

Säulenchromatographie - Trennung von Blattfarbstoffen

(Artikelnr.: P3120300)

Curriculare Themenzuordnung



Schwierigkeitsgrad



Mittel

Vorbereitungszeit



1 Stunde

Durchführungszeit



1 Stunde

empfohlene Gruppengröße



2 Schüler/Studenten

Zusätzlich wird benötigt:

Versuchsvarianten:

Schlagwörter:

Chemische Bestandteile von Mischungen

Aufgabe und Material

Einleitung

Mit **Säulenchromatographie** bezeichnet man ein chromatographisches Trennverfahren, bei dem die Inhaltsstoffe der Probe bei ihrem Weg durch die Säule aufgetrennt werden und sie nacheinander verlassen.

Hinweise

Hier dargestellt ist nur die Trennung eines Gemischs als Einführung in die Methode der Säulenchromatographie. Man kann die entnommenen Fraktionen auch durch die Aufnahme ihrer Absorptionsspektren charakterisieren oder auf Fluoreszenz bei Bestrahlung mit UV-Licht untersuchen. Dazu benötigt man:

Spectrophotometer S800, 330...800 nm	35656-99	1
Küvette für Spektralphotometer, 2 St.	35664-02	1
UV-Analysenleuchte 254/366 nm	33972-93	1

Sicherheitshinweise:



Petroleumbenzin ist eine farblose, wasserunlösliche, leichtentzündliche, flüchtige Flüssigkeit, die leichter ist als Wasser. Die Dämpfe sind schwerer als Luft und bilden mit Luft explosionsfähige Gemische. Bei elektrostatischen Aufladungen besteht die Gefahr einer Entzündung.

1-Propanol ist eine brennbare farblose, typisch alkoholisch riechende Flüssigkeit, die sich mit Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln mischen lässt. 1-Propanol übt eine leichte Reizwirkung auf die Augen und Schleimhäute aus.

Dämpfe nicht einatmen. Berührungen mit den Augen und der Haut vermeiden. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille tragen.

Task and equipment

Safety instructions



Petroleum ether is a colourless, water insoluble, easily inflammable, volatile liquid that is lighter than water. The vapours are heavier than air and form mixtures capable of explosion with air. There is a danger of ignition of it by electrostatic charges. n-Propyl alcohol is a combustible, colourless liquid that has an odour typical of alcohols and is miscible with water and most organic solvents. n-Propyl alcohol causes slight irritation to eyes and mucous membranes. Do not inhale vapours. Avoid contact with eyes and skin. Wear appropriate protective clothing, protective gloves and protective goggles when working with them.

1-Propanol

H225: Highly flammable liquid and vapour.

H318: Causes serious eye damage.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.

P233: Keep container tightly closed.

Quartz glass wool

H332: Harmful if inhaled.

H335: May cause respiratory irritation.

P261: Avoid breathing dust/fumes/gas/mist/vapours/spray.

Petroleum ether, 40-60°C

H225: Highly flammable liquid and vapour.

H304: May be fatal if swallowed and enters airways.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

EUH066: Repeated exposure may cause skin dryness or cracking.

P210: Keep away from heat, hot surfaces, sparks, open flames and other ignition sources. No smoking.

P233: Keep container tightly closed.

P240: Ground/bond container and receiving equipment.

Aufgabe und Material

Material

Position	Material	Bestellnr.	Menge
1	Rahmen für Komplettversuche	45500-00	1
2	Sicherheitsflasche, 500 ml, 2 x GL 18/8, 1 x GL 25/12	34170-01	1
3	Ionenaustausch-Chromatografie-Säule	35025-01	1
4	Platte für Komplettversuche	45510-00	1
5	Vakuumvorstoß, gerade, GL 25/12	35806-15	1
6	Erlenmeyerkolben, GL 25/12, 100 ml	35844-15	4
7	Feder-Manometer, 0..1000 mPa	34170-02	1
8	Muffe auf Träger für Demo-Tafel	02164-00	1
9	Verschlusskappe, mit Dichtung, GL 25, 10 Stück	41221-03	1
10	Klemmhalter, d = 8...10 mm, drehbar	45522-00	1
11	Wasserstrahlpumpe, Kunststoff	02728-00	1
12	Quarzglaswolle 10 g	31773-03	1
13	Seesand, gereinigt 1 kg	30220-67	1
14	Rückwand für Komplettversuche	45501-00	1
15	Mörser mit Pistill, 325 ml, Porzellan	32605-00	1
16	Klemmhalter, d = 18...25 mm	45520-00	2
17	Dreiweghahn, T-förmig, NS	36731-00	1
18	Luftregler	37003-00	1
19	Erlenmeyerkolben 250 ml, Weithals, SB,45	36434-00	1
20	Petroleumbenzin, 40-60 °C, 500 ml	30184-50	1
21	Stärke, löslich, reinst 100 g	30227-10	1
22	Federstecker, 50 Stück	45530-00	1
23	Pipettierball, Flip-Modell, Pipetten bis 100 ml	36592-00	1
24	Universalklemme, Stellschraube an beweglicher Seite	37715-00	1
25	1-Propanol, reinst 250 ml	31754-25	1
26	Laborschere, l = 180 mm	64798-00	1
27	Schraubzwinde	02014-00	2
28	Gummischlauch-Vakuum-, Innen-d = 6 mm, lfd. m	39286-00	3
29	Vollpipette 50 ml	36581-00	1
30	Rundfilter, qualitativ, d = 110 mm, 100 Stück	32977-04	1
31	Pipette mit Gummikappe, lange Spitze	64838-00	1
32	Messzylinder 50 ml, BORO 3.3	36628-00	1
33	Trichter, Oben-d = 80 mm, Glas	34459-00	1
34	Messpipette 0,1 ml, Teilung 0,01 ml	36594-00	1
35	Glasröhrchen, rechtwinklig, l = 155 mm+85 mm	36701-07	1
36	Glasrührstab, Boro 3.3, l = 300 mm, d = 9 mm	40485-07	1

Aufgabe

Aufbau und Durchführung

Aufbau

Sicherheitshinweise:

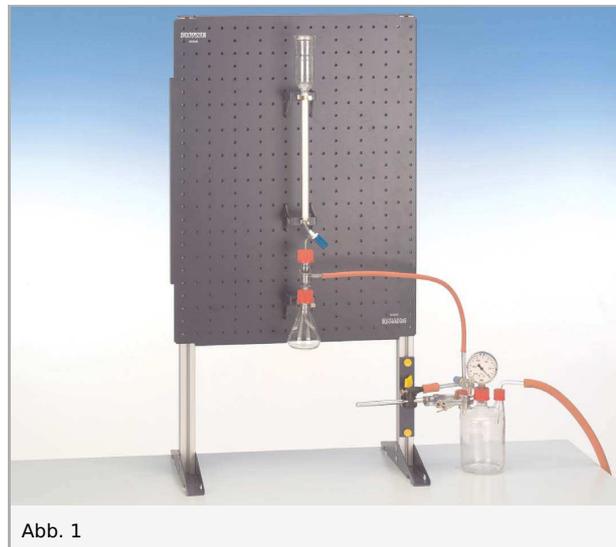


Petroleumbenzin ist eine farblose, wasserunlösliche, leichtentzündliche, flüchtige Flüssigkeit, die leichter ist als Wasser. Die Dämpfe sind schwerer als Luft und bilden mit Luft explosionsfähige Gemische. Bei elektrostatischen Aufladungen besteht die Gefahr einer Entzündung.

1-Propanol ist eine brennbare farblose, typisch alkoholisch riechende Flüssigkeit, die sich mit Wasser und den meisten organischen Lösungsmitteln mischen lässt. 1-Propanol übt eine leichte Reizwirkung auf die Augen und Schleimhäute aus.

Dämpfe nicht einatmen. Berührungen mit den Augen und der Haut vermeiden. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille tragen.

Aufbau:



Die Halter werden an der Platte für Komplettversuche wie in Abbildung 2 gezeigt befestigt. Die Muffe auf dem Träger wird seitlich unten an den Ständer des Rahmens angebracht. Hieran wird eine Univeralklemme befestigt und mit ihr die Woulfesche Flasche gesichert. Die Apparatur wird nach Abbildung 1 aufgebaut und an den Haltern angebracht.

Ergebnisse und Auswertung

Beobachtung:

Nach etwa fünf Minuten ist die Probe vollständig auf der Säule und nach weiteren fünf Minuten ist die unterste Lauffront am unteren Drittel der Säule angekommen. Eine Auftrennung ist deutlich in einen breiten gelben Bereich und in ein schmales grünes Band erkennbar. Bei genauerer Betrachtung lässt sich die breite gelbe Fraktion noch einmal trennen. Jede Fraktion wird aufgefangen und in einem Erlenmeyerkolben präsentiert.

Auswertung:

Man erkennt deutlich, dass es mehrere Blattfarbstoffe geben muss. Dies sind neben Chlorophyllen auch Xanthophylle. Hier können vor allem die Xanthophylle (gelb) von den Chlorophyllen (grün) getrennt werden. Bei geringerem Vakuum ist die Auftrennung deutlich besser, dauert jedoch auch erheblich länger. So werden Chlorophyll a und Chlorophyll b unter obigen Bedingungen nicht getrennt. Sollten die Fraktionen anschließend quantitativ untersucht werden, ist der Verzicht auf das Vakuum sehr zu empfehlen. Zur genauen Verteilung der Blattfarbstoffe sei hier auf einschlägige biologische Fachliteratur verwiesen. Die Auftrennung erfolgt wegen der unterschiedlichen Adsorption der Farbstoffe an dem Trägermaterial (hier Stärke). Die stärker adsorbierenden Farbstoffe werden länger in der Säule zurückgehalten. Die Trennung erfolgt umso besser, je länger die Säule ist und je unterschiedlicher die Adsorptionen am Trägermaterial sind.