

Versuch Dünnschichtchromatographie

1. Aufgabenstellung:

- Trennung eines Farbstoffgemisches aus Rhodamin B und Bromkresolgrün
- Trennung eines Aminosäuregemisches
- Quantitative Bestimmung von Coffein in Kaffee und Cola

2. Durchführung und Auswertung:

- Die Trennung der Farbstoffe erfolgte auf unterschiedlichen stationären Phasen und mit unterschiedlichen Laufmitteln. Die Ergebnisse sind auf den Trennstreifen zu sehen. Die Zuordnung der Farbstoffe war klar, da wir die Standards mit aufgetragen haben. Das unserer Meinung nach idealste Trennverfahren ist mit SiO_2 als fester und Methanol als flüssiger Phase. Dort vereinen sich kurze Analysenzeit, gute Trennung und scharfe Peaks. Nach steigender Polarität geordnet, ergibt sich für die benutzten Laufmittel: Hexan, Aceton, Ethanol, Methanol. Eine entsprechende Einteilung kann man auch für die stationären Phasen treffen. Demnach ist Aluminiumoxid die polarste Phase, dann folgt Siliziumoxid und dann die Cellulose. So kommen auch die Trennungsunterschiede auf Aluoxid und SiOxid zustande. Das polarere Bromkresolgrün verweilt lieber auf der polaren Phase Aluoxid als das unpolare Rhodamin B, weshalb es langsamer wandert. Die unpolare SiOxid Phase hält dem entgegen das unpolare Rhodamin stärker auf, als das polare Bromkresolgrün, das sofort wieder heruntergespült wird. Die unterschiedlichen Farben des Indikators sind auf die unterschiedlichen pH Werte der stationären Phasen zurückzuführen. Die Trennleistung der HPTLC Cellulose sollte eigentlich höher sein, als die der normalen Cellulose, da durch kleinere Korngrößen die Peaks und der HETP Wert kleiner werden sollten. Unser Versuch hat das aber nur zum Teil bestätigt. Die Peaks werden tatsächlich bedeutend schmaler. Die bessere Trennleistung ist allerdings nur in Aceton zu beobachten. Bei den drei anderen LM. ist die Trennleistung der HPTLC Cellulose=0, im Gegensatz zur normalen Cellulose, bei der eine ordentliche Trennleistung für Methanol und Ethanol und ansatzweise auch Aceton zu sehen ist.
- Die Trennung des Aminosäuregemisches erfolgte mit zwei unterschiedlichen Laufmittelgemischen und auch zweidimensional. Wir benutzten einmal 1-Butanol/Eisessig/Wasser (4:1:1) und zum anderen Phenol/Wasser (3:1). Mit beiden Einzeltrennungen war es nicht eindeutig möglich alle möglichen Aminosäuren zu erkennen bzw. auszuschließen. Erst mit Hilfe der zweidimensionalen konnten wir einigermaßen fundiert schlußfolgern. Anhand des Butanols waren lediglich Leucin zu sehen und Norvalin auszuschließen. Mit Hilfe des Phenol-Gemisches konnten wir noch Alanin, Serin und Asparaginsäure ausfindig machen sowie Threonin ausschließen. Anhand der zweidimensionalen Entwicklung konnte man noch Arginin hindeuten, das allerdings in der Phenol-Entwicklung als nicht in der Probe zu identifizieren ist. Mit letzter Sicherheit kann man da also nichts sagen.
- Für die Coffein-Bestimmung nutzten wir ein Densitometer, welches wir auf einer Platte zuerst 5 Standards an Coffein, dann drei Kaffeeproben und eine Colaprobe untersuchen ließen. Es zeigten sich aber schnell die Grenzen dieser Methode, denn für unsere Versuchsplatte bekamen wir sehr fehlerhafte Werte heraus. Wir nutzten daher eine vorgegebene Kalibriergerade (siehe Ausdruck), um die Konzentration an Coffein zu bestimmen. Wir erhielten einen Coffeingehalt in Kaffee von 1,29 g/l und in der Cola 0,13 g/l. Allerdings ist die Bestimmung nicht zuletzt dank aller Probleme, die wir damit hatten, sehr ungenau und nur ein grober Richtwert.