

WWW. KNIF**F**ELIX .DE

BEGLEITMATERIAL ZUR EXPERIMENTIERWEBSITE WWW.KNIFFELIX.DE ZUM THEMA

Von der Chromatografie bis zur Labor-HPLC



GEFÖRDERT DURCH

MERCK

ZIELGRUPPE

Alter ab 10–99+

Einzelinteressierte
Schulklassen
StudentInnen
Kooperierende

TUHH
Technische
Universität
Hamburg



www.kniffelix.de ist die kostenlose Mitmach-Experimentierwebsite, erstellt von der Nachwuchsinitiative KinderForscher an der TUHH. Ziel der Initiative ist, Wissenschaft, Technik und Forschung allgemeinverständlich für jeden zugänglich zu machen: Vom Alltag, über das Experimentieren zur Forschung und Berufsorientierung.

Kniffelix.de ist ausgezeichnet mit dem
Seitenstark Gütesiegel für empfehlenswerte digitale Kindermedien.

Dieses Material von KinderForscher an der TUHH
steht unter der internationalen CC-Lizenz Namensnennung
– nicht kommerziell – Weitergabe unter gleichen Bedingungen 4.0,
siehe: <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Autoren:

Franziska Roweder, Dr.-Ing. Bastian Kannengiesser
Julia Husung, Gesine Liese
Hamburg 2024

KinderForscher an der TUHH

Am Irrgarten 3-9, Gebäude Q, 21073 Hamburg
Tel. (040) 306014082
gesine.liese@kinderforscher.de
julia.husung@kinderforscher.de
www.kinderforscher.de

Eine Arbeitsgruppe von

Prof. Dr. Andreas Liese

¹Institut für Technische Biokatalyse

Denickestr. 15, Gebäude K, 21073 Hamburg
Tel. (040) 306013218
liese@tuhh.de
www.technical-biocatalysis.com

Förderer:

Wie bedanken uns bei Merck für das Fördergeld,
mit dem die Mitarbeitenden an diesem Thema finanziert wurden.

Chemie-Activity: Chromatografie und die HPLC

Hinweise zum Verständnis (für Pädagoginnen und Pädagogen):

-  Schwarzer Text bezieht sich auf Vorschläge, was Sie sagen könnten
-  **Roter Text markiert den Versuchsteil und gibt Hinweise zum Versuchsaufbau und -durchführung**
-  **Blauer Text kennzeichnet Kommentare, Hinweise sowie mögliche Antworten der Jugendlichen**

Hinweis auf

- Experimentierkiste
- Aufbau Kniffelix
- Vorgehen auf Kniffelix (Seitenleiste, durchklicken)

Versuch 1: Papierchromatografie von Filzstiften

Zur Versuchsdurchführung:

Die Filzstiftstriche sollten sich nicht berühren und auch zum Rand des Loches sollte ein Rand bleiben, da sonst die Ergebnisse verfälscht werden könnten.

Die Farbe im Laufmittel sollte noch nicht am Rand des Kreises angekommen sein, wenn die Schülerinnen und Schüler das Filterpapier aus dem Laufmittel nehmen, dann gibt es schönere Ergebnisse. Solange das Filterpapier noch nicht getrocknet ist, wandert das Wasser noch weiter und die Farben verändern sich noch.

Das Laufmittel steigt durch die Kapillarwirkung des Filterpapiers nach oben und nimmt dabei die verschiedenen Substanzen – je nach ihrer Polarität – unterschiedlich weit mit. Die Farben der Filzstifte werden in ihre unterschiedlichen Bestandteile zerlegt. Die verschiedenen Farbbestandteile werden unterschiedlich schnell und unterschiedlich weit befördert. So entsteht ein Chromatogramm mit verschiedenen Substanzflecken.

Das Prinzip Gleiches löst sich in Gleichem gilt auch hier für die Laufmittel Wasser versus Öl: Die Farbstoffe der Stifte sind gut in Wasser löslich, in Öl aber nicht oder nur schlecht. Deswegen kann man sie chromatografisch mit Wasser als Laufmittel trennen, mit Öl nicht.

Die Filzstiftfarben bestehen aus verschiedenen Grundfarbstoffen. Je nach Hersteller und Marke können unterschiedliche Mengen der einzelnen Grundfarben in einem Filzstift stecken.

Nach der Chromatografie kann man die einzelnen Farbstoffe wieder getrennt erkennen. Die Schülerinnen und Schüler sollen nun überlegen, warum dies so ist.

Die Farben, die wir in den Filzstiften sehen, können aus mehreren Farben zusammengesetzt sein. Sie sind die Anteile eines Lichtspektrums, die von einem Stoff reflektiert (zurückgestrahlt), also nicht absorbiert (aufgenommen) werden. Dies nennt man „subtraktive Farbmischung“. Bei der subtraktiven Farbmischung werden Teile des Lichts absorbiert und dadurch vom



ursprünglich vorhandenen Licht abgezogen (= subtrahiert). Das übrig gebliebene Licht bildet bei Überlagerung eine Mischfarbe aus den Primärfarben (Grundfarben). Die Primärfarben sind zum Beispiel in Druckerpatronen enthalten und heißen dort Magenta, Cyan und Yellow. Die Farbe auf der Oberfläche eines Gegenstandes hängt von der subtraktiven Farbmischung ab: durch Mischung der drei Primärfarben können alle Farben erzeugt werden. Die Grundfarbstoffe werden beim Mischen nicht zu einem neuen Farbstoff umgewandelt, sondern überlagern sich in der Mischfarbe. Wenn alle Grundfarben zu gleichen Anteilen gemischt werden, ergibt das Schwarz.

Tipp 1: Der Versuch mit Filzstiften und Baby-Öl dauert lange, die Schülerinnen und Schüler können zwischendurch auf www.Kniffelix.de ein Rätsel machen. Dorthin gelangen sie z.B. per QR-Code.

Tipp 2: In der Schule können auch zwei parallele Versuche (1x Wasser, 1x Öl) laufen, um Zeit zu sparen – die Parallelgruppen können ihre Ergebnisse danach zusammentragen und vergleichen. Falls keine Zeit bleibt, den Versuch mit Öl durchzuführen, können die Schülerinnen und Schüler sich in den Medien auf Kniffelix das Endergebnis des Versuchs mit Öl anschauen.

Versuch 1: Papierchromatografie von Filzstiften

Mit Hilfe der Chromatografie können Stoffgemische in ihre Bestandteile aufgetrennt werden. Wir haben schon festgestellt, dass ein schwarzer, wasserlöslicher Filzstift aus verschiedenen Farben bestehen kann. Dies wollen wir nun auch bei anderen farbigen Filzstiften untersuchen.

Benötigtes Material:

4 Filterpapiere (Macherey-Nagel, MN 640d, ø110mm, No. 42, Blauband)
2 Plastikbecher 200ml
wasserlösliche Filzstifte
1 Schere
1 Trichter (zum Zurückschütten des Öls)
Baby-Öl (ca. 150ml)
Leitungswasser

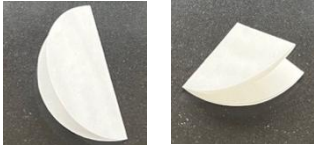
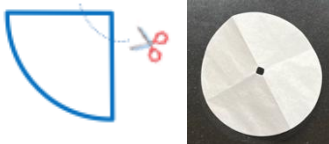
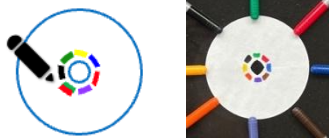


Aufgabe:

Was vermutest du, wie werden sich die Farben von Filzstiften verhalten, wenn sie mit Hilfe von Wasser oder Öl als Laufmittel transportiert werden? Finde heraus, welche Bestandteile in wasserlöslichen Filzstiftfarben enthalten sind.

Versuchsablauf:

Zunächst bereitest du den Versuchsaufbau vor. Du brauchst zwei Filterpapiere für den Versuch mit Wasser und zwei für den Versuch mit Baby-Öl.

- 
 Falte das Filterpapier zweimal in der Mitte, so dass ein Viertelkreis entsteht.
 
- 
 Für den Versuch mit Wasser: Schneide die Spitze so weit ab (3–4mm), dass in der Mitte ein Loch von ca. 1 cm Durchmesser entsteht. Entfalte den Kreis.
 
- 
 Suche dir verschiedenen Filzstifte aus und male Striche rund um das Loch. Lass ein wenig Platz zwischen den einzelnen Strichen. Du solltest auch etwas Abstand zum Loch lassen.
 
- 
Abwandlung: Wenn du Lust hast, kannst du auch verschiedene Filzstiftfarben mischen.
- 
 Rolle das andere Filterpapier zusammen und stecke es durch das Loch wie einen Strohhalm. Die Rolle sollte überall Kontakt zum anderen Filterpapier haben. Sie dient als „Docht“ oder Wassersäule.
 
- 
 Fülle den Becher zu $\frac{3}{4}$ mit Wasser und platziere die Filterpapierkonstruktion so darauf, dass die Rolle ca. 2 cm in die Flüssigkeit eintaucht. Das obere Filterpapier mit den Farbstrichen sollte keinen Kontakt mit Flüssigkeit haben.
 
- 
 Beobachte, was nun passiert, und notiere deine Beobachtungen im Versuchsprotokoll.
 
- 
 Warte, bis die Flüssigkeit fast bis zum Rand des bemalten Filterpapiers gewandert ist.
- 
 Entferne die Filterpapiere aus der Flüssigkeit und nimm sie wieder auseinander. Lass das Filterpapier für die besten Ergebnisse trocknen. Notiere die Ergebnisse im Versuchsprotokoll.
- 
 Wiederhole den Versuch mit Öl als Flüssigkeit. Tipp: Dabei sollte das Loch im Filterpapier so klein wie möglich sein, sonst dauert es sehr lang.
- 
 Gieße den Rest Öl abschließend durch den Trichter wieder in die Flasche zurück.
 

Tipp: Während du auf das Ergebnis des Versuchs mit Öl wartest, kannst du auf unserer Website www.kniffelix.de ein Rätsel zum Thema Chromatografie lösen.



Rätsel auf kniffelix.de

Versuchsprotokoll: Filzstifte auf ihre Bestandteile untersuchen

Was ist während der Wanderung der Laufmittel (Flüssigkeit) passiert? Wie sehen die Ergebnisse der Wanderungen aus? Worin unterscheiden sie sich? Notiere deine Beobachtungen im Versuchsprotokoll.

Wie sind Filzstiftfarben zusammengesetzt?

Bestehen die einzelnen Filzstiftfarben jeweils aus einer Farbe?			
Welche Farben kannst Du auf dem Filterpapier erkennen?			
Welche Filzstiftfarbe hat welche Farbbestandteile?			
Filzstiftfarbe:	1. Farbbestandteil	2. Farbbestandteil	3. Farbbestandteil
Welche Farbe wandert am langsamsten?			
Welche Farbe wandert am schnellsten?			
Welche Farbe wandert am weitesten?			
Mit welchem Laufmittel funktioniert der Versuch am besten?			

Hinweise für Lehrer:

Untersuchung von Stoffgemischen. Übertragung des Verfahrens auf Alltagssituationen. Unserer Erfahrung nach eignen sich die Überzüge von M&Ms am besten für diesen Versuch, die SuS können aber auch andere Schokolinsen ausprobieren.

Farbstoffmischungen

Die Farben, die wir sehen, sind die Anteile des Lichtspektrums, die von einem Stoff reflektiert (zurückgestrahlt), also nicht absorbiert (aufgenommen) werden. Schwarz erscheint uns etwas, das fast alle Farben absorbiert und fast keine reflektiert. Die Grundfarbstoffe werden beim Mischen nicht zu einem neuen Farbstoff umgewandelt, sondern überlagern sich in der gemischten Farbe, sodass man die Mischfarbe sieht. Die Farbpartikel haben unterschiedlich starke Haftungskräfte, weshalb sie an verschiedenen Stellen an dem Filterpapier oder an der Kreide hängen bleiben. Deswegen kann man sie danach wieder auftrennen.

Schlussfolgerungen

Die bunten Überzüge von Schokolinsen (M&Ms) sind gut in Wasser löslich, deswegen kann man sie damit gut extrahieren. Anschließend kann man sie chromatografisch trennen, z.B. in einem Stück Kreide oder mit einem Streifen Pappe.

Trennt man eine Mischfarbe, kann man die einzelnen Farbstoffe übereinander als Streifen erkennen. Dann weiß man, welche Farbstoffe in der Mischung enthalten sind.

Filzstifte und Schokolinsen haben verschiedene Grundfarbstoffe.

Versuch 2: Kreidechromatografie von Schokolinsen-Farben

Mit Hilfe der Chromatografie können Stoffgemische in ihre Bestandteile aufgetrennt werden. In diesem Versuch geht es um die Farben, mit denen Schokolinsen überzogen sind. Welche Farben sind in den Überzügen enthalten? Lassen sich diese ablösen und in Wasser auflösen? Lassen sie sich mit Kreide auftrennen?

Benötigtes Material:

4 Plastikbecher 200ml (3 Farben + 1 Mischfarbe)
Schokolinsen (am besten M&Ms, etwa 3 von jeder Farbe)
4 Tafelkreiden, eine pro Farbe (3 Farben + 1 Mischfarbe)
1 Teelöffel zum Umrühren und Entfernen der Schokolinsen
Leitungswasser



Aufgabe: Was vermutest du, wie werden sich die Farben von Schokolinsen verhalten, wenn sie mit Hilfe von Wasser aufgetrennt werden? Lassen sie sich mit Kreide auftrennen? Welche Bestandteile sind in den Farben von Schokolinsen enthalten?

Versuchsablauf:

Zunächst bereitest du den Versuchsaufbau vor. Du brauchst für jede Farbe einen eigenen Becher. Du verwendest (mindestens) dreimal reine Farben, und in einem anderen Becher mischst du dir die Farben von zwei Schokolinsen zusammen.

- Gib ein paar Schokolinsen in separate Becher, immer nur gleichfarbige zusammen.



- Gieße etwas Wasser hinzu (1 cm hoch) und rühre vorsichtig um, bis sich der Farbstoff von den Schokolinsen gelöst hat.
- Entferne nach Möglichkeit die Schokolinsen aus dem Wasser.

- Du hast nun Extrakte hergestellt, die alle wasserlöslichen Bestandteile aus der bunten Oberfläche enthalten.



- Stelle jeweils eine weiße Tafel-Kreide in die Flüssigkeit im Becher, sodass die Flüssigkeit in ihr hochsteigt.



- Beobachte, was nun passiert, und notiere deine Beobachtungen im Versuchsprotokoll.



- Wenn die Flüssigkeit fast bis zum oberen Ende der Kreide gestiegen ist, kannst du die Kreide herausnehmen.

- Vergleiche die verschiedenen Kreidestücke miteinander.

- Mische zwei verschiedene Schokolinsen (z.B. gelb und blau) und führe den Versuch erneut durch. Notiere die Ergebnisse im Versuchsprotokoll.



Tipp: Während du auf das Ergebnis des Versuchs wartest, kannst du auf unserer Website www.kniffelix.de ein Rätsel zum Thema Chromatografie lösen.



Rätsel auf kniffelix.de

Versuchsprotokoll: Kreidechromatografie – Schokolinsen-Farben auf ihre Bestandteile untersuchen

Was ist während der Wanderung der Laufmittel (Flüssigkeit) an der Kreide passiert? Wie sehen die Ergebnisse der Wanderungen aus? Worin unterscheiden sie sich? Notiere deine Beobachtungen im Versuchsprotokoll.

Welche Farben waren in der Mischung enthalten?

Bestehen die einzelnen Schokolinsen-Farben jeweils aus nur einer Farbe?			
Welche Farben kannst Du in der Kreide mit der Mischung aus zwei Schokolinsen-Farben wiederfinden?			
Welche Schokolinsen-Farbe hat welche Farbbestandteile?			
Schokolinsen-Farbe:	1. Farbbestandteil	(2. Farbbestandteil)	(3. Farbbestandteil)
Welcher Farbstoff wandert am weitesten nach oben?			
Sind die Farbstoffe die gleichen wie in den Filzstiften?			
Was passiert, wenn du zwei Farben mischst?			

Lehrerhinweise

- Das Filterpapier dient als Wassersäule.
- Hänge den Filterpapierstreifen so in den Becher mit dem Laufmittel, dass die Blattfarbe zunächst nicht mit der mobilen Phase (Wasser oder Isopropanol) in Berührung kommt.
- Das Laufmittel steigt nun durch die Kapillarwirkung des Filterpapiers nach oben und nimmt dabei die verschiedenen Substanzen unterschiedlich weit mit.
- Sicherheitshinweise für Isopropanol

Versuch 3: Grün ist nicht nur Grün – Chromatografie von Chlorophyll

Warum verändern Blätter im Herbst ihre Farbe, und woher kommen die Farben?

Pflanzen brauchen ihre grünen Farbstoffe nicht nur, um hübsch auszusehen, Chlorophyll spielt eine entscheidende Rolle bei der Photosynthese. Dabei wandeln Pflanzen Wasser und Kohlenstoffdioxid in Sauerstoff und Zucker um. Chlorophyll hilft dabei, das Kohlenstoffdioxid in der Zelle zu binden. Außerdem gibt es weitere Farbstoffe im Blatt. Nicht alle Blätter enthalten gleich viel von den verschiedenen Farbstoffen. Wenn die Blätter im Herbst gelb und rot werden, enthalten sie immer weniger Chlorophyll (grün) und irgendwann nur noch Carotin (orange/gelb) und Xanthophyll (rot/orange/gelb).

Der „Entdecker“ der Chromatografie, Michail Semjonowitsch Tswet, fand anhand der Blattfarbstoffe heraus, dass Stoffgemische in ihre Bestandteile aufgetrennt werden können. Das probieren wir in diesem Versuch aus.

Benötigtes Material:

- 1 Filterpapier (Industrie-Kaffeefilter weiß)
- 1 Plastikbecher 200ml
- 1 Plastikbecher 2cl
- 1 Schere
- Leitungswasser
- grüne Blätter (möglichst frisch und „saftig“)
- 1 Münze (am besten 1€ oder 2€, es funktioniert aber auch mit kleineren Münzen)
- 1 Bleistift
- 1 kleiner Trichter (zum Zurückschütten des Isopropanols)
- Isopropanol (ca. 15ml)
- Klebeband



Wenn keine grünen Blätter (mehr) an den Bäumen sind, muss eine Packung frischer Spinat, Rucola, Feldsalat etc. gekauft werden!

Aufgabe:

Was vermutest du, welche Bestandteile in grünen Blättern enthalten sind?

Wie werden sich die Farben von Blättern verhalten, wenn sie mit Hilfe von Wasser oder Isopropanol aufgetrennt werden?

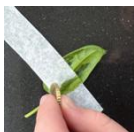


Sicherheitshinweise für den Umgang mit Isopropanol:

- Flüssigkeit und Dampf sind leicht entzündbar. Während der Verwendung gut lüften.
- Nur im Beisein von Erwachsenen verwenden.
- Bei Kontakt mit den Augen: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser spülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter spülen.
- Entsorgung: Kleine Mengen Isopropanol können über das Abwasser entsorgt werden.

Versuchsablauf:

Zunächst bereitest du den Versuchsaufbau vor. Du brauchst zwei Aufbauten, einen für den Versuch mit Isopropanol und einen für den Versuch mit Wasser.

-  Sammle ein paar Blätter (möglichst grün und „saftig“). 
-  Schneide das Filterpapier in lange Streifen. Du brauchst je einen Filterpapierstreifen für den Versuch mit Wasser und für den Versuch mit Isopropanol. 
-  Leg den Filterstreifen auf ein Blatt und rolle etwa 1,5 cm vom Ende des Streifens mit einer Münze darüber, so dass ein grüner Streifen entsteht. Wiederhole das an mehreren Stellen auf dem Blatt, bis der Streifen dick beschichtet ist. 
-  Befestige den Filterstreifen oben an einem Stift.
Tipp: Wenn du ihn mit Tesafilm festklebst, 
-  Schneide den Boden vom Plastikbecher ab und drehe ihn auf den Kopf.
-  Fülle Isopropanol in den kleinen Becher (etwa 1 cm hoch), beschrifte ihn und stelle ihn in den großen Becher. **Achte auf die Sicherheitshinweise!**
-  Wenn der Stift quer über dem abgeschnittenen Becher liegt, soll der Filterstreifen in das Isopropanol eintauchen, der grüne Streifen soll aber darüber bleiben. 
-  Beobachte wie die Flüssigkeit hochwandert, und entferne den Streifen erst, wenn nur noch klare Flüssigkeit und keine Farbstoffe mehr am Filterpapier hochwandern.
-  Notiere deine Beobachtungen im Versuchsprotokoll. 
-  Gieße den Rest Isopropanol abschließend durch den Trichter vorsichtig in die Flasche zurück. 
-  Wiederhole den Versuch mit Wasser als Laufmittel und notiere deine Beobachtungen.

Abwandlung: Wenn du Lust hast, kannst du auch andere Blattfarben (z.B. von Rotbuche oder Rotem Ahorn) untersuchen.

Tipp: Während du auf das Ergebnis des Versuchs wartest, kannst du auf unserer Website www.kniffelix.de ein Rätsel zum Thema Chromatografie lösen.



Rätsel auf kniffelix.de

Versuchsprotokoll: Blattfarbstoff auf seine Bestandteile untersuchen

Was ist während der Wanderung der Laufmittel (Flüssigkeit) passiert? Wie sehen die Ergebnisse der Auftrennung aus? Worin unterscheiden sie sich? Notiere deine Beobachtungen im Versuchsprotokoll.

Wie sind Blattfarben zusammengesetzt?

	mit Wasser	mit Isopropanol
Wie viele unterschiedliche Streifen kannst du erkennen?		
Welche Farben gibt es?		
Welche Farbe ist am meisten vorhanden?		
Mit welchem Laufmittel funktioniert der Versuch am besten?		