

## Papierchromatographie-Set

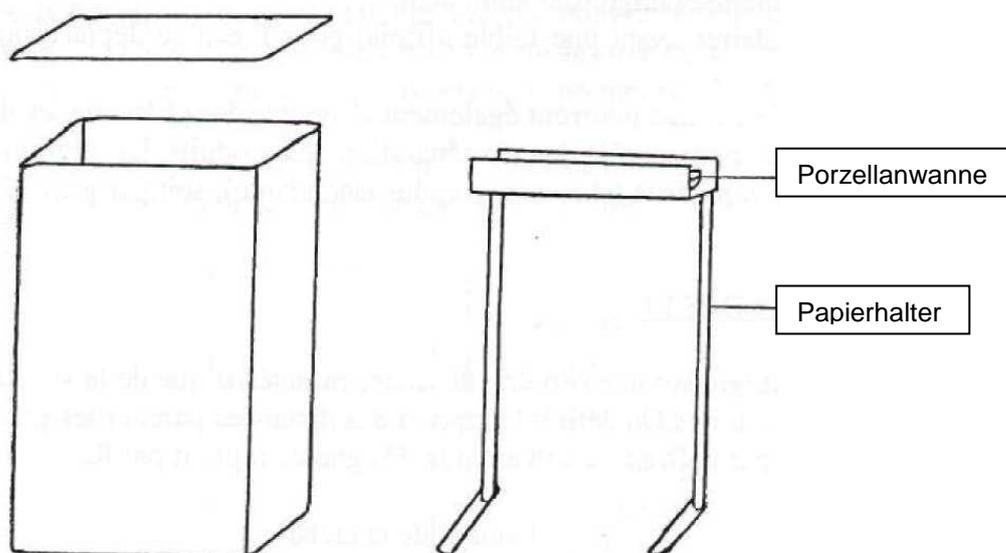


### 1. Vorstellung des Produkts

#### 1.1 Zweck des Produkts

Die Chromatographie ist ein physikalisches Verfahren zur Trennung eines Stoffgemischs in seine Bestandteile.

#### 1.2 Zeichnung



### 1.3 Bestandteile

- rechteckige Trennkammer aus Glas: H 250 x B 150 x T 80 mm
- Glasdeckel mit geschliffenen Kanten
- Papierhalter aus Aluminium
- halbzylindrisch geformte Wanne aus emailliertem Porzellan zum Aufsetzen auf den Papierhalter; L 135 mm
- Glasstäbchen, um das Papier in der Wanne zu fixieren
- 25 Blätter Spezial-Chromatographiepapier, Format 13 x 26 mm

## 2. Prinzip

Die Chromatographie ist ein physikalisches Verfahren zur Trennung eines Stoffgemischs in seine Bestandteile; die Trennung der Bestandteile erfolgt mit Hilfe zweier Phasen:

- der festen Phase, "stationäre Phase" genannt (bestehend aus einem Gegenstand oder einer Flüssigkeit);
- der mobilen Phase (bestehend aus einem Fluid: einer Flüssigkeit oder einem Gas), die durch die stationäre Phase hindurchfließt.

Je nach Art der stationären und mobilen Phase lassen sich verschiedene Chromatographieverfahren unterscheiden:

- gasförmig/flüssig
- flüssig/flüssig
- gasförmig/fest
- flüssig/fest.

Die ersten beiden Verfahren sind Verfahren der Verteilungs-Chromatographie, die beiden letzten Verfahren der Adsorptions-Chromatographie.

Bei der Verteilungs-Chromatographie basiert die Trennung von Stoffgemischen auf der unterschiedlichen Löslichkeit der zu trennenden Komponenten in der stationären Phase. Je löslicher eine Substanz in der stationären Phase ist, umso stärker die Retention in der stationären Phase und umso langsamer die Fließbewegung in der mobilen Phase. Ist eine Substanz hingegen in der stationären Phase schwer löslich, wird sie von der mobilen Phase schneller mitgeführt.

Bei der Papierchromatographie besteht die stationäre Phase aus dem Wassermantel der Zellulosefasern des Papiers (aufgenommen durch den Wasserdampf der Atmosphäre), und die mobile Phase aus einem organisches Fließmittel.

Substanzen mit einer großen Affinität zu Wasser (polare Substanzen) haften besser an der stationären Phase und fließen langsamer.

Nicht polare Substanzen mit einer geringen Affinität zu Wasser fließen in der mobilen Phase schneller.

Durch das Papier, das bei der Trennung von Stoffen ebenfalls eine Rolle spielt, können bei der Trennung auch Adsorptionsphänomene auftreten. Der Fließbewegung der mobilen

Phase kommt durch Kapillarkräfte (aufsteigende Chromatographie) oder Schwerkraft (absteigende Chromatographie) zustande.

### Berechnung des Rf-Wertes

Jede Substanz legt unter gleich bleibenden Versuchsbedingungen eine bestimmte, für sie charakteristische Laufstrecke zurück. Durch Division der von jeder Substanz zurückgelegten Laufstrecke durch die Laufstrecke der mobilen Phase erhält man den Wert Rf.

$$R_f = \frac{\text{Laufstrecke der Substanz}}{\text{Laufstrecke der mobilen Phase}}$$

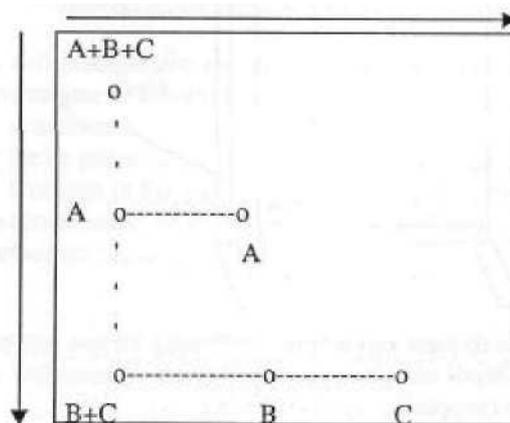
Zur Identifizierung der Substanz vergleicht man die Rf-Werte oder führt einen direkten Vergleich mit Vergleichssubstanzen durch. Unter identischen Versuchsbedingungen wird eine Substanz immer dieselbe Laufstrecke zurücklegen (bzw. denselben Rf-Wert haben).

### Zweidimensionale Chromatographie

Bei der ersten Trennung mit einem bestimmten Fließmittel kann sich herausstellen, dass manche Substanzen sich mit derselben Geschwindigkeit fortbewegen und somit auf ein und derselben Höhe Flecken bilden. In diesem Fall kann eine zweite, rechtwinklig zu ersten erfolgende Trennung mit einem anderen Fließmittel durchgeführt werden. Die unterschiedlichen Stoffe werden dabei in Form von Flecken über die gesamte Oberfläche des Blattes verteilt.

Anmerkung: Nach der ersten Trennung muss das Blatt getrocknet werden, um alle Spuren des ersten Fließmittels zu beseitigen.

#### 2. Trennung mit Hilfe eines Fließmittels Y



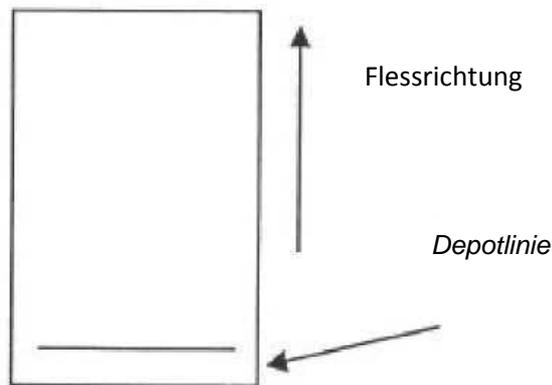
#### 1. Trennung mit Hilfe eines Fließmittels X

### 3. Vorbereitung/Versuche

#### 3.1 Aufsteigende Chromatographie

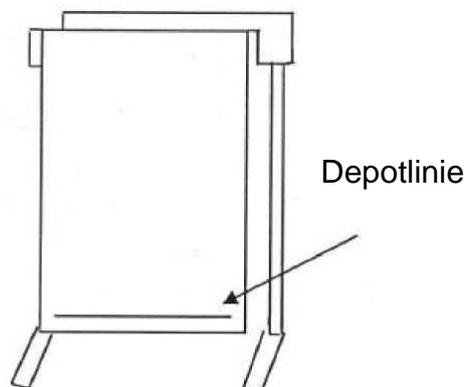
Das Fließmittel in die Trennkammer gießen; der Boden des Behälters sollte gut bedeckt sein. Die geschliffenen Kanten des Deckels leicht einfetten. Den Behälter mit dem Deckel verschließen und etwa eine Stunde lang stehen lassen (je nach Art des Fließmittels ist die

Ruhezeit unterschiedlich), damit sich die Trennkammer mit Fließmittel sättigt. Mit einem Stift in etwa 2 Zentimeter Abstand vom Blattrand eine Linie auf das Chromatographie-papier zeichnen, die rechtwinklig zur Fließrichtung verläuft.



Diese Linie darf nicht mit dem Fließmittel in Berührung kommen; das Papierende hingegen hängt im Fließmittel.

Mit einer Pasteur-Pipette oder einer Mikropipette (Kapillar) etwas Filtrat aufnehmen und mit einer möglichst geringen Menge Filtrat genau auf dem Strich platzieren. Den aufgetragenen Tropfen trocknen lassen (mit einem Fön lässt sich der Trocknungsvorgang beschleunigen). Diese beiden Vorgänge mehrmals wiederholen, dabei immer auf dieselbe Stelle tropfen. Ziel ist es, ein konzentriertes Depot mit möglichst geringer Ausdehnung anzulegen. Mehrere Schüler können gleichzeitig entlang der Linie zahlreiche Depots anlegen. Das Papierende falten, und das Papierblatt anschließend an den Haltern befestigen. Die Falte dient dazu, das Blatt über den Rand der Mulde zu hängen (siehe Abb. unten). Das Papier mit Briefklammern befestigen.



Das Papier muss so am Halter befestigt werden, dass das Papierende in das Fließmittel getaucht ist und die Depotlinie sich ungefähr 1 cm über der Oberfläche des Fließmittels befindet.

Das Ganze (Halter und Papier) in die Trennkammer stellen.

Die Trennkammer dabei nur möglichst kurz öffnen, damit sie mit dem Dampf des Fließmittels gesättigt bleibt.

### 3.2 Absteigende Chromatographie

Die Wanne auf die dafür vorgesehene Mulde auf dem Papierhalter schieben.

Die Wanne mit Fließmittel füllen.

Das Ganze in die Trennkammer stellen und mit dem geschliffenen Deckel hermetisch verschließen (die geschliffenen Kanten leicht einfetten).

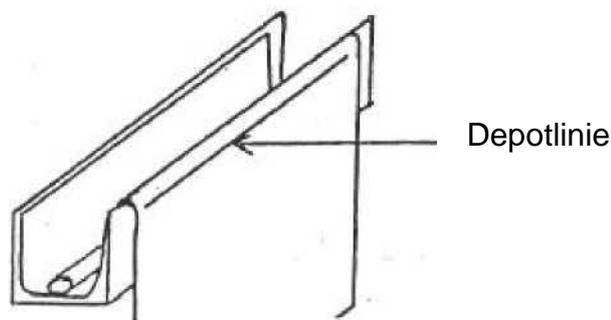
Mit einem Stift in etwa 5 bis 6 Zentimeter Abstand vom Blattrand eine Linie auf das Chromatographiepapier zeichnen, die rechtwinklig zur Fließrichtung verläuft.

Das zu analysierende Stoffgemisch auf die Depotlinie tropfen, wie im vorangehenden Abschnitt beschrieben (absteigende Chromatographie).

Das Blatt in die Trennkammer hängen, damit es sich mit dem Dampf des Fließmittels sättigt. Dabei darauf achten, dass dabei das Blatt nicht in direkten Kontakt mit dem flüssigen Lösungsmittel in der Wanne in Berührung kommt.

Um die Sättigung der Trennkammer zu beschleunigen, können Sie einen mit Fließmittel gefüllten Tiegel auf den Boden stellen.

Nach etwa einer Stunde Sättigungszeit das Papierblatt, wie im Folgenden dargestellt, in die Wanne einhängen.



Das Glasstäbchen in den Boden der Wanne auf das Papier legen, damit es sich nicht verschiebt. Sicherstellen, dass das Papier senkrecht in der Trennkammer hängt. Den Deckel wieder aufsetzen, und dabei darauf achten, dass die Trennkammer hermetisch verschlossen ist.

### 3.3 Abschluss der (aufsteigenden und absteigenden) Chromatographie

Die Laufstrecke des Fließmittels beobachten, und dabei die Entwicklung der Chromatographie verfolgen.

Das Fließmittel so weit wie möglich fließen lassen, um eine bestmögliche Trennung der Bestandteile des Stoffgemischs zu erzielen.

Nach dem Herausziehen des Papierblattes aus der Trennkammer und zur Berechnung des Rf-Wertes mit einem Stift schnell die Linie des Fließmittels einzeichnen (bevor es verdampft).

Die farblosen Flecken können durch ein geeignetes Reaktionsmittel sichtbar gemacht werden (in der Regel wird die Papieroberfläche damit bestäubt).

#### 4. Beispiel einer Versuchsdurchführung: Pigmenttrennung bei Roh-Chlorophyll

##### 4.1 Einführung

Roh-Chlorophyll ist kein einfaches Pigment.

Chlorophylle sind die an der Fotosynthese hauptsächlich beteiligten Pigmente. An fotochemischen Reaktionen sind sie immer beteiligt. Die Hauptchlorophylle sind Chlorophyll a und Chlorophyll b. Als Begleitfarbstoffe treten vorwiegend Karotin und Xantophylle auf. Diese Begleitfarbstoffe absorbieren manchmal bestimmte Strahlen, die an der Photosynthese aktiv beteiligt sind, aber vor allem Strahlen, die nicht von den Chlorophyllen absorbiert werden und diesen durch Fluoreszenz wieder zugeführt werden.

Die Zusammensetzung von Roh-Chlorophyll hängt von der Art der jeweiligen Pflanze ab (Bakterium, Alge oder höhere Grünpflanze).

##### 4.2 Prinzip

Die Pigmente grüner Pflanzenstoffe werden mit Alkohol extrahiert und dann durch eine Papierchromatographie getrennt. Die Pigmente des Roh-Chlorophylls absorbieren sämtliche Wellenlängen des sichtbaren Spektrums, sodass nach der Trennung keine Einfärbung der Flecken nötig ist.

##### 4.3 Hinweise vorab

- Die verwendeten Fließmittel sind sehr leicht entflammbar. Daher treffen Sie bitte alle zur Verwendung dieser Produkte notwendigen Vorsichtsmaßnahmen.
- **Chlorophylle sind lichtempfindlich** und durch pflanzliche Bestandteile, die während der Extraktion freigesetzt werden, leicht verderblich. Es empfiehlt sich, unter möglichst lichtarmen Bedingungen (Schutz vor Licht durch **undurchsichtige Behälter**) zu arbeiten und die Geschwindigkeit der chemischen Reaktion durch Kälte herabzusetzen.

##### 4.4 Protokoll

###### a) Extraktion

- Einige Brennnesselblätter (oder Spinatblätter) in einem Mörser mit Quarzsand und 3 bis 4 ml Alkohol zerkleinern.
- Filtern.

###### b) Chromatographie

Das Fließmittel besteht aus einer Mischung aus Petrolether (92 %) und Azeton (8 %). Das Azeton ist amphipolar und fungiert als stationäre Phase, da die zu trennenden Pigmente nicht wasserlöslich sind.

Führen Sie den Versuch durch, wie in den Kapitel 3.1 und 3.3 oder 3.2 und 3.3 beschrieben.

#### 4.5 Ergebnis

Das Karotin steigt am schnellsten, gefolgt jeweils von den Xantophyllen, Chlorophyll a und Chlorophyll b.

#### 5. Empfohlenes Zubehör

- Ersatz-Chromatographiepapier, Format 13 x 26 cm MT13158
- Ersatz-Chromatographiepapier, Format 52 x 52 cm MT13157
- Zerstäuber C.C.M. MT06871
- Mikropipetten, Kapillar, 2 µl MT06753
- Heißluftpistole (Fön) MT13238