

## Dünnschichtchromatografie (DC) von Wein



### I PRODUKTUMFANG

#### 1.1 Zielsetzung

Mit Hilfe dieses Kits sollen die organischen Säuren des Weins analysiert werden: es soll überprüft werden, ob noch Äpfelsäure vorhanden ist und ob eine Apfelmilchsäuregärung stattfindet oder nicht.

#### 1.2 Übersicht

Dieser Test ist streng qualitativ und nicht quantitativ, da die Chromatographie eine Analysetechnik ist, die auf einer qualitativen Trennung beruht. Die jüngsten wissenschaftlichen Veröffentlichungen, die die ernährungswissenschaftlichen Qualitäten des Weins hinsichtlich ihrer „therapeutischen“ Wirkung hervorheben (wie oft in den Medien berichtet wird), rufen unter anderem folgende Fragen hervor: Ist der Wein mehr als ein alkoholisches Getränk? Was ist darin enthalten? Die Schüler sollten bereits mit dem Gärungsprozess vertraut sein, unter Umständen aufgrund des Produkts "Biologie der Hefen und Benutzung von gärenden Mikroorganismen in der Industrie", das sich zu Lehrzwecken damit auseinandersetzt. Die Auseinandersetzung mit entsprechenden Aufgabenstellungen erfolgt durch praktisches Arbeiten unmittelbar am Objekt und kann leicht durchgeführt, umgesetzt und interpretiert werden kann. Außerdem kann sie ergänzend zur Übung bzw. zum verbesserten Verständnis der Technik zur Trennung der Chlorophyllbestandteile behandelt werden (vgl. weitere Conatex-Angebote des Bereichs Biologie).

#### 1.3 Inhalt

- fünf Vergleichsproben: Weinsäure, Äpfelsäure, Bernsteinsäure, Zitronensäure, Milchsäure

Die Proben liegen als Pulver vor und müssen vor Gebrauch gemäß den Angaben auf den Fläschchen mit destilliertem Wasser verdünnt werden.

- Lösungsmittel: Ein Gemisch aus den zwei Flakons "Lösungsmittel 1" und "Lösungsmittel 2", insgesamt 100 ml.

## II VORBEREITUNGEN

### 2.1 Notwendiges Zubehör

- Siliziumplatte (50 x 100 mm) auf Aluminiumfolie (2 Platten je Arbeitsgruppe/ Partnerarbeit rechnen???)
  - Mikropipetten (5 µl) ([2013525](#))
  - Heißluftfön
  - destilliertes Wasser
- Anmerkung: dieser Versuch kann gleichermaßen mit Whatmann-Papier durchgeführt werden ([2013158](#)).

### 2.2 Zusätzliches Zubehör

- Trockenofen oder – kasten
- Klemme

### 2.3 Vorbereitung der Vergleichsproben

Jede Vergleichsprobe (bis auf eine) muss gemäß der Angaben auf den Fläschchen mit destilliertem Wasser verdünnt werden:

- 30 mg Zitronensäure werden in 60 ml destilliertem Wasser gelöst
- 30 mg Weinsäure werden in 10 ml destilliertem Wasser gelöst
- 10 ml Milchsäure (unverdünnt verwenden)
- 40 mg Äpfelsäure werden in 20 ml destilliertem Wasser gelöst
- 20 mg Bernsteinsäure werden in 20 ml destilliertem Wasser gelöst

### 2.4 Vorbereitung des Laufmittels

Die Inhalte der Fläschchen "Laufmittel 1" und "Laufmittel 2" werden vermischt. Daraus entstehen 100 ml Laufmittel, das mehrere Male (3-4 praktische Durchführungen) verwendet werden kann, aber innerhalb eines Monats aufgebraucht werden sollte. Die Produkte sollten lichtgeschützt aufbewahrt werden.

### 2.5 Vorbereitung der DC-Platten

Zuschneiden der Platten auf die benötigte Größe (abhängig von der Größe benutzten Kammer).

Eine Linie wird ungefähr 1 cm vom unteren Rand entfernt auf die Platte gezeichnet (Startlinie - Bleistift). Diese Linie wird nun in 4 Intervalle zerteilt um den Bereich zu skizzieren, wo die Proben aufgebracht werden. Vermeiden Sie es, die Platten mit den Fingern zu berühren. Es sollte eine Halterung benutzt werden. Trocknen der Kieselgelplatten im Ofen (100°C, 30 min).

## 2.6 Benutzung von Whatmann-Papier

Whatmann-Papier (Achtung: dieses Papier wird für den Lauf verwendet) wird in ein Quadrat (13 x 13 cm) zurechtgeschnitten. Es wird 2 cm vom unteren Rand des Blattes entfernt eine Linie gezogen, auf der die unterschiedlichen Substanzen mit 1,5 cm Abstand zueinander verteilt werden. Mittels einer feinen Pipette werden für jede Vergleichsprobe und die zu untersuchende Probe auf der Linie 3 bis 4 aufeinanderfolgende Proben aufgebracht. Der so vorbereitete und zu einem Zylinder gerollte Träger (die Ränder dürfen sich weder berühren noch in Kontakt mit dem Glas sein), wird mit der Basis in das Lösungsmittel getaucht, welches die mobile Phase enthält.

## III VERSUCH

### 3.1 Versuchsprinzip

Es handelt sich um eine Trennmethode: Verschiedene Substanzen wandern mittels eines Laufmittels (mobile Phase) durch eine Trägerschicht (stationäre Phase). Aufgrund ihres unterschiedlichen Löseverhaltens in dem Fließmittel wandern die Substanzen unterschiedlich leicht mit dem aufsteigenden Laufmittel. Ausgehend vom Startpunkt, wo die Mischung aufgebracht wird, steigt die Lösung aus Laufmittel und den unterschiedlich löslichen zu untersuchenden Stoffen durch die Kapillarkräfte in der DC-Platte auf. Eine Auftrennung erfolgt aufgrund des Gleichgewichts zwischen Diffusion in der Lösung und Adhäsion an der Träger-substanz. So erreichen verschiedene Substanzen ihre ganz spezifische Höhe, bis zu der sie mit der Laufmittelfront mitwandern und sich schließlich absetzen. Somit wandert jede Substanz auch mit ihrer eigenen Geschwindigkeit, die sich mit steigender Löslichkeit im Fließmittel erhöht.

Nach dem Trocknen zeigen die "Flecken", die mittels Entwicklerlösung (hier im Lösungsmittel enthalten: Bromphenolblau) sichtbar gemacht wurden, die unterschiedlichen Substanzen an. Diese Technik wird als aufsteigende Chromatographie bezeichnet. Interessante Ergebnisse lassen sich auch dadurch erzielen, dass parallel mit einem Weißwein und einem Rotwein gearbeitet wird und die unterschiedlichen Chromatogramme miteinander verglichen werden können.

### 3.2 Vorsichtsmaßnahmen

Nur die Basis des Whatmann-Papiers oder der CCM-Platte darf in das Lösungsmittel eingetaucht werden. Das Lösungsmittel wird in das Glas gegeben, um die Atmosphäre zu sättigen

#### **Achtung!**

Flüchtiges Lösungsmittel: das Behältnis muss luftdicht verschlossen sein, es darf sich keine Flamme in der Nähe befinden.

### 3.4 Vorgehensweise

Maximal 1 cm hoch wird das Fließmittel in die Chromatographie-Kammer gefüllt, so dass sich schließlich die auf die Platte skizzierte Start-Linie unter Laufmittel-Niveau befindet. Schließen des Deckels, 1 Stunde stehen lassen um die Atmosphäre der Chromatographie-Kammer zu sättigen.

Durchführung: Jeder Proben-Auftrag muss mit der Hilfe einer Mikropipette im Bereich der markierten Felder angebracht werden. Je Probentyp werden 3 Proben aufgetragen. Vor Auftrag jeder nächsten Probe wird mittels eines Heißluftföns getrocknet. Wichtig: Für jede Lösung muss eine eigene Mikropipette benutzt werden.

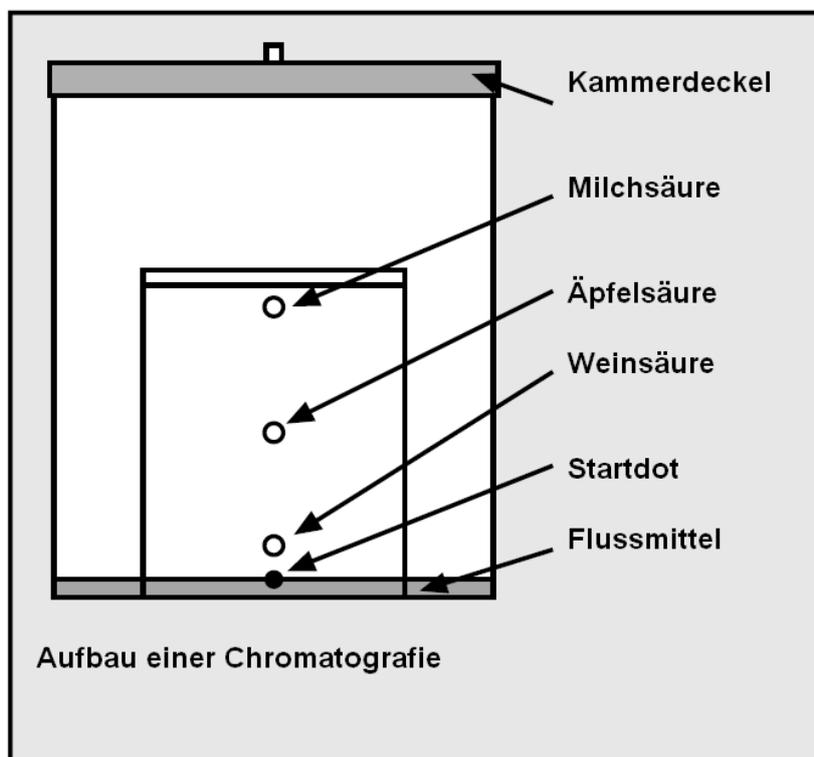


Abbildung 1

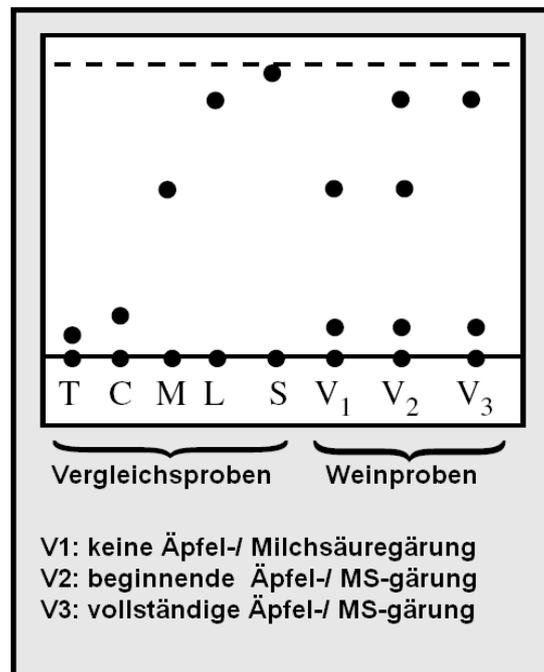


Abbildung 2

Die Platten sollen mit Hilfe einer Klemme oder Halterung zum Probenauftrag befestigt werden, Platten die bereits für die Chromatographie bereit sind, werden so in die DC-Kammer gestellt, dass die Höhe des Laufmittels die gezeichnete Linie am Boden der Platte nicht überstiegen wird.

Solange wandern lassen, bis das Laufmittel bis ca. 1 cm vor die höchste Stelle der Platte gelangt ist. Mit Whatmann-Papier ist die Wanderung langsamer (2-4 Stunden). Die Platten werden mit einer Zange entnommen und die Front des Laufmittels mit einem Stift markiert und an der Luft oder an einem warmen und trockenen Ort trocknen gelassen.

#### IV INTERPRETATION

Bei der Entwicklung verfärbt sich das Papier, zunächst gelb-grün, schließlich blau (Entwickler = Bromphenolblau). Die Flecken, die letztlich gelb erscheinen, zeigen die Säuren an. Aufgrund der geringen Zitronensäurekonzentration im Wein (50 - 100 mg/l) ist der Zitronensäure-Fleck meist kaum zu sehen. Die Weinsäure und die Bernsteinsäure (Fermentierungssäuren) können immer erkannt werden. Ob die Äpfelsäure und die Milchsäure sichtbar sind, hängt immer von dem Ablauf der Äpfel-/ Milchsäuregärung ab.

Beispiel ( s. auch Abbildung 1 )

- 1) deutlicher Äpfelsäurefleck, aber kein oder schwacher Milchsäurefleck: keine Äpfel-/ Milchsäuregärung
- 2) Vorkommen beider Flecken: laufende Äpfel-/ Milchsäuregärung
- 3) kein Äpfelsäurefleck, aber deutlicher Milchsäurefleck: abgeschlossene Äpfel-/ Milchsäuregärung

Dünnschichtchromatografie (DC) von Wein - Best.- Nr. 201.3310

## **V ZUBEHÖR**

- Bögen für die DC [10x10] ([200.7895](#))