

1.5

Chromatographie

Chemikalien

| | | |
|--------------|--|----------------------|
| Ethanol | R: 11 S: 7, 16 | $K_p = 78\text{ °C}$ |
| Triethylamin | R: 11, 20, 21, 22, 35 S: 16, 26, 29, 36 | $K_p = 89\text{ °C}$ |
| Methylrot | S: 22, 24, 25 | |
| Fluorescein | S: 22, 24, 25 | |
| Kieselgel | S: 22 | |

- R 11: Leichtentzündlich
R 20: Gesundheitsschädlich beim Einatmen
R 22: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken
R 35: Verursacht schwere Verätzungen
- S 7: Behälter dicht geschlossen halten
S 16: Von Zündquellen fernhalten – Nicht rauchen
S 26: Bei Berührung mit den Augen gründlich mit Wasser ausspülen und Arzt konsultieren
S 22: Staub nicht einatmen
S 24: Berührung mit der Haut vermeiden
S 25: Berührung mit den Augen vermeiden
S 36: Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen

Skizze

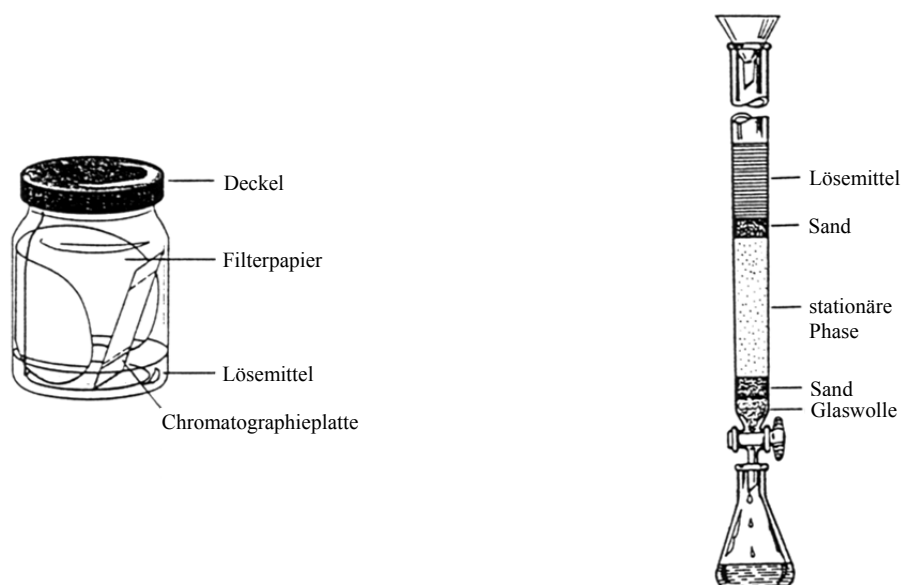


Abb. 1 Aufbau zur Dünnschichtchromatographie (links) und zur Säulenchromatographie (rechts). [1]

Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie (DC) ist eine einfache und schnelle Methode zur qualitativen Analyse und wird z.B. zur Überprüfung der Reinheit von Substanzen genutzt. Bei der Dünnschichtchromatographie verwendet man eine Glas-, Aluminium- oder Kunststoffplatte, die mit einer dünnen Schicht Adsorbens (stationäre Phase) bedeckt ist. Als Adsorbentien werden Aluminiumoxid, welches eher zur Trennung von unpolaren Substanzen verwendet wird, oder Kieselgel, welches eher bei polaren Substanzen benutzt wird, angewandt.

Etwa einen Zentimeter vom unteren Rand der Platte wird mit Bleistift eine Startlinie gezogen, auf der man in genügend großem Abstand die zu untersuchenden Substanzen als kleine Flecken mit einer Kapillare aufträgt. Bei der Durchführung der Chromatographie ist darauf zu achten, dass die Startlinie nicht in das Laufmittel eintaucht, in das die Platte gesetzt wird. Aufgrund der Kapillarkräfte steigt das Laufmittel (mobile Phase) hoch und nimmt dabei einzelne Komponenten der Proben mit. Wie weit die einzelnen Komponenten von der mobilen Phase mitgetragen werden, hängt von folgenden Aspekten ab: Die Wechselwirkung der Substanz mit dem Adsorbens bzw. mit dem Laufmittel (Elutropie des Laufmittels) steht in Konkurrenz zur Wechselwirkung des Laufmittels mit dem Adsorbens; ebenso spielt die Löslichkeit der Substanz im Laufmittel eine Rolle. Somit gilt: Je stärker die Wechselwirkungen zwischen Adsorbens und Substanz bzw. je schlechter sich eine Komponente im Laufmittel löst, desto langsamer steigt diese Komponente. Je größer die Wechselwirkung des Laufmittels mit dem Adsorbens, d. h. je mehr die Probe vom Laufmittel verdrängt wird, umso schneller wird die Substanz transportiert.

Der R_f -Wert, der Quotienten aus der Laufstrecke der Substanz und der Laufstrecke der Lösungsmittelfront, ist ein Maß für die Polarität der Substanz und u.U. bei standardisierten Bedingungen zur Identifizierung einer Substanz geeignet.

Manche Substanzen können nicht oder nur schwach gesehen werden; meist hilft zur Sichtbarmachung die Betrachtung unter UV-Licht, das Besprühen mit Jod, das Eintauchen in Kaliumpermanganat-Lösung usw.

Säulenchromatographie

Die Säulenchromatographie wird zur Trennung und Reinigung von Substanzen verwendet. Dabei finden die gleichen Laufmittel und Adsorbentien wie bei der Dünnschichtchromatographie Verwendung, ebenso gelten die gleichen Grundprinzipien, so dass man die aus der Dünnschichtchromatographie gewonnenen Erkenntnisse bei der Säulenchromatographie einsetzen kann. Zur Trennung verschiedener farbloser Substanzen müssen viele kleine Fraktionen aufgefangen werden, die anschließend, gegebenenfalls unter Zuhilfenahme der Dünnschichtchromatographie, analysiert werden müssen.

Durchführung

Die in Ethanol gelösten Substanzen Fluorescein und Methylrot wurden mit einer Kapillare in unterschiedlichen Konzentrationen auf verschiedenen DC-Platten (jeweils 2 x 7 cm groß) aufgebracht, ebenso wurden verschiedene Stifte getestet. Nach dem Trocknen der Substanzflecken wurden die Platten in einem mit Laufmittel versehenem 250 mL Weithalsverschraubdeckelglas gestellt (Abb. 1); das Filterpapier im Glas diente zur schnelleren Sättigung des Gasraumes mit Laufmittel. Als Laufmittel wurde mit 1% Triethylamin versehenes Ethanol benützt. Nachdem die Laufmittelfront eine einheitliche, vorher markierte, Höhe von 8 cm erreicht hatte, wurden die Platten dem Glas entnommen und getrocknet. Die sichtbaren Flecken wurden sofort markiert, das Fluorescein konnte unter UV-Licht ($\lambda=254$ nm) gesehen und markiert werden. Es ergaben sich folgende R_f -Werte:

| | |
|--------------|----------------|
| Methylrot: | $\approx 0,56$ |
| Fluorescein: | $\approx 0,48$ |

Der Einfluss der Konzentration auf die Trennwirkung ergab sich wie folgt: Je intensiver die Flecken, desto verschmierter wurden sie, bis hin zu einem „Laufband“, bei dem keine klare Aussagen mehr getroffen werden konnte.

Bei den Stiften wurde ebenso die Konzentrationsabhängigkeit der Trennwirkung beobachtet, d.h. je weniger Substanz, desto genauer war die Trennwirkung. Zudem konnte gesehen werden, dass eine Farbe sich aus verschiedenen Komponenten zusammensetzt, z.B. konnten bei einem grünen Stift drei unterschiedliche Grüntöne identifiziert werden.

Für die Säulenchromatographie wurde eine Säule hergerichtet (Abb. 1), wobei darauf geachtet wurde, dass das Adsorbens keine Blasen und Risse aufwies. Die Probelösung wurde mit einer Pipette auf das Adsorbens

aufgetragen, hernach erst die obere Sandschicht aufgebracht. Auch hierbei wurde mit 1% Triethylamin versetztes Ethanol als Laufmittel benützt.

Die erste Fraktion, das Methylrot, wurde in einem Kolben aufgefangen und durch Ansäuern mit etwas Salpetersäure nachgewiesen; das Fluorescein konnte aus Zeitgründen nicht mehr vollständig aufgefangen werden.

Das Methylrot ist ein Azofarbstoff. Durch die Azo-Gruppe und die funktionellen Seitengruppen tritt es mit dem polaren Lösemittel in Wechselwirkung und wird schneller als das Fluorescein transportiert, welches mit seiner Carbonsäure-, Hydroxy- und Keto-Gruppe stärker an das polare Kieselgel gebunden wird (Abb. 2).

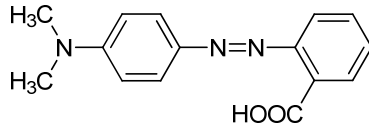
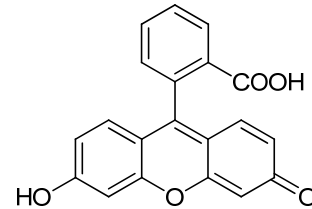


Abb. 2

Methylrot



Fluorescein

Literatur

- [1] Versuchsskript zum Praktikum.