

Organisch-chemisches Praktikum für das Lehramt (LA)

Torsten Lasse

Leitung: Dr. P. Reiß

WS 2008/09

Assistent: Tobias Gerhardt

**Schulversuch (Gruppe 12/Assistentenversuch):
Gewinnung und Extraktion von Blattfarbstoffen**

Blattfarbstoffe werden gewonnen und extrahiert (in einem zusätzlichen Versuch wurden die Extrakte chromatographisch aufgetrennt).

Zeitbedarf

Vorbereitung: 5 Minuten

Durchführung: etwa 20 Minuten (mit Dünnschicht-Chromatographie [DC]: 45 Minuten)

Nachbereitung: 5 Minuten

Chemikalien und eingesetzte Substanzen

Eingesetzte Stoffe	Summenformel	Menge	R-Sätze*	S-Sätze*	Gefahrenkennzeichnung*	Schuleinsatz*
Weihnachtsstern (<i>Euphorbia pulcherrima</i>)	-	etwa 3 rote und 3 grüne Blätter	-	-	-	- (unbedenklich)
Ethanol/Wasser-Gemisch 31:9	C ₂ H ₅ OH* H ₂ O	40 mL	11	7-16	F	SI
Petroleumbenzin	~	nach Bedarf	11-51/53-65	9-16-23.2-24-33-61-62	F, Xn, N	SI
n-Heptan	C ₇ H ₁₆	nach Bedarf	11-38-50/53-65-67	9-16-29-33-60-61-62	F, Xn, N	SI
Propanol	C ₃ H ₇ OH	1 mL	11-41-67	7-16-24-26-39	F, Xi	SI

* = nach HessGiss 2006/07

Geräte und Materialien

Mörser und Pistill

Schütteltrichter 500 mL und Plastikstopfen

Gastrichter, Filterpapier

4 Bechergläser oder Erlenmeyerkolben 50 mL

Pasteurpipette 2x (zur Auftragung der Substanz bei der DC)

DC-Kammer

DC-Karte(n)

Versuchsaufbau

~

Durchführung und Beobachtung

Gewinnung der Farbstoffe aus roten und grünen Blättern - Durchführung

Jeweils drei rote und grüne Blätter eines Weihnachtssterns wurden kleingeschnitten und nacheinander in einem Mörser zerrieben. Dazu wurden jeweils etwa 20 mL eines Ethanol/Wasser-Gemisches (31:9) gegeben (s. Abb. 1, s. Abb. 3).

Gewinnung der Farbstoffe aus roten und grünen Blättern - Beobachtung

Das Ergebnis war ein dünnflüssiges rotes (s. Abb. 2) bzw. grünes (s. Abb.4) Gemisch.



Abb. 1: Rote Blätter im Mörser



Abb. 2: Nach dem Mörsern



Abb. 3: Grüne Blätter im Mörser



Abb. 4: Nach dem Mörsern

Extraktion von Blattgrün mit Petroleumbenzin – Durchführung und Beobachtung

In einem an einem Gestellring angebrachten Schütteltrichter wurden 20 mL Petroleumbenzin vorgelegt. Im nachfolgenden Schritt wurde das rote Gemisch durch einen mit Filterpapier ausgelegten Trichter in den Schütteltrichter überführt. Beim Eintropfen des Gemisches in das Petroleumbenzin bildeten sich zwei Phasen aus; das eintropfende Gemisch bildete dabei die rötliche untere Phase und das Petroleumbenzin die obere, nahezu farblose Phase aus. Der Schütteltrichter wurde nun mit einem Plastikstopfen verschlossen, kräftig geschüttelt sowie entlüftet und für etwa 5 Minuten wieder im Gestellring abgestellt. Die obere Phase des Petroleumbenzins zeigte nun eine leichte gelb-grünliche Verfärbung (s. Abb. 5).

Der Vorgang wurde mit dem grünen Gemisch wiederholt. Abschließend zeigte sich hier in der oberen Phase eine grünliche Verfärbung (s. Abb. 6).



Abb. 5: Schütteltrichter mit rotem Gemisch/
obere Petroleumbenzin-Phase



Abb. 6: Schütteltrichter mit grünem Gemisch/
obere Petroleumbenzin-Phase

*Ergänzung: Chromatographie der Extrakte*¹

Auf eine DC-Platte wurden jeweils die beiden oberen Phasen mehrfach punktuell (wie üblich) nebeneinander aufgetragen. Das Laufmittel in der DC-Kammer bestand aus einem Heptan/Isopropanol/Wasser-Gemisch im Verhältnis 100:10:0,25. Nach etwa 15 Minuten konnte eine genügende farbliche Auftrennung der Substanzflecke beobachtet werden. Der Extrakt des grünen Gemisches (obere Phase!) lieferte grün-gelbliche, stark distinkte Banden – der Extrakt des rötlichen Gemisches (obere Phase!) zeigte ebenfalls etwa 3 Banden auf gleicher Höhe wie beim anderen Extrakt (s. Abb. 7). Der Versuch wurde dreimal wiederholt, die gezeigte chromatographische Auftrennung lieferte zwar leicht schiefe, dafür aber relativ gut erkennbare Banden.



Abb. 7: Chromatographie der Extrakte. Grüner Extrakt (links), roter Extrakt (rechts)

Entsorgung

Die Ansätze konnten nach vorhergehender Neutralisation im Lösungsmittelabfall entsorgt werden. Der Filtrerrückstand sowie die DC-Karten wurden getrocknet im Feststoffabfall entsorgt.

¹ An dieser Stelle wurde noch zusätzlich eine Chromatographie der Extrakte durchgeführt. Dieser weitere Versuch war kein Bestandteil des Assistentenversuches (!); der Vollständigkeit halber sollen die Ergebnisse jedoch kurz Erwähnung finden. Die Hintergründe zur Chromatographie wurden bereits im Protokoll „Natriumglutamat in Brühwürfeln“ thematisiert und werden daher in diesem Protokoll nicht behandelt.

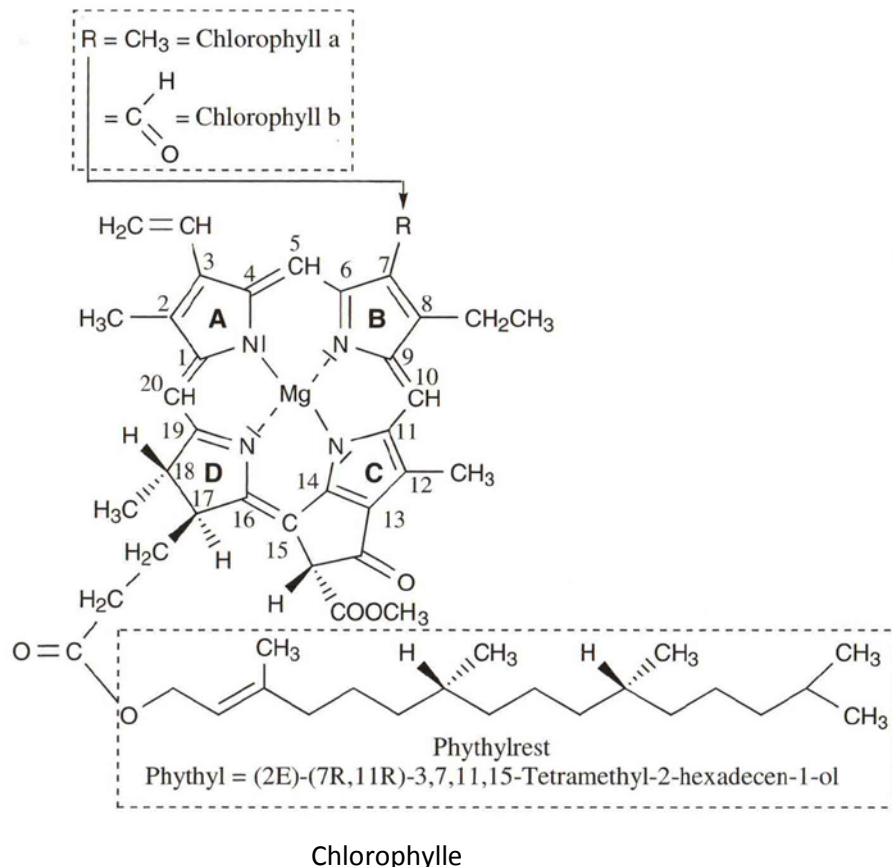
Fachliche Analyse

Im ersten Versuch werden Farbstoffextrakte aus den grünen bzw. roten Blättern hergestellt. Dabei werden die Farbstoffe mit einem geeigneten Lösungsmittel aus dem Pflanzenmaterial herausgelöst. Ein Gemisch aus Ethanol und Wasser eignet sich in diesem Versuch sehr gut zur Extraktion der grünen Farbstoffe der Blätter; aufgrund der Wasserlöslichkeit der roten Blattfarbstoffe (hauptsächlich Anthocyane) können damit auch gut die roten Blätter extrahiert werden. Ein erprobtes Mischungsverhältnis von 31:9 (Ethanol:Wasser) hat sich dabei als vorteilhaft erwiesen.

Im zweiten Versuch wurden die Gemische mit Petroleumbenzin versetzt. Durch Umschütteln im Schütteltrichter konnte das in der Ethanol/Wasser-Phase befindliche Blattgrün der grünen Blätter teilweise in die (obere) Petroleumbenzinphase extrahiert werden, woraufhin sich diese grün färbte. Die grüne Färbung der oberen Phase bei dem grünen Gemisch erwartbar. Zusätzlich war jedoch festzustellen, dass in der oberen Phase im Ansatz mit dem roten Gemisch nach dem Umschütteln ebenfalls eine zwar schwache, aber doch eindeutig gelb-grünliche Färbung aufgetreten ist. Somit konnte mit einer einfachen Methode aufgezeigt werden, dass **in roten Blättern ebenfalls Blattgrün** enthalten ist. Das auch hier vorhandene Blattgrün wird von den ebenfalls vorhandenen roten Anthocyanen vollständig überdeckt und kann hier erst durch eine Extraktion mit Petroleumbenzin „sichtbar“ gemacht werden.

Blattgrün, bzw. Chlorophylle, bezeichnet eine Gruppe von natürlichen Farbstoffen, welche in pflanzlichen Organismen ausgebildet werden. Die grüne Blattfarbe von Pflanzen (bzw. anderen Pflanzenteilen) resultiert v.a. aus dem Vorhandensein von Chlorophyllen. Hierbei handelt es sich um Chelat-Komplexe, die, als prosthetische Gruppe an Proteine gebunden, am Prozess der Photosynthese vorrangig beteiligt sind. Die Grundstruktur lässt sich von Chlorin, einem Porphyrin, ableiten. Obwohl der Ring D teilweise reduziert ist, liegt in den Chlorophyllen ein durchgängig konjugiertes System vor.

In Pflanzen können zunächst grob zwei bekannte Chlorophyllarten unterschieden werden: Chlorophyll a und Chlorophyll b.



Das blau-grünliche Chlorophyll a hat in Stellung 7 eine Methylgruppe, wohingegen das gelbgrünliche Chlorophyll b eine Formylgruppe besitzt. Weitere Substituenten in den β -Stellungen der vier Ringe sind bei beiden Chlorophyllen identisch. In der Stellung 3 befindet sich eine Vinylgruppe, in Stellung 8 eine Ethylgruppe und in Stellung 17 ein mit Phytol veresterter Propionsäurerest. In Stellung 2, 12 sowie 18 befinden sich zudem Methylgruppen. Weiterhin ist eine Methoxycarbonylgruppe (COOCH_3) an den Cyclopentanonring gebunden. In der Mitte ist über die vier Stickstoff-Atome Magnesium als Zentralatom gebunden. Der generelle Aufbau erinnert an das Hämoglobin, an Cytochrome oder das Myoglobin, welches als Zentralatom jedoch Eisen an Stelle von Magnesium gebunden haben.

Weiterhin unterscheidet man noch Chlorophyll c_1 , c_2 und d sowie verschiedene Bakterienchlorophylle, die sich teilweise in den angehängten Resten und Bindungen unterscheiden. Die unterschiedlichen Chlorophylle differieren in ihren Absorptionsmaxima.

Das Chlorophyll befindet sich in den Chloroplasten der pflanzlichen Zellen, genauer gesagt an den so genannten Thylakoidmembranen (Membransystem in Chloroplasten). Da die Bindung der Chlorophylle an ein Membranprotein (Chromoprotein) bereits unter relativ milden Bedingungen gelöst werden kann, reicht hierfür bereits die Einwirkung eines geeigneten Lösungsmittels.

Besonders gut löslich ist das Chlorophyll in organischen Lösungsmitteln, wie das hier verwendete Petroleumbenzin. Daher erklärt sich die erfolgreiche Extraktion des Blattgrüns in die Petroleumbenzin-Phase.

Die Chromatographie verdeutlichte, dass das Blattgrün ein Gemisch aus **mehreren verschiedenfarbigen Blattfarbstoffen** darstellt. Obwohl die Menge an Blattgrün im Extrakt der roten Blätter (der oberen, Petroleumbenzin-Phase der roten Blätter) geringfügiger ausfiel (lediglich schwache grün-gelbliche Färbung) konnte das blaugrüne Chlorophyll a und das gelbgrüne Chlorophyll b erkannt und mit der starken Färbung des grünen Extraktes verglichen werden (s. Abb. 7). Weiterhin ließen sich, v.a. im grünen Extrakt (der oberen, Petroleumbenzin-Phase der grünen Blätter) gelbliche oder schwach grünliche Banden feststellen, die auf Carotine, Phaeophytine, Lutein und Xanthine hinweisen. Im Extrakt der roten Blätter konnten diese Banden auch beobachtet werden, waren jedoch wesentlich schwächer ausgeprägt.

Die Ursache für die relativ schwache grünliche Farbe des roten Extraktes (der oberen, Petroleumbenzin-Phase der roten Blätter) scheint hier weniger ein Problem in der Durchführung des Versuchs zu sein als viel mehr eine geringere Eignung mancher (roter) Blätter bzw. Pflanzen für einen derartigen Versuch.

Methodisch-didaktische Analyse

Der Versuch findet eine sinnvolle Einordnung in der Jahrgangsstufe 7 im Rahmen der Einführung in chemische Arbeitsmethoden. Hierbei erwähnenswert sind die Extraktion, das Umschütteln, Ausbilden von Phasen sowie die chromatographische Auftrennung durch einfache Dünnschicht-Chromatographie. Der Versuch dürfte gerade Schüler in dieser Jahrgangsstufe interessant erscheinen, da hier auf eine detektivische Art und Weise naturwissenschaftliche Forschung veranschaulicht wird. Konkrete Fragestellungen („Ist Blattgrün auch in roten Blättern vorhanden?, „Besteht das uns sichtbare Blattgrün nur aus einem (grünen) Farbstoff?“) können die Motivation in diesem Versuch für die Schüler sinnvoll erhöhen.

Der chemische Aufbau des Chlorophylls kann in der entsprechenden Jahrgangsstufe vernachlässigt werden. Die Behandlung dieses Thema (mit Querverweis zur Biologie – Photosynthese) bietet sich erst in der Oberstufe an – auch hier erst bei der etwaigen Behandlung komplexer organischer Moleküle. Gegebenenfalls ist eine Einordnung in die Thematik der Farbstoffe in der Jahrgangsstufe 12 (Grund- und Leistungskurs) – je nach angestrebtem Unterrichtsschwerpunkt – sinnvoll.

Die Vor- und Nachbereitung erfordern jeweils etwa 5 Minuten, die Durchführung etwa 20 Minuten, bei zusätzlicher Chromatographie entsprechend mehr. Obwohl der Versuch in der Durchführung einfach ist und sich auch als Schülerversuch anbietet, sollte aufgrund des Zeitaufwandes eine komplette Einzelstunde eingeplant werden. Die verwendeten Materialien und Chemikalien sollten in jedem Schullabor vorhanden sein.

Scheinbar eignen sich die roten Blätter des Weihnachtssterns nur bedingt zur Extraktion des Blattgrüns. Die Ausbeute an Blattgrün bei der Extraktion war in diesem Versuch zwar ausreichend, aber nicht besonders hoch. Bei der Wahl einer geeigneten Pflanze mit roten Blättern bietet sich v.a. eine Vielzahl an Zierpflanzen an. Heimische Gehölze mit roten Blättern (etwa Blutbuchen) lassen den Versuch zum Teil sinnlos erscheinen, da die Äderung dieser roten Blätter oft von grünen Blattnerven durchzogen ist, sodass sich die Frage nach dem Blattgrün in roten Blättern bereits im Vorfeld des Versuches klärt.

Eine interessante Alternative wäre die Verwendung von Rotkohlblättern. Zukünftig sollten Versuche ein Austesten dieser Blätter für den Versuch mit einbeziehen.

Literatur

Mortimer CE: Chemie; 4. Auflage 1983, 1. Nachdruck 1986, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Taiz L, Zeiger E: Physiologie der Pflanzen; 2000, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin

Wollrab A: Organische Chemie; 2. Auflage 2002, Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York

Idee aus:

Hüttner A, Wiczorek R, Sommer K: „Rote Blätter und Fotosynthese“, in: Naturwissenschaften im Unterricht - Chemie, 18 (2007), Nr. 99, S. 16-17 (18)

Weitere Quellen:

Hessisches Gefahrstoffinformationssystem Schule; <http://www.hessgiss.de/>; Version 2006/07

Hessischer Lehrplan Chemie G8; unter <http://www.kultusministerium.hessen.de/>; Zugriff am 22.02.09