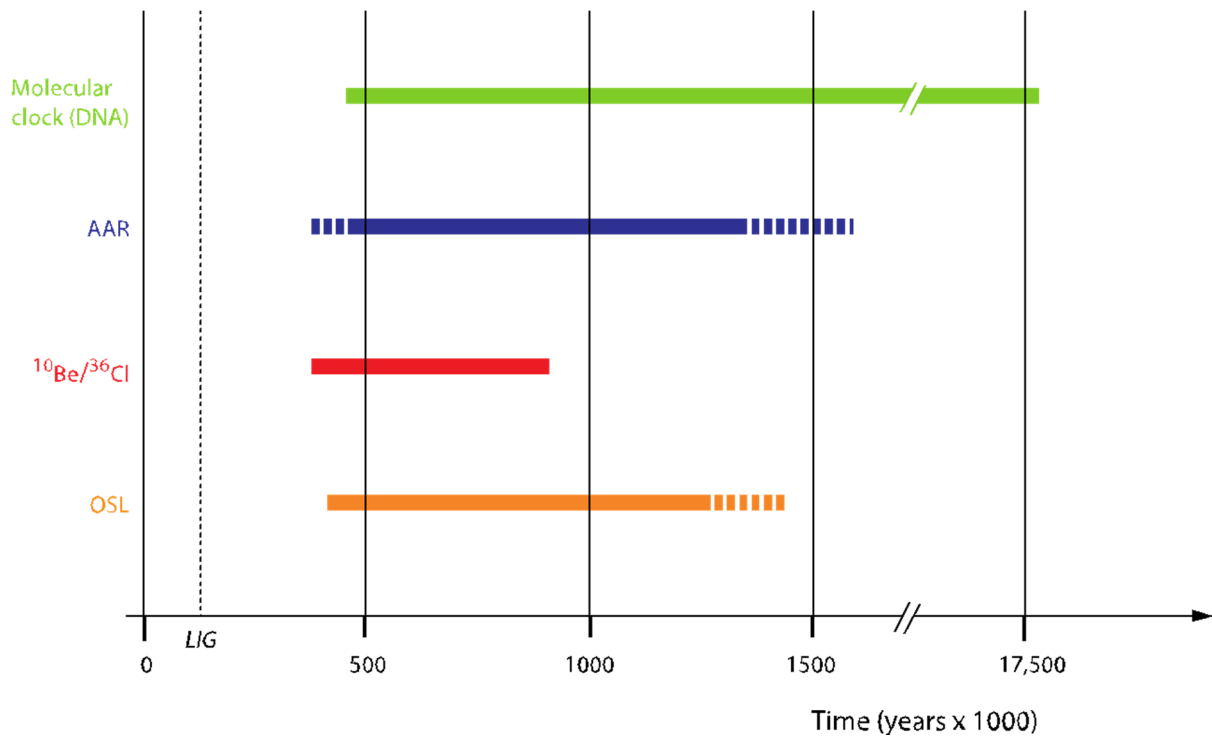


Nu we wat meer weten over sommige planten en de temperaturomstandigheden op Groenland in de periode van vóór de vorming van de ijskap, willen we weten wanneer de vorming van de ijskap begon in het Dye-3 gebied.

De datering van het basale ijs gebeurde via een combinatie van 4 methodes (zie hieronder). Twee van de methodes steunen op de fysica en twee op de biologie, en de theorie achter deze methodes wordt hieronder beschreven.

1. De eerste fysische dateringsmethode steunt op het radioactief verval van isotopen zoals  $^{10}\text{Be}$  en  $^{36}\text{Cl}$  in het ijs. Deze twee isotopen zijn aanwezig in de atmosfeer en geraken in de ijskap, samen met sneeuw.  
De methode schat de verhouding van het verval van  $^{10}\text{Be}$  /  $^{36}\text{Cl}$  isotopen, die exponentieel verloopt als functie van de tijd. Deze methode geeft een schatting van de tijd dat de isotopen en de lucht zijn opgenomen in het ijs.
2. Een andere fysische methode is de 'optical stimulated luminescence (OSL)'-datering. Via deze methode schat men de tijd die er verlopen is sinds de laatste maal dat bodemdeeltjes in contact kwamen met zonlicht, wat overeenstemt met de tijd dat ze bedekt werden door de ijskap.  
Bij deze methode bestraalt men de bodemdeeltjes met een sterke laserstraal en noteert de mate waarin het licht weerkaatst wordt door veldspaat en kwartsdeeltjes in de bodem. Deze hoeveelheid weerkaatst licht is weer een maat voor de tijd die er verlopen is sinds de laatste maal dat de bodemdeeltjes in contact kwamen met het zonlicht, wat overeenstemt met de tijd dat ze bedekt werden door de ijskap.
3. De eerste biologische methode is de zogenaamde 'amino acid racemization (AAR)'. Deze methode meet het biologisch verval van aminozuren uit weefsels. De snelheid van dit verval is voor sommige aminozuren constant bij lage temperaturen. Kennen we de mate van verval van deze aminozuren in ijsmonsters van het basaal ijs, dan kunnen we tevens de ouderdom van dit ijs schatten.
4. De tweede biologische methode is gebaseerd op DNA en de moleculaire kloktheorie. DNA vergaat in de loop van de tijd en ondergaat met een zekere snelheid foute mutaties. Door nu oude DNA-sequenties met moderne sequenties in specifieke genen te vergelijken, kan men een idee krijgen van de ouderdom van de oude sequenties, dus van de ouderdom van het organisme en de ouderdom van het ijs waarin het organisme gevangen raakte.

Deze 4 dateringsmethodes zijn recent toegepast op monsters van basaal ijs, omdat geen andere geschikte methodes voor dit type materiaal bestonden. Geen enkele van deze methodes afzonderlijk biedt absolute zekerheid qua datering, vandaar dat men besloten heeft de 4 methodes te combineren om tot een bepaalde 'consensus ouderdom' te komen.



**Figuur 4.6.** Vier dateringsmethodes om de ouderdom van oud DNA in de ijskap te bepalen

Horizontale tijdlijn: Jaren vóór het heden x 1000.

LIG: *Last interglacial period (periode tussen ijsstijden)*, ongeveer 120.000 jaar.

Verticale as: De 4 methodes. Stippellijnen geven de onzekerheid weer tussen maximum en minimum ouderdom.

#### Vraag 4.12

Bepaal aan de hand van **Figuur 4.6** en met een combinatie van de 4 methodes, hoe lang het geleden is dat bossen voorkwamen op de Dye-3 locatie.

- *Vink de correcte antwoorden aan bij 4.12 op het antwoordblad.*

## EINDE VAN TAAK 1: IJS