

Name:

Datum:

Brillantblau – Chromatographie und Fotometrie

I. Identifizierung des Farbstoffes in blauen M&Ms durch Dünnschichtchromatographie

Geräte

DC-Karten (Kieselgel), Glas mit Deckel (DC-Kammer), Kapillare, Messzylinder, Pinzette

Materialien

Blaue M&Ms, Brilliantblau (E 133), Methylenblau, Indigocarmin (E132) (Stammlösungen), dest. Wasser, Methanol

Sicherheits- und Entsorgungshinweise

Bei der Durchführung der Versuche herrscht Ess- und Trinkverbot. Nach Beendigung der Versuche werden getragene Handschuhe in den Müll entsorgt und in jedem Fall gründlich die Hände gewaschen.

Das Laufmittel wird in einem dafür vorgesehenen Behälter gesammelt und nicht in den Ausguss gegeben.

Methanol

H:225-331-311-301-370



Durchführung

1. Markiere 1 cm vom Rand entfernt eine Startlinie auf der DC-Karte und markiere mit einem Bleistift Punkte zum Auftragen der Probelösung eines M&Ms und der Referenzsubstanzen + M&M (*um die Matrixeffekte zu kompensieren wird die Referenzlösung mit dem M&M zusammen aufgetragen; Co-Injektion*).
2. Löse einen M&M in wenig Wasser. Achte darauf, dass du den M&M herausnimmst, bevor die Lösung trübe wird! Filtrierte die Lösung bei Bedarf durch einen Faltenfilter. Tüpfle die blaue Lösung mit Hilfe der Kapillare 2 x auf alle Punkte der DC-Karte (*die Flecken sollen deutlich sichtbar, aber noch klein sein*).
3. Tüpfle anschließend einmal die Referenzsubstanzen auf.
4. Gib 6 mL Methanol und 4 mL Wasser (Methanol:Wasser 60:40) als Laufmittel in die DC-Kammer. Stelle die DC-Karte hinein und lege den Deckel auf das Glas.
5. Wenn das Laufmittel etwa 1 cm vom oberen Rand entfernt ist, nimm die DC-Karte mit Hilfe einer Pinzette heraus, markiere sofort die Laufmittelfront und lass sie trocknen.
6. Vergleiche die Lage der Flecken und bestimme die R_f-Werte.
(R_f-Wert = Strecke des Probefleckes / Strecke bis Laufmittelfront)

Fotometer:

Brillantblau

Was kannst Du beobachten?

Berechne die Rf-Werte:

Rf-Werte:

M&Ms	Brillantblau (E133)	Methylen- blau	Indigocarmin (E132)

Auswertung:

Welcher Farbstoff ist in M&Ms enthalten?

Fotometer:

Brillantblau

Name:	Datum:
--------------	---------------

II. Absorptionsspektrum von Brillantblau

Geräte

Fotometer, Küvetten, 2-3 Bechergläser (200 mL), Trichter, Faltenfilter

Materialien

Brillantblau (Stammlösung, 2×10^{-5} mol/L; 15,8 mg/L, $M=792$ g/mol), dest. Wasser

Durchführung

1. Nimm das UV-Vis-Spektrum einer Brillantblau-Lösung und einer Lösung von M&Ms in Wasser auf. Falls die M&M-Lösung trübe ist, filtriere sie durch einen Faltenfilter.
2. Gehe dabei nach der Anleitung für das Fotometer vor. Die einzelnen Messbereiche sind 550 nm und 650 nm.
3. Am Ende der Messungen erhältst du dann ein Übersichtsspektrum von 500 nm bis 700 nm.

Wellenlängenbereich	Lokales Absorptionsmaximum von Brillantblau	Lokales Absorptionsmaximum von M&Ms
500 nm – 600 nm		
600 nm – 700 nm		

Skizziere die Übersichtsspektren:

Auswertung

Absorptionsmaximum von Brillantblau:

Absorptionsmaximum von M&Ms:

Bei welcher Wellenlänge kannst du Konzentrationsbestimmungen des blauen Farbstoffes in M&Ms durchführen und warum?

Fotometer:

Brillantblau

3. Wiege einen M&M und notiere dir sein Gewicht. Behandle diesen einen M&M mit 25 mL Wasser (Pipette) und filtriere, falls notwendig, die entstandene Lösung. Miss von dieser Lösung ebenfalls die Absorption bei 627 nm.

Masse M&M: _____

Abs. (627 nm): _____

4. Bestimme mit Hilfe der Kalibriergeraden die Konzentration an Brilliantblau in einem blauen M&M und berechne auch die Konzentration an Brilliantblau pro Gramm in einem M&M.

Auswertung:

Konzentration Brilliantblau in der Probelösung:	_____	mol/L
Menge Brilliantblau in 1 M&M:	_____	mol/M&M
	_____	mg/M&M
Menge Brilliantblau in 1 g M&M:	_____	mg/g M&M

Name:	Datum:
--------------	---------------

IV. Reaktionskinetik der Entfärbung von Brillantblau aus M&Ms

Geräte

Fotometer, Küvetten, PET-Pipetten, Bechergläser (100 mL), Messzylinder, Trichter, Wasserbad, Erlenmeyerkolben (100 mL), Magnetrührer mit Heizplatte, Faltenfilter, Thermometer, Reagenzgläser

Materialien

Blaue M&Ms, destilliertes Wasser, Natronlauge (0,75 mol/L; 1,0 mol/L oder 1,5 mol/L)

Durchführung

1. Stelle die Heizplatte auf 75 °C ein und stelle ein großes Becherglas mit Wasser darauf. Miss nach einiger Zeit die Temperatur, sie sollte konstant bei etwa 50 °C liegen.
2. Zur Herstellung der Brillantblau-Lösung löse 4 blaue M&Ms in 50 mL Wasser. Falls die Lösung trübe ist, filtriere sie durch einen Faltenfilter.
3. Erwärme 40 mL der Brillantblau-Lösung in einem Erlenmeyerkolben, 10 mL der Natronlauge und 10 mL dest. Wasser in je einem Reagenzglas separat im Wasserbad, bis sie 50 °C erreicht haben.
4. Führe am Fotometer die Kalibrierung mit dem 50°C warmen Wasser bei 627 nm durch.
5. Gib dann 10 mL Natronlauge in den Erlenmeyerkolben mit der Brillantblau-Lösung und starte die Stoppuhr. Nimm sofort eine 2,5 mL-Probe und miss schnell ihre Absorption (Wert für t_0) bei 627 nm. Trage die gemessene Absorption in die Tabelle ein.
6. Entnimm zu den in der Tabelle angegebenen Zeitpunkten weitere 2,5 mL-Proben und vermiss diese sofort im Fotometer.

Messwerte und Berechnungen:

$c_{\text{NaOH}} = \text{--- mol/L}$

t [min]	A_{627}	Konzentration Brillantblau [mol/L]	1. Ordnung: ln Konzentration (Bril- lantblau)	2. Ordnung: Term siehe *
0				
2				
4				
6				
8				
10				
12				
14				
16				
18				
20				
22				
24				
26				
28				
30				

$$*: \frac{1}{(c_{\text{NaOH}}^0 - c_{\text{Brillantblau}}^0)} \times \ln \frac{c_{\text{Brillantblau}}^0 (c_{\text{NaOH}}^0 - c_{\text{Produkt}})}{c_{\text{NaOH}}^0 (c_{\text{Brillantblau}})}$$

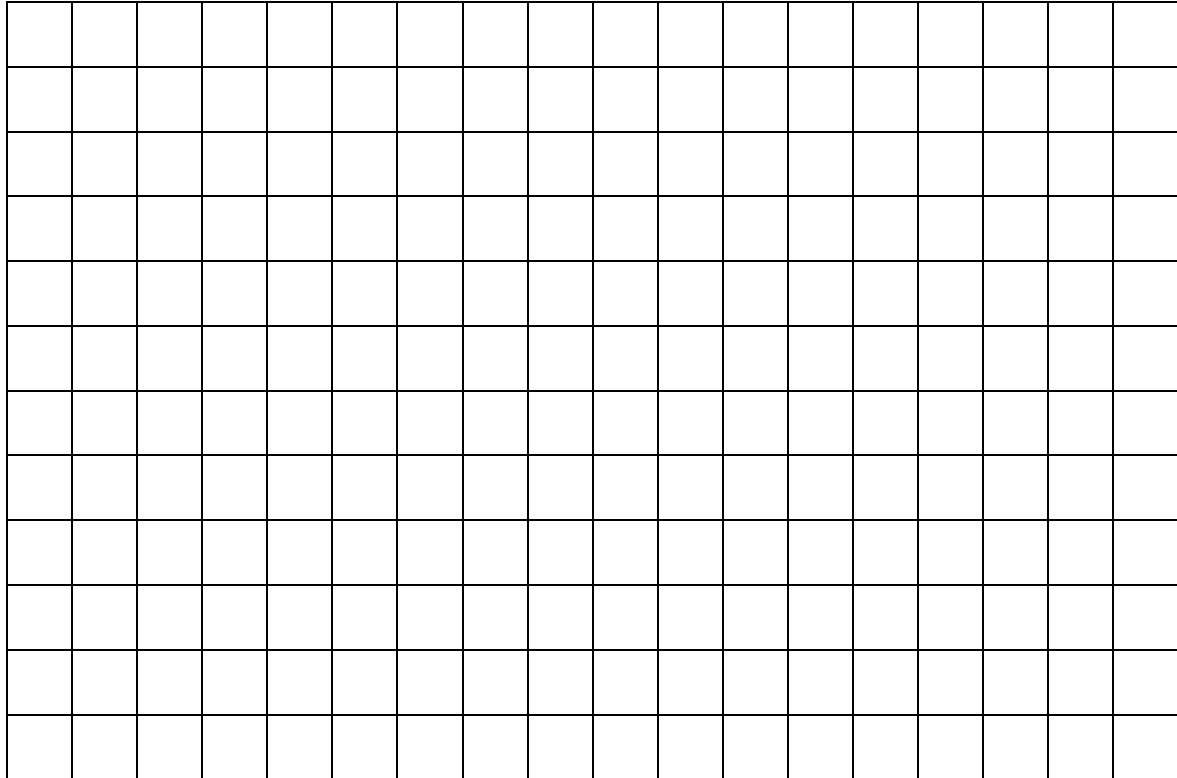
$$c_{\text{Produkt}} = c_{\text{Brillantblau}}^0 - c_{\text{Brillantblau}}$$

c^0 : jeweils Ausgangskonzentrationen

c: Konzentrationen zum Zeitpunkt t

Auswertung:

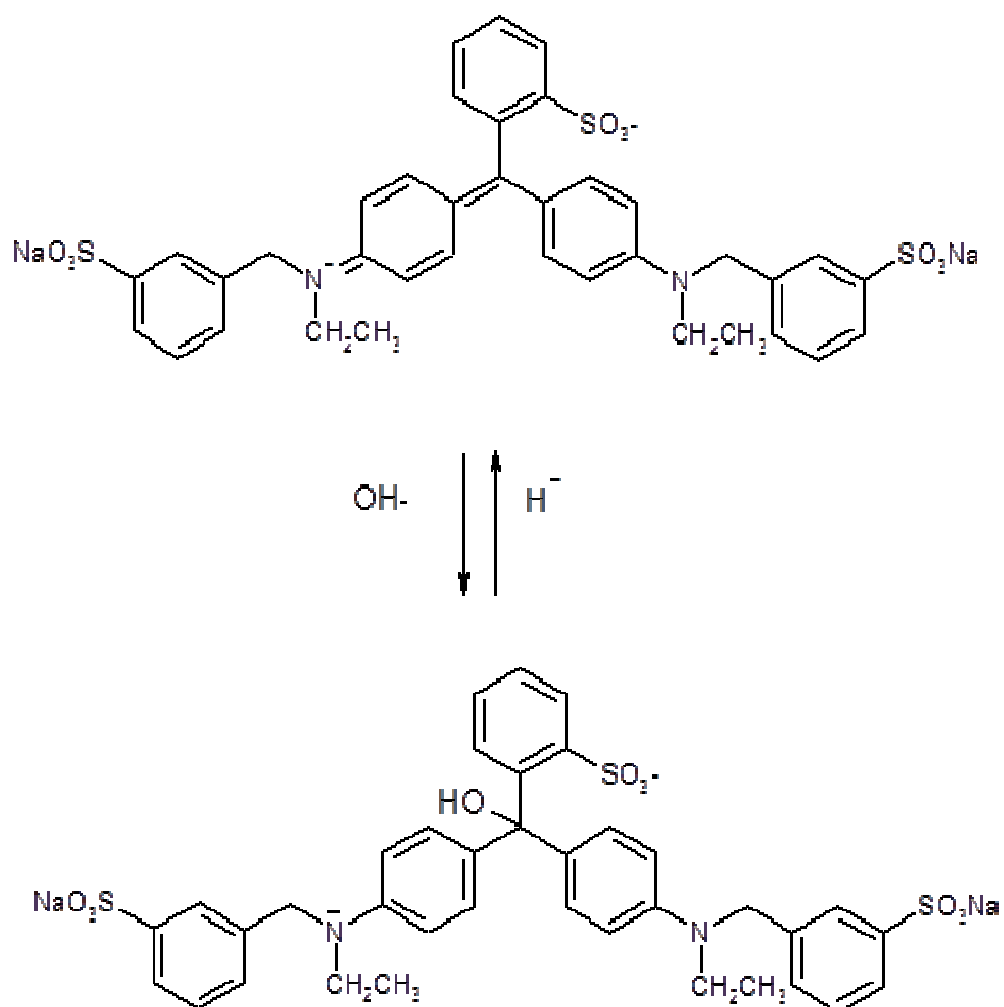
1. Trage in dem Koordinatensystem die Konzentrationen und dann die logarithmierten Konzentrationen bzw. die Werte für die Reaktion 2. Ordnung über der Zeit auf. Was fällt dir bei den Graphen auf?



2. Ermittle die Steigung der Geraden (Logarithmus der Konzentrationen gegen die Zeit), und trage sie in folgende Tabelle ein. Die Steigung der Gerade ist die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion.

Konzentration (NaOH) [mol/L]	Steigung der Gerade Geschwindigkeitskonstante k [1/min ⁻¹]
1,5	
1,0	
0,75	

3. Was fällt dir an den Geschwindigkeitskonstanten auf?

**Anhang:****Reaktionsgleichung: Brillantblau + NaOH**

Lehrerinformation:

Allgemeines zu Triarylmethylfarbstoffen

Viele Gegenstände, mit denen wir tagtäglich in Berührung kommen, sind farbig. Letztlich ist aber all diese Farbenpracht auf die chemischen Verbindungen zurückzuführen, aus denen die Gegenstände bestehen.

Wie kommt es nun zur Farbigkeit chemischer Verbindungen?

Das von uns als weiß wahrgenommene Licht besteht aus elektromagnetischen Wellen unterschiedlicher Wellenlängen. Sichtbar ist für uns nur ein sehr kleiner Bereich des Spektrums (400 – 800 nm). Unterhalb von 400 nm liegt der Bereich der UV-Strahlung, die deutlich energiereicher ist, oberhalb von 800 nm der Bereich der energieärmeren Infrarot-Strahlung (Wärmestrahlung). Die elektromagnetischen Wellen im Bereich von 400 bis 800 nm erscheinen uns, wenn man sie z.B. durch ein Prisma zerlegt, in den Regenbogenfarben.

Chemische Verbindungen können in Abhängigkeit von ihrer Struktur elektromagnetische Wellen absorbieren, d.h. dass bestimmte Elektronen ihrer Hülle Energie aufnehmen und dadurch in einen energiereicheren Zustand übergehen. I. A. wechselt das Elektron aus dem energiereichsten besetzten Orbital (HOMO = highest occupied molecule orbital) in das energieärmste unbesetzte Orbital (LUMO = lowest unoccupied molecule orbital).

Bei den meisten Verbindungen ist die Energiedifferenz so hoch, dass für die Anregung Strahlung im UV-Bereich, d.h. energiereiche Strahlung, erforderlich ist. Die Absorption ist für das menschliche Auge dann nicht sichtbar.

Anders ist dies, wenn die für die Anregung der Elektronen einer Verbindung erforderliche Energie geringer ist und die Wellenlänge der absorbierten Strahlung im sichtbaren Bereich des Spektrums liegt. Da die Strahlung aller übrigen Wellenlängen reflektiert wird, erscheint uns die Substanz farbig, und zwar in der Farbe, die komplementär zur Wellenlänge des absorbierten Lichts ist. Beispielsweise erscheint uns eine Verbindung, die eine Wellenlänge im blauen Bereich absorbiert, gelb.

Bei organischen Verbindungen tritt Farbigkeit dann auf, wenn sie über ein ausgeprägtes mesomeres System verfügen, also konjugierte π -Bindungen besitzen, die sich über einen weiten Bereich erstrecken. Konjugierte Doppelbindungen bedeutet dabei, dass im Molekül eine mehrfache Abfolge von Doppelbindung und Einfachbindung vorliegt. Dies bewirkt eine besondere Beweglichkeit der Elektronen, die man sich auch als eine ausgedehnte „Elektronenwolke“ vorstellen kann. Für die energetischen Zustände bedeutet diese Delokalisation eine geringe Differenz zwischen den höchsten besetzten Orbitalen und den niedrigsten unbesetzten Orbitalen. Folglich kann eine Anregung der Elektronen schon bei Wellenlängen des Lichts stattfinden, die im sichtbaren Bereich liegen.

Atomgruppen organischer Molekülen, die die Lichtabsorption entscheidend beeinflussen, nennt man chromophore Gruppen (chroma = Farbe, phoron = Träger). Wichtige chromophore Gruppen sind z.B. $>C=O$, $>C=N$, $>C=C<$, $-N=O$ etc. Liegen sie im Molekül isoliert vor, bewirken sie jedoch noch keine Farbigkeit; entscheidend ist, wie oben dargestellt, die Ausdehnung des konjugierten Systems.

Bei den Triarylmethylfarbstoffen ist dieses mesomere System besonders stark ausgeprägt, da die Elektronen sich über mehrere Phenylringe verteilen und so stabilisieren können. Dementsprechend zeigt diese Stoffklasse besonders brillante und je nach Substitution unterschiedliche Farben. Sie werden in unterschiedlichen Bereichen eingesetzt,

z.B. als Indikatoren (Fuchsin, Bromphenolblau, Bromkresolgrün), zum Anfärben in der Mikrobiologie (Malachitgrün, Kristallviolett, Fuchsin) oder auch als Lebensmittelfarbstoff wie das Brillantblau oder Patentblau.

Identifizierung des Farbstoffes in blauen M&Ms durch Dünnschichtchromatographie

Die Dünnschichtchromatographie kann als Methode zur Identifizierung von Substanzen genutzt werden, indem Referenzsubstanzen auf derselben Dünnschichtkarte wie die Probesubstanz untersucht werden. Beim vorliegenden Versuch haben wir zur Kompensation der Matrixeffekte eine Co-Injektion durchgeführt, d.h. die Referenzlösungen wurden zusammen mit dem Farbstoff des M&M aufgetragen. In der Tabelle sind die Rf-Werte angegeben.

Auf einfache Weise kann so festgestellt werden, welchen Farbstoff M&Ms enthalten, was ein Blick auf die Zutatenliste der Verpackungen bestätigt.

Eine Grenze findet dieses Verfahren allerdings, wenn die Rf-Werte sehr ähnlich sind. Ein weiterer Lebensmittelfarbstoff, der Triarylmethylfarbstoff Patentblau, hat einen Rf-Wert, der dem des Brillantblau entspricht. Eine Unterscheidung wäre in diesem Fall durch das Absorptionsmaximum (Brillantblau: 627 nm, Patentblau 639 nm) möglich.

Für die Versuchsreihe ist die Durchführung der Dünnschichtchromatographie aus inhaltlichen Gründen nicht erforderlich, sie bietet jedoch die Möglichkeit, Wartezeiten für die fotometrischen Bestimmungen zu vermeiden. Außerdem kann sie als Verifizierung der Identität angesehen werden.

Rf-Werte:

M&Ms	Brillantblau (E132)	Methylen- blau	Indigocarmin (E132)
0,88	0,88	0,07	0,76

Absorptionsspektrum von Brillantblau

Dieser Versuch dient einerseits dazu, die Funktionsweise eines Fotometers deutlich zu machen, andererseits wird die Voraussetzung zur fotometrischen Konzentrationsbestimmung geschaffen.

Beim Durchlaufen der verschiedenen Wellenlängenbereiche wird das Licht in substanzabhängigen Wellenlängenbereichen absorbiert, wobei sich im Fall von Brillantblau ein deutliches Maximum ergibt. Da hier der Bereich der größten Empfindlichkeit liegt, werden Konzentrationsbestimmungen bei der Wellenlänge des Maximums durchgeführt.

Mit dem Fotometer sind sehr genaue Messungen möglich, allerdings müssen die Probelösungen unbedingt klar sein, da durch eine Trübung zusätzlich Licht absorbiert würde. Bei der Herstellung der M&M-Lösungen ist also darauf zu achten, dass die Probelösung klar ist, im Zweifelsfall sollte sie vor der Messung filtriert werden.

Konzentrationsbestimmung von Brillantblau in blauen M&Ms

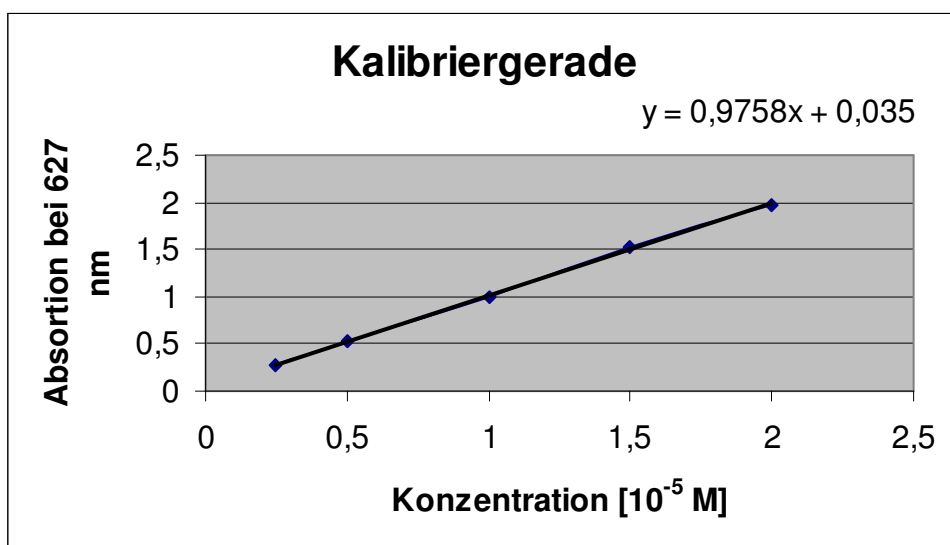
Konzentrationsbestimmungen insbesondere farbiger Substanzen werden häufig mit Hilfe eines Fotometers durchgeführt.

Bei diesem Versuch wird der Umgang mit Kalibriergeraden vermittelt, mit deren Hilfe die Konzentrationen unbekannter Lösungen bestimmt werden. In der Praxis müssen Kalibriergeraden in regelmäßigen Abständen, in der Regel vor der Durchführung von Messreihen, wiederholt werden, um eventuelle Abweichungen rechtzeitig zu erkennen bzw. mit zu erfassen. Aus der Kalibriergeraden können die Konzentrationen zu untersuchender Lösungen entweder direkt abgelesen werden oder über Kalibriergeraden berechnet werden. Eine Auswertung ist z.B. über Excel möglich.

Entscheidend für den Erfolg des Experiments ist die Genauigkeit beim Ansetzen der Lösungen. Absorptionswerte über 1 können in der Regel für eine Auswertung nicht mehr herangezogen werden. In diesem Messbereich ist die Linearität oft nicht mehr gewährleistet, die aber Voraussetzung für die Genauigkeit der Auswertung ist. Im Fall von Brillantblau ist die Linearität allerdings bis zu einem Wert von 2 gegeben.

Folgende Werte werden erhalten:

Konzentration (Brillantblau) [10^{-5} mol/L]	Volumen der Brillantblau- Stammlösung [mL]	Volumen Wasser [mL]	A_{627}
2	4	0	1,977
1,5	3	1	1,519
1	2	2	0,998
0,5	1	3	0,527
0,25	0,5	3,5	0,277



(Messwerte M&M: Abs.: 0,539 Masse 1 M&M= 0,90 g)

Konzentration Brillantblau in der Probelösung: $0,5165 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ (kann aus der Kalibriergeraden abgelesen werden)

Menge Brillantblau in 1 M&M: $1,29 \times 10^{-7} \text{ mol/M\&M}$
0,102 mg/ M&M

Menge Brillantblau in 1 g M&M: 0,115 mg/g M&M

Die Rechnung sollten die Schüler selbst ableiten:

Menge in 1 M&M: $25 \text{ ml} \times 0,516 \times 10^{-5} \text{ mol} / 1000 \text{ ml} = 1,29 \times 10^{-7} \text{ mol}$
 $1,29 \times 10^{-7} \text{ mol} \times 792 \text{ g/mol} = 0,000102 \text{ g} = 0,10 \text{ mg}$

Menge Brillantblau in 1 g M&M:
 $0,10 \text{ mg} / 0,90 \text{ (Masse eines M\&M [g])} = 0,115 \text{ mg/g M\&M}$

Wenn man sich diese Menge (0,115 mg/M&M) vorstellt, wird klar, dass selbst kleinste Mengen Brillantblau eine intensive Farbe bewirken.

Reaktionskinetik der Entfärbung von Brillantblau aus M&Ms

Die Farbigkeit von Triarylmethylfarbstoffen basiert, wie die Farbe anderer Farbstoffe auch, auf der Existenz eines ausgeprägten mesomeren Systems.

Bei Zugabe von Laugen entfärben sich jedoch die Lösungen durch die Anlagerung von OH^- an den Methylrest (s. Reaktionsschema, Anhang der Schülerarbeitsblätter). Es handelt sich dabei um eine Gleichgewichtsreaktion, die aber der Einfachheit halber bei der Auswertung nur wie eine irreversible Reaktion betrachtet werden soll.

Aus der Reaktionsgleichung könnte eine Reaktion 2. Ordnung erwartet werden, was durch die durchzuführende kinetische Untersuchung nachgewiesen oder widerlegt werden soll. Tatsächlich handelt es sich um eine Reaktion Pseudo-1. Ordnung. Leistungsstärkere Schüler können bereits aus der unten gegebenen Formel für Reaktionen 2. Ordnung ableiten, dass die NaOH-Konzentration innerhalb eines Experimentes keinen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit haben kann, weil NaOH bezogen auf die Konzentration von Brillantblau in einem sehr großen Überschuss eingesetzt wird. Der erste Faktor, c^0_{NaOH} und $(c^0_{\text{NaOH}} - c_{\text{Produkt}})$ in der Formel sind daher konstant, so dass sich der Term zu

Konstante $\times \ln (c^0_{\text{Brillantblau}} / c_{\text{Brillantblau}})$ vereinfacht. Spätestens bei der Auftragung der aus der komplizierteren Formel für Reaktionen 2. Ordnung berechneten Werte wird klar, dass bei dieser Reaktion die Auswertung und Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten nach der Gleichung für Reaktionen 1. Ordnung durchgeführt werden kann.

Vergleicht man jedoch die Geschwindigkeitskonstanten zwischen den Ansätzen mit unterschiedlichen Ausgangskonzentrationen an NaOH, wird klar, dass die NaOH-Konzentration dennoch einen linearen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit besitzt, die Reaktion daher also als Reaktion Pseudo-1. Ordnung betrachtet werden muss.

Bei der Auftragung der Konzentrationen an Brilliantblau gegen die Zeit erkennt man eine exponentielle Abnahme, so dass durch Logarithmierung eine Gerade erhalten werden kann, aus deren Steigung die Geschwindigkeitskonstante k errechnet werden kann.

Folgende Gleichungen werden für die Auswertung benötigt:

Reaktionen 1. Ordnung: $v = dc/dt = k \times c$
 $\rightarrow \ln c = -k \times t + \ln c_0$

Reaktionen 2. Ordnung: $v = dc/dt = k \times c_{\text{Brillantblau}} \times c_{\text{NaOH}}$

(die Auftragung des Terms

$$\frac{1}{(c_{\text{NaOH}}^0 - c_{\text{Brillantblau}}^0)} \times \ln \frac{c_{\text{Brillantblau}}^0 (c_{\text{NaOH}}^0 - c_{\text{Produkt}})}{c_{\text{NaOH}} (c_{\text{Brillantblau}})}$$

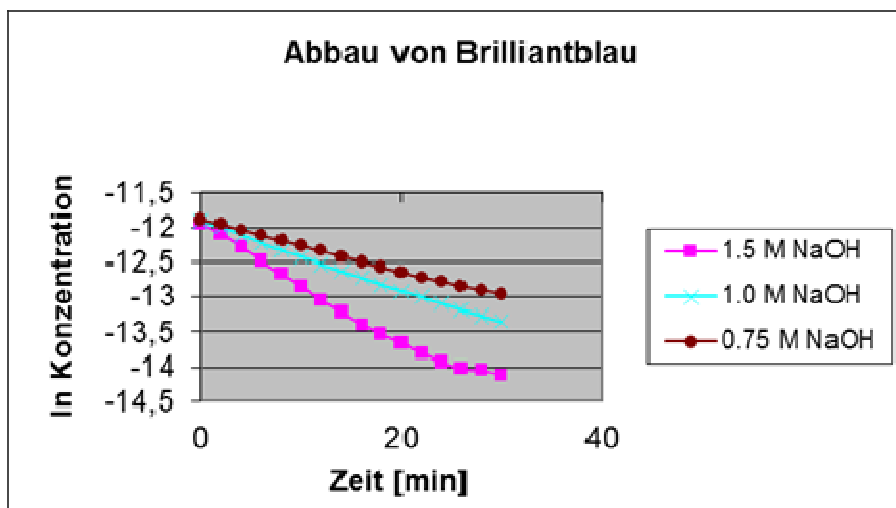
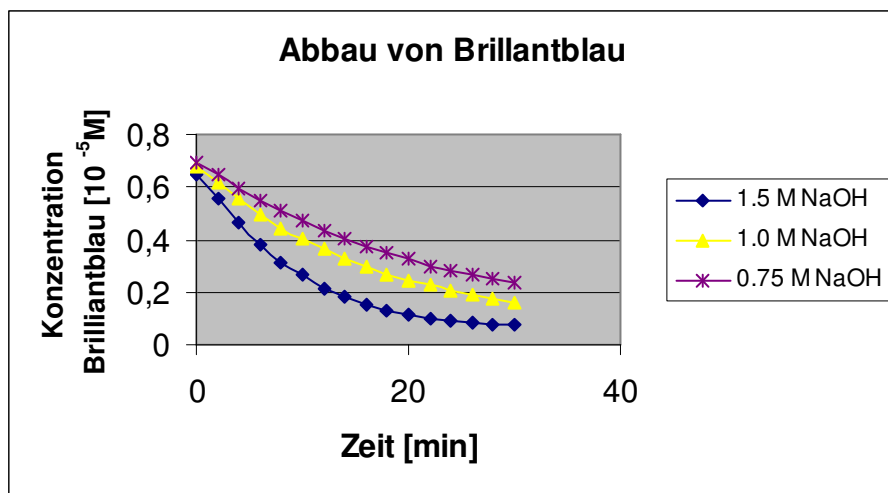
mit $c_{\text{Produkt}} = c_{\text{Brillantblau}}^0 - c_{\text{Brillantblau}}$ gegen die Zeit gibt einen linearen Zusammenhang)

c^0 : jeweils Ausgangskonzentration

c : aktuelle Konzentration zum Zeitpunkt t

Auswertung:

Zeit [min]	1,5 M NaOH		1,0 M NaOH		0,75 M NaOH	
	Konz. Brilliantblau [10 ⁻⁵ M]	In Konz. Brilliantblau	Konz. Brilliantblau [10 ⁻⁵ M]	In Konz. Brilliantblau	Konz. Brilliantblau [10 ⁻⁵ M]	In Konz. Brilliantblau
0	0,651	-11,942	0,676	-11,904	0,690	-11,884
2	0,559	-12,095	0,616	-11,997	0,645	-11,951
4	0,467	-12,274	0,555	-12,102	0,595	-12,032
6	0,381	-12,478	0,494	-12,218	0,549	-12,113
8	0,314	-12,671	0,442	-12,329	0,510	-12,186
10	0,263	-12,849	0,402	-12,424	0,473	-12,262
12	0,216	-13,045	0,364	-12,524	0,438	-12,338
14	0,181	-13,222	0,329	-12,625	0,404	-12,419
16	0,153	-13,390	0,298	-12,724	0,375	-12,494
18	0,133	-13,530	0,270	-12,822	0,348	-12,568
20	0,118	-13,650	0,247	-12,911	0,325	-12,637
22	0,101	-13,806	0,227	-12,996	0,299	-12,720
24	0,089	-13,932	0,206	-13,093	0,283	-12,775
26	0,081	-14,026	0,188	-13,184	0,264	-12,845
28	0,079	-14,051	0,173	-13,267	0,250	-12,899
30	0,074	-14,117	0,159	-13,352	0,238	-12,948



Bei der höchsten eingesetzten Konzentration von NaOH (1,5 M) wird bereits bei den letzten Messpunkten der Gleichgewichtszustand erreicht, so dass die Gerade in diesem Bereich abknickt.

Um die Geschwindigkeitskonstanten zu ermitteln, können diese entweder direkt aus der Graphik ermittelt werden oder über die Geradengleichung berechnet werden, die z.B. mit Hilfe des Excel-Programms bestimmt werden kann.

Konzentration (NaOH) [mol/L]	Geschwindigkeitskonstante k [1/min ⁻¹]
1,5	0,0765
1,0	0,0486
0,75	0,0364