

Themenkreis Chromatographie

Versuch 13.4. Dünnschichtchromatographische Trennung der Blattfarbstoffe

Sicherheit: Vorsicht keine offene Flammen in der Nähe!

Entsorgung: Abzug, Reste in Behälter brennbare Lösemittel.

Info

Die am stärksten ins Auge fallende Farbe der Pflanzen, das Grün, wird durch Chlorophylle hervorgerufen. Ihr Name leitet sich von den griechischen Wörtern *chloros*: gelbgrün und *phyllos*: Blatt ab. Sie kommen in allen Geweben vor, in denen eine Photosynthese stattfindet. Sie sorgen dafür, dass Energie für den Aufbau von Kohlenhydraten (Stärke) aus Kohlenstoffdioxid und Wasser zur Verfügung steht - sie absorbieren Lichtenergie. Wir finden sie in den Chloroplasten der pflanzlichen Gewebe in Form gleichmäßig geschichteter Membranstapel. Für die assimilierenden Pflanzenzellen ist vor allem das blaugrüne Chlorophyll a charakteristisch. Es unterscheidet sich von dem gelbgrünen Chlorophyll b nur durch eine einzige Gruppe (eine Methylgruppe ist durch eine Aldehydgruppe ersetzt). Chlorophyll b kommt nicht nur in allen Blütenpflanzen vor, sondern auch in Grünalgen, Moosen, Farnen.

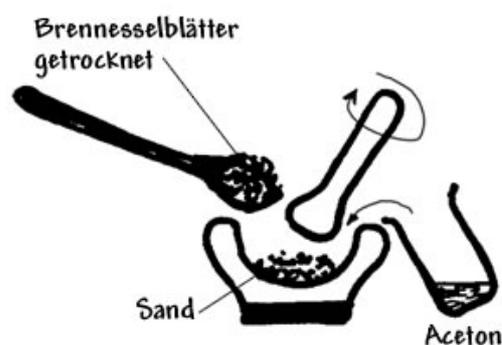
Bei manchen Algenarten treten an Stelle des Chlorophyll b andere Chlorophylle (c, d, e genannt), die sich wiederum durch chemische Gruppen von den Chlorophyllen a und b unterscheiden. Die wichtigsten Begleitstoffe der Chlorophylle sind die fettlöslichen, gelb, orange bis rot gefärbten Carotinoide. Oxidierte Carotinoide werden auch Xanthophylle genannt (dazu gehört z. B. das Lutein im Eigelb und Weizenkeimöl). Die Abbauprodukte der Chlorophylle, die kein Magnesium mehr im Molekül enthalten, werden *Phäophytine* genannt. Sie sind olivgrün bis olivbraun gefärbt. Von den Carotinoiden, den ständigen Begleitern der Chlorophylle, kommt das β -Carotin in großen Mengen in der Karotte (Möhre) vor - daher auch der Name. In grünen Pflanzenteilen sind vor allem das schon genannte Lutein und das Violaxanthin vorhanden. Sie werden auch als natürliche Farbstoffe den Lebensmitteln zugesetzt.

Die unterschiedlichen Farben bei der Verfärbung des Herbstlaubes beruhen auf dem zeitlich unterschiedlichen Abbau der einzelnen Chlorophylle der Blätter

Herstellen einer Rohchlorophyll - Lösung

Günstig ist, für diesen Versuch getrocknete grüne Pflanzen oder Blätter zu verwenden, die sich beim Trocknen möglichst wenig verfärbt haben. Bei zu feuchtem Material besteht die Gefahr, dass beim Herstellen des Extraktes ein Enzym in den grünen Blättern, die Chlorophyllase, das zu analysierende Chlorophyll zum Teil abbaut. Als besonders geeignet haben sich getrocknete Brennnesselblätter erwiesen. Frische Brennnesseln können an einem luftigen, dunklen Ort getrocknet werden. Ein kleiner Vorrat erleichtert die spätere Arbeit im Unterricht.

- Verreibe in einem kleinen Mörser eine geringe Menge des getrockneten Materials (z.B. getrocknete Brennnesselblätter) kräftig einige Minuten lang zusammen mit etwas Seesand und einigen mL Aceton (Abzug). Das Zerreiben mit Sand hat den Zweck, die Pflanzenzellen aufzuschließen und die Chloroplasten für eine bessere Extraktion der Farbstoffe mit Aceton freizulegen.



Themenkreis Chromatographie

- Filtriere die sog. Rohchlorophyll-Lösung durch ein Papierfilter in ein kleines Becherglas und lasse dort - möglichst im Dunkeln - die Flüssigkeit weitgehend verdunsten, um eine konzentrierte Lösung zu bekommen. Du kannst das Verdunsten auch durch vorsichtiges Anblasen mit einem Warmluftfön beschleunigen. Alle diese Vorbereitungen sollten möglichst bei gedämpftem Licht, auf keinen Fall aber im direkten Sonnenlicht durchgeführt werden, da die Farbstoffe sehr lichtempfindlich sind.



Durchführung der Trennung

- Die chromatographische Trennung in einer Chromatographierkammer (z.B. Marmeladenglas) erfolgt mit einem Gemisch aus 8 mL Benzin (Siedebereich 60-90 °C) und zwei mL Aceton. Gib dieses Gemisch in die Kammer und verschließe diese.
- Trage von der dunkelgrün gefärbten Lösung dann mehrmals einen Tropfen mittels eines Glaskapillarröhrchens auf eine DC-Karte.
- Trockne nach jedem Tropfen mit einem Fön oder puste vorsichtig über das Papier.
Die Tropfen werden also aufeinander aufgetragen, um eine deutlich sichtbare Menge an Blattfarbstoffen auf das Papier zu bekommen. Der Fleck sollte aber nicht zu groß werden, da sich die anschließende Trennung mit zunehmendem Durchmesser des Ausgangsflecks verschlechtert.
- Du kannst auf der Folie mehrere Flecke nebeneinander unterbringen. Trage bei jedem Fleck unterschiedliche Mengen auf, um anschließend die Auswirkung auf die Trennung beurteilen zu können.
- Setze die beschickte DC-Karte in die Chromatographierkammer und verschließe mit einem Deckel.
- Nimm nach einer Laufstrecke von etwa 6 cm die Karte aus dem Glas heraus und lasse sie im Dunkeln an der Luft trocknen.

