



Prinzip



Die Blattfarbstoffe werden eluiert und dünnschichtchromatografisch getrennt, so dass genügend große Mengen zu weiteren (spektroskopischen) Untersuchungen zur Verfügung stehen.

Benötigte Geräte

- Schere
- Mörser mit Pistill
- DC-Folie mit Kieselgel
50 x 200mm
- Passendes Marmeladenglas mit Deckel
- Spatel

- Pasteurpipette (PVC)
- Pipette oder Schmelzpunkt-Röhrchen
- (Für Arbeitsblatt I03:)**
- 5 Einmalküvetten evtl. ½ Mikroküvetten

Verwendete Chemikalien

- Blätter von Petersilie, Brennnessel oder Spinat (evtl. TK)
- Benzin (40°C-70°C) 
- 2-Propanol 
- Dest. Wasser
- Quarzsand
- Calciumcarbonat

Vorbereitung des Versuchs

DC-Folie:

- ▶ Die DC-Folie (z.B. Polygram SIL G UV254 Macherey-Nagel) wird in der Mitte durchgeschnitten, so dass zwei Folien 50 x 100 mm entstehen.

Fließmittel:

- ▶ 1 mL dest. Wasser mit 48 mL Propan-2-ol mischen und zu 400 mL Benzin zugeben.

DC-Kammer:

- ▶ Laufmittel in das Marmeladenglas füllen. Wenn der Boden eben ist, reicht schon eine Füllhöhe von 5 mm.
- ▶ Das Glas mit dem Deckel verschließen und zur Sättigung des Gasraumes einige Male schütteln.

Durchführung

1. Herstellen des Blattauszuges:

- Einige Blätter mit der Schere möglichst klein schneiden und zusammen mit einem Spatel Kalk und 3 Spateln Sand in die Reibschale geben.
- Etwas Laufmittel zugeben und die Blätter kräftig und ausdauernd mit dem Pistill reiben. Die Lösung sollte am Ende sehr dunkelgrün (fast: schwarzgrün) sein.

2. Auftragen

- Mit einer Kapillare/Pipette (Schmelzpunktröhrchen) in etwa 2 cm Entfernung vom unteren Rand eine möglichst schmale (Punkt-)Linie auf die DC-Platte auftragen und diese gut trocknen lassen. Falls sich die Kapillare mit Blattteilen zusetzt, die tiefgrüne Lösung in ein Becherglas umgießen.
- Die nächsten Punkte auf dieselbe Linie setzen und wieder antrocknen lassen. Diesen Vorgang 4-6 mal wiederholen bis eine schmale aber sehr farbintensive Linie entstanden ist.
- !! Etwas Rohchlorophyllextrakt für ein späteres Spektrum aufheben!!

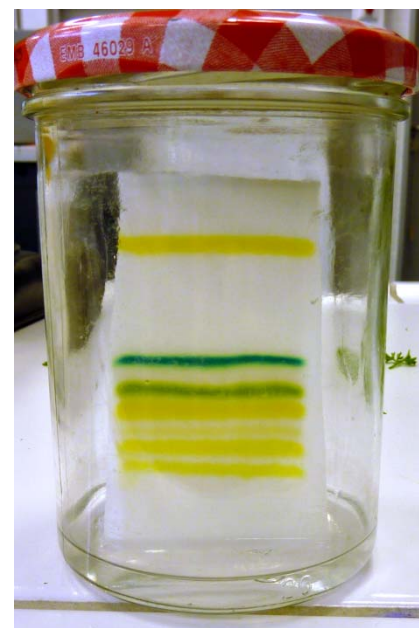
3. Entwickeln

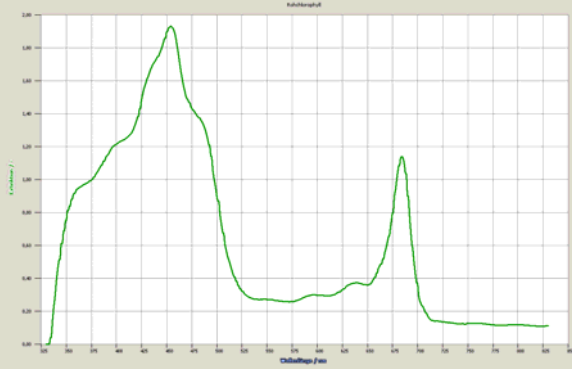
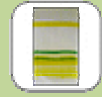
- Die DC-Platte vorsichtig in die Chromatografiekammer einstellen.
- Die Kammer verschließen und für etwa 15 Minuten erschütterungsfrei lassen, bis das Laufmittel nur noch etwa 0,5 bis 1 cm vom oberen Rand entfernt ist.
- Während der Entwicklung sieht man schön, wie sich die Blattfarbstoffe in der Reihenfolge: (von oben nach unten) **Carotin, Oxidat.-produkte der Chlorophylle, Chlorophyll A, Chlorophyll B, Lutein, Violaxanthin und Neoxanthin** auftrennen.
- Danach die DC-Platte herausholen und zum Trocknen auf das wieder verschlossene Gefäß legen.

4. Küvetten mit Farblösungen

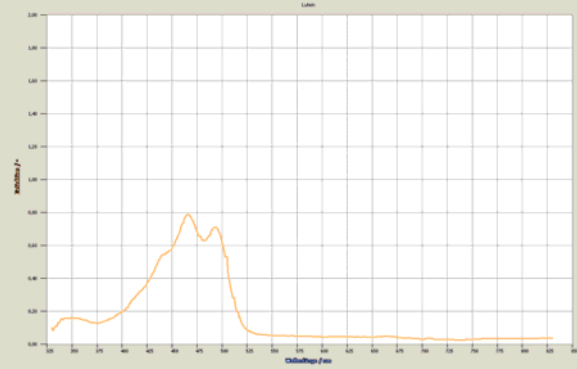
- Die einzelnen Zonen mitsamt dem Kieselgel mithilfe der Schere oder des Spatels in die bereitgestellten Küvetten hinein kratzen.
- Mit der Pipette Laufmittel zugeben, um die Farbstoffe zu lösen.

- !! Ebenfalls eine Küvette mit der Rohchlorophyll-Lösung herstellen!

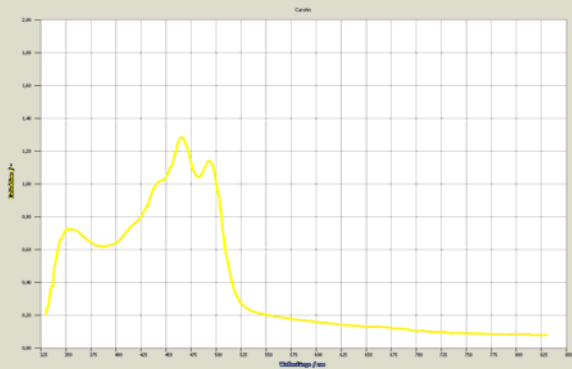




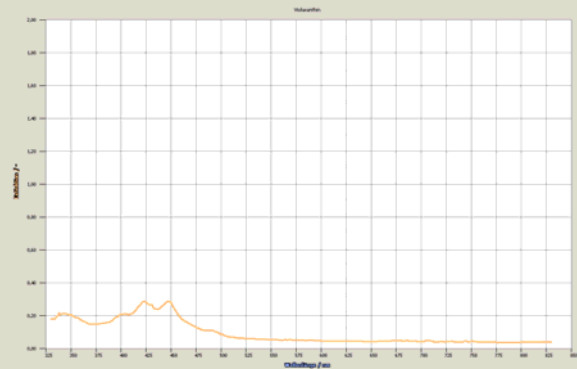
Rohchlorophyll (verdünnt)



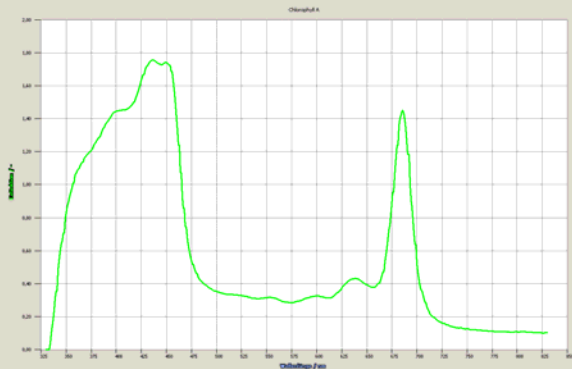
4. Zone (Lutein)



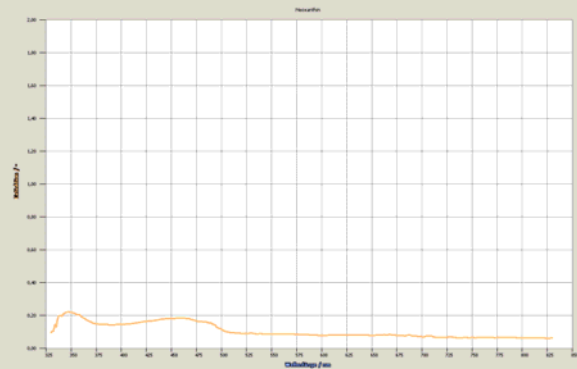
1. Zone (Carotin)



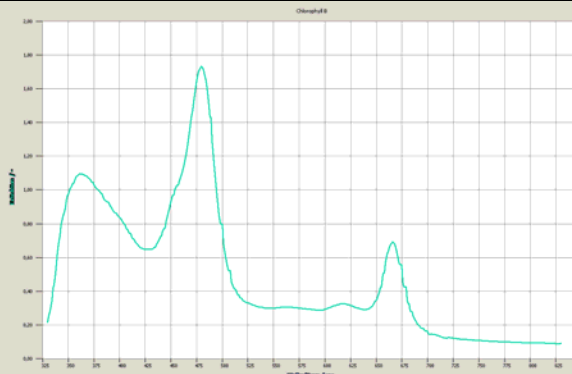
5. Zone (Violaxanthin?)



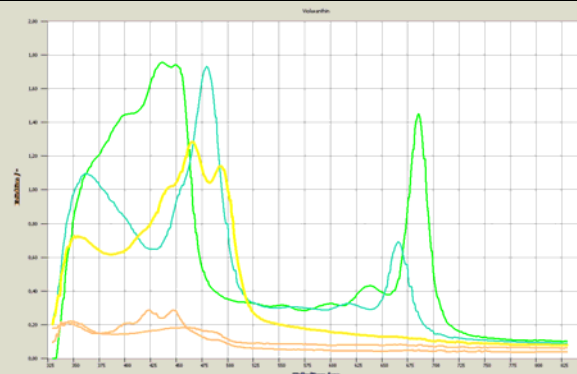
2. Zone Chlorophyll A



6. Zone (Neoxanthin?)



3. Zone Chlorophyll B



Beachten:



Entsorgung

Fließmittel in den Sammelbehälter

Literatur

K. Kuhn u. W. Probst, Biologisches Grundpraktikum Dbd. I Stuttgart 1977, Klett, Natura - Oberstufe, Ausgabe 2005, S.93, W. Wagner, Uni-Bayreuth, persönliche Mitteilungen