

Chromatographie-Kit Säulenchromatographie



1. Beschreibung

Pädagogische Ziele

Die Chemie der Getränke: Trennung von Farbstoffen durch Säulenchromatographie. Material, welches die Auftrennung der Lebensmittelfarbstoffe - z.B. in Getränken mit Hilfe der Säulenchromatographie ermöglicht. Der Versuch kann innerhalb von 10 Minuten abgeschlossen werden.

Materialliste

a) Spritzen ohne Nadeln	10 Stück
b) Siliciumgel, Kieselgel 60	50 g
c) Tartrazin gelb E 102 in wässriger Lösung	50 ml
d) Patentblau E 131 in wässriger Lösung	50 ml
e) Azorubin rot E 122 in wässriger Lösung	50 ml
f) Probe eines grünen Farbstoffes: Mischung aus gelb + blau (60:40)	50 ml

Empfohlenes Zusatzmaterial

- Reagenzgläser, um die einzelnen extrahierten Fraktionen aufzufangen
- Elutionsmittel: Ethylalkohol 95°
- Minzesirup (grün) oder einen anderen Sirup je nach Komposition...

2. Prinzip

Chromatographie

Die Chromatographie ist als analytische Methode bei der Rückstandsanalytik von Pflanzenschutzmitteln, bei der Bestimmung von Aminosäuren in der biochemischen Analyse,

in der Umweltanalytik u.a. unverzichtbar; sie wird auch zunehmend im präparativen Maßstab angewandt.

Bezeichnend für physikalische Trennverfahren, bei denen die Stofftrennung durch Verteilung zwischen einer stationären und einer mobilen Phase geschieht. Die für die Trennung verantwortlichen physikalischen Vorgänge lassen eine grobe Einteilung der Chromatographie in zwei Hauptgruppen zu: erfolgt die Verteilung durch Adsorption an einem Feststoff (Adsorbens) als stationäre Phase, spricht man von Adsorptions-Chromatographie; wird die Stofftrennung durch den Lösevorgang in beiden, miteinander nicht mischbaren Phasen bestimmt, spricht man von Verteilungs-Chromatographie. Beide Trennprinzipien kommen im allgemeinen nicht rein, sondern im unterschiedlichem Maße gemischt vor. Eine weitere Einteilung ermöglicht die Kombination der Phasenzustände fest, flüssig und gasförmig für die mobile und stationäre Phase.

Im Verfahren der Gelfiltration wird als Trägermaterial z.B. ein Kieselgel verwendet, das nach chemischer Behandlung in Form kleiner sphärischer Partikel unterschiedlicher Porengröße vorliegt. Die Komponenten eines Substanzgemisches diffundieren nun unterschiedlich schnell in diese Partikel. Die Diffusionsgeschwindigkeit hängt von der Größe der Komponenten ab. Kleine Moleküle werden sehr schnell in die Partikel diffundieren, während größere Moleküle an ihnen vorbei gespült werden und damit schneller durch die Säule gelangen.

3. Vorbereitung

3.1. Vorbereitung der Säule

Der Körper der Spritze bildet die Entwicklungssäule. Jetzt wird eine Scheibe aus Filterpapier auf den Boden der Säule (Fritte) eingebracht. Die Fritte wird nun mit dem entsprechenden Gel regelmäßig gefüllt. Über das Trägermaterial wird als Abschluss noch einmal eine Scheibe aus Filterpapier gesetzt. Das feste Trägermaterial (stationäre Phase) in der Fritte wird nun vollständig mit einem Lösungsmittel (Alkohol) durchfeuchtet. Der unterhalb der Fritte eingesetzte Einweghahn muss bis zur Verwendung geschlossen bleiben.

3.2. Vorbereitung der Farbproben

Ausgehend von den Basisfarben blau, gelb und rot, präpariert man circa 1 ml eines Zweifarbgemisches. Man mischt soweit die entsprechenden Farben zusammen, dass man die gewünschten Farbnuancen erhält, z.B.: blau + gelb => grün; blau + rot => violett usw. Jetzt verdünnt man mit 4 ml destilliertem Wasser. Je größer die Quantität der Farbprobe ist, desto geringer ist die Qualität der Trennung. Nun wird das Gemisch auf das Material aufgetragen.

3.3. Vorbereitung einer Lebensmittelprobe

Bevor man die einzelnen Proben untersucht, ist es notwendig, dass man den Gehalt an Zucker reduziert: Zucker ist kaum in Alkohol löslich. Aus diesem Grund lässt man ihn auskristallisieren (5 -10 Minuten).

2 ml eines Sirups werden in ein Reagenzglas gefüllt. Man gibt 2 ml Ethanol hinzu. Jetzt rührt man dieses Gemisch vorsichtig; danach stellt man das Reagenzglas in Eiswasser. Innerhalb von 5 -10 Minuten setzen sich die Zuckerkristalle an den Wänden des Reagenzglases ab. 2 ml des Gemisches werden vorsichtig abpipettiert und mit 8 ml destilliertem Wasser verdünnt.

Es gibt noch eine andere Möglichkeit, den Zucker aus dem Gemisch zu entfernen: man verteilt eine dünne Schicht des Sirups auf dem Boden eines Becherglases. Man lässt das Becherglas mit Inhalt einige Zeit an der Luft stehen bis der Inhalt vollständig verdunstet ist. Nun gibt man Ethylalkohol auf den Absatz, um den größten Teil des Farbstoffes zu lösen. Da der Zucker nur sehr schwer in Ethanol löslich ist, wird er so aus dem Gemisch eliminiert.

4. Versuch

4.1. Trennung der Lebensmittelfarbstoffe eines Minzesirups

Lösungsmittel: Ethylalkohol 95°; 5 ml

Probe: grüner Minzesirup

Die Fritte (Säule) wird durch das Lösungsmittel (Alkohol) aktiviert. Mit Hilfe einer Pipette gibt man 3 - 4 Tropfen der Probe (das zu trennende Gemisch) auf die Säule. Zuerst tropft man in die Mitte, dann geht man spiralenförmig nach außen.

Lösung: man gibt nach und nach immer mehr Lösungsmittel hinzu, wobei darauf zu achten ist, dass die Probe nicht "wegschwimmt". Die Lösung des Gemisches vollzieht sich sehr langsam. Man beobachtet aber nach einiger Zeit eine Auftrennung der Bestandteile der Gemische. Die Komponenten eines Substanzgemisches diffundieren unterschiedlich schnell. Die Diffusionsgeschwindigkeit hängt von der Größe der Komponenten ab. Kleine Moleküle werden sehr schnell in die Partikel diffundieren, während größere Moleküle an ihnen vorbeigespült werden und somit schneller durch die Säule gelangen.

Beobachtung

Die Bestandteile trennen sich auf; die blauen und gelben Scheiben verschieben (staffeln) sich in der Säule. Falls man fortfährt, weiter Lösungsmittel in die Säule zu füllen, breiten sich die einzelnen Zonen weiter aus und man kann dann die unterschiedlichen Fraktionen auffangen: zuerst den Farbstoff gelb, dann blau.

4.2. Auftrennung der Farbstoffe eines Gemisches

- Mischung aus Patentblau und Tratrazin (gelb): Die Mischung der grünen Farbe kann als Vergleich für die Trennung der Minzefarbstoffe dienen.
- Mischung aus rot und Patentblau: Die Auftrennung ist weniger deutlich.