Isolierung von β-Carotin aus Paprikapulver

Chemie
Analytik/Stofftrennung

Darum geht's: Die Schüler sollen eigenständig aus handelsüblichem (roten) Paprikapulver eine kleine Menge β-Carotin in möglichst reiner Form isolieren.

Oberstufe

Vorwissen: Dünnschichtchromatographie, Beurteilung polarer und unpolarer Stoffe, Gleiches löst sich in Gleichem, Trennprinzip durch Adsorption

Zeitbedarf
2 Doppelstunden

Chemikalien
- reines β-Carotin (E 160) als Vergleichssubstanz
- Petrolether 40–60
- Diethylether
- Aceton
- n-Heptan
- Wasser
- rotes Paprikapulver
- DC-Fertigplatten 4 x 8 cm, Kieselgel Si60 F254
- Kieselgel (Si 60) in Pulverform

Material/Geräte
- Fön
- Marmeladengläser oder DC-Kammern
- 5-µl-Kapillaren zum Auftragen
- Pasteurpipetten aus Glas
- Watte
- Zellkulturplatten
- Eppendorf-Caps
- 100-ml-Scheidetrichter

So geht's los:
Der Lehrer oder ein Schüler stellt in einem Kurzvortrag β-Carotin als natürlichen Lebensmittelfarbstoff E 160 vor. Anschließend zeigt er rotes Paprikapulver als mögliche Quelle von β-Carotin vor und formuliert den Forschungsauftrag. Die Gruppen werden eingeteilt. Anschließend wird geklärt, dass alle Geräte der Chemieübung sowie die oben beschriebenen Materialien und Chemikalien benutzt werden können. Am Ende der 2. Doppelstunde muss jede Gruppe ein Produkt abgeben, das z. B. mittels HPLC auf Reinheit geprüft wird.

Forschungsauftrag

Isoliert eine kleine Menge an möglichst reinem β-Carotin aus rotem Paprikapulver.

So wird's leichter ...

- Strukturformel von β-Carotin präsentieren zur Abschätzung der Polarität.
- Zwei englischsprachige Veröffentlichungen austeilen, in denen eine DC-Methode zur β-Carotin-Identifizierung und eine Methode zur β-Carotin-Isolierung angegeben sind (siehe Literaturangabe).
- Internetfähige Rechner zur Recherche zur Verfügung stellen.

Das steckt dahinter ...

Die Schüler müssen als erstes erkennen, dass β-Carotin ein sehr unpolarer Stoff ist, der sich gut in unpolaren Lösemitteln wie Petrolether und n-Heptan lösen wird. Dazu müssen sie zuerst das rote Paprikapulver mittels Dünnschichtchromatographie analysieren. Eine geeignete Methode recherchieren sie im Internet oder aus den englischsprachigen Veröffentlichungen. Anschließend muss herausgefunden werden, welche der zahlreichen roten und gelben Banden (siehe Abb. oben) dem β-Carotin entspricht, indem sie reines β-Carotin als Vergleichssubstanz auf der DC mitlaufen lassen.
Nun muss das β-Carotin isoliert werden. Dazu kann man die β-Carotin-Bande auf der DC „abkratzen" und wieder in Lösung bringen, um das Kieselgel abzutrennen. Ein anderer Weg wäre, mittels Säulenchromatographie

mit einer selbst gebauten Säule (Kieselgel in Glaspasteurpipette, in der sich unten ein bisschen Watte befindet oder in einer 1-ml-Tuberkulinspritze) das Paprika-Pulver mit n-Heptan zu säulen und unten die verschiedenen Fraktionen z. B. in einer Zellkulturplatte aufzufangen (man weiß dann von der DC, wo das β-Carotin läuft und kann es entsprechend rein auffangen).

Tipps und Tricks

Es ist hilfreich, wenn die Schüler im Vorfeld einmal Blattfarbstoffe mittels Dünnschichtchromatographie getrennt haben (siehe Akademiebericht Nr. 475, 03_CM_DC_Fotometrie_Blattfarbstoffe).
Die oberste, gelb-orange Bande bei der DC ist das β-Carotin (s. Abb. vorherige Seite)!

So geht's auch ...

Man kann auch β-Carotin aus grünen Blättern, Karotten oder Kaki-Früchten isolieren oder die Aufgabenstellung ganz offen lassen und den Schülern nur vorgeben, dass sie β-Carotin aus Pflanzenmaterial isolieren sollen, wobei sie dann erst recherchieren müssen, welche Pflanzen β-Carotin-haltig sind.

So geht's weiter ...

Schüler vorstellen lassen, wie sie vorgegangen sind und am Ende einen gemeinsamen Weg Schritt für Schritt finden, wie man Reinstoffe aus Pflanzenmaterial sinnvoll isolieren kann.
Weitere analytische Methoden durchsprechen, z. B. HPLC (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie), um β-Carotin-Gehalt in Paprikapulver zu bestimmen.

Weg damit ...

Fließmittel im organischen Abfall entsorgen, DC-Platten und Kapillaren in den Restmüll, Kieselgel in den anorganischen Feststoffabfall geben.

Da haben wir's gefunden ...

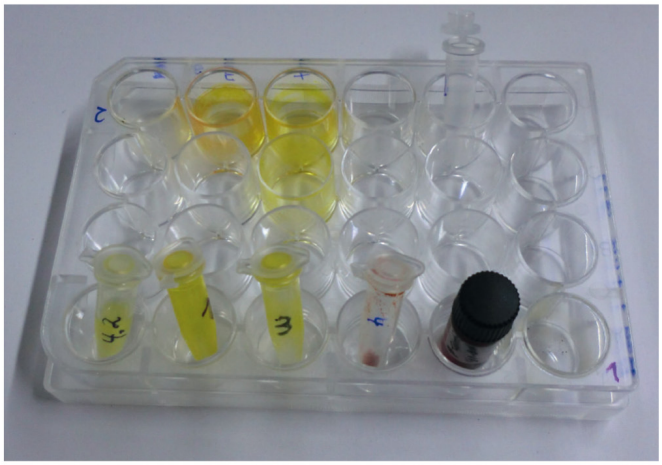
Englischsprachige Paper:
– Isolation of chlorophyll and carotenoid pigments from spinach
http://voh.chem.ucla.edu/vohtar/spring03/classes/14CL/pdf/14clisol.pdf (abgerufen am 13.5.14)
– Validated TLC-densitometric analysis for determination of carotenoids
in fancy carp (Cyprinus carpio) serum and the application for
pharmacokinetic parameter assessment
http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/journal/30-6/0125-3395-30-6-693-700.pdf (abgerufen am 13.5.14)

So lief's bei mir (Erfahrungsbericht der Lehrkraft)

Die Schüler meines W-Seminars „Naturstoffanalytik", die in 4 Gruppen aufgeteilt waren, haben diese Aufgabe ganz unterschiedlich begonnen. Ein Großteil recherchierte im Internet oder las die ausliegenden Paper, versuchte dann, mittels DC das β-Carotin zu identifizieren. Anschließend bauten sich zwei Gruppen eine kleine Kieselgelsäule, gaben oben auf die Säule Paprikapulver auf und ließen dann n-Heptan als Fließmittel durch die Säule laufen. Die gut zu erkennenden Banden fingen sie getrennt auf, identifizierten die Probe mit dem β-Carotin mittels DC und gaben diese Probe in einem Eppendorf-Cap ab.
Eine andere Gruppe löste das Paprikapulver einfach in einem organischen unpolaren Lösemittel (z. B. n-Heptan) auf, pipettierte die rotorange gefärbte Lösung ab und ließ sie auf einem Uhrglas eindampfen. Diesen Schülern war nicht klar, dass ein Naturstoffextrakt nicht nur aus einem Reinstoff besteht, auch wenn die Farbe darauf schließen lässt, sondern ein Vielstoffgemisch ist.

Eine andere Herangehensweise war das Ausschütteln von in n-Heptan gelöstem Paprikapulver gegen Wasser in einem Scheidetrichter und anschließender Trennung der Phasen.

Das waren $K_R E^A T_I V^E$ Schülerprodukte:
Die verschiedenen Lösungswege der Schüler sind allesamt sehr kreativ, da im Vorfeld kein Musterfahrplan zur Isolierung von Naturstoffen besprochen wurde. Somit mussten die Schüler eigenständig einen geeigneten Weg finden.



Die Ergebnisse der ß-Carotin-Isolierung der vier Gruppen.
Foto: M. Dreyer