

Müllwelten

**Fakten, Hintergründe,
Beispiele**

**Materialien für Schule
und Unterricht**

Text 4.9

Bunter Abfall

**Farborgien im
Herbstlaub**

**Doktor Bruno P.
Kremer**

Bunter Abfall

Farborgien im Herbstlaub

Fragestellung

Zu Beginn und gegen Ende der Vegetationsperiode inszeniert die heimische Gehölzflora ein beachtliches Farbspektakel: Der Laubaustrieb im Frühjahr löst mit seinen animativen Grünnuancen die winterliche Graubraun-Monochromie ab, und vor dem herbstlichen Blatfall stellen die sommergrünen Sträucher und Bäume ihr Erscheinungsbild unübersehbar auf eine vielstufige farbliche Bandbreite zwischen verhaltenem Käsegelb und flammendem Karminrot um - eine klare Einladung, den Blatfarbstoffen einmal genauer nachzugehen: In vergleichsweise einfachen und wenig aufwändigen Versuchen zur Extraktion und Trennung ist eine sortierende Kennzeichnung der beteiligten Pigmentklassen (Chlorophylle, Carotinoide, Anthocyane und Betalaine) möglich.

Zum Hintergrund

Schon allein die fast bis zur Aufdringlichkeit gesteigerte Farbigkeit mancher Gehölze bietet zweifellos genügend Anreiz, die enorme Buntheit nicht nur als dekorative Beigabe der Herbstwochen und somit ausschließlich visuell zur Kenntnis zu nehmen. Zusätzlich wäre auch der biologische Hintergrund der in der Phänologie der betreffenden Arten offensichtlich fest verankerten Umfärbeereignisse und vor allem die Bedeutung der geradezu dramatischen, in vergleichsweise kurzer Zeit ablaufenden Veränderungen zu klären. Diese Thematik erweitert eine zunächst vielleicht nur als trivial empfundene Naturerfahrung um wesentliche Informationen und kann diese erforderlichenfalls bis in die molekulare Dimension vertiefen. Zum anderen bieten die hier vorgeschlagenen und ohne nennenswerten technischen Aufwand durchzuführenden Einzelexperimente in ihren Ergebnissen ebenso viel Farbigkeit wie der Gegenstand der Betrachtung selbst.

Planmäßige Inszenierung

Die enge zeitliche Koppelung der herbstlichen Laubfärbung mit dem Zeitpunkt des

planmäßigen Blattabwurfs verdeutlicht, dass die Umfärbeereignisse in den Blättern in ursächlichem Zusammenhang zu sehen sind mit dem klimakteriellen Stoffwechsel der seneszenten und absehbar auszurangierenden Blattmasse [1-3, 9]. Wichtiges Signal für die saisonal vordikierte Winterruhe [4] ist die abnehmende Tageslänge, welche die photoreaktiven Pflanzenteile planmäßig unter Kurztagbedingungen setzt. Bei Laubgehölzen, die dagegen künstlich unter einem wirksamen Langtagregime verbleiben wie etwa einzelne Kronensegmente von Straßenbäumen im direkten Lichtkegel der Straßenbeleuchtung, bleibt das photoperiodisch vermittelte Schaltereignis aus. Die Blätter der betreffenden Zweigbereiche sind - sofern zuvor keine strengen Nachtfröste eintreten - auch noch bis weit in den Dezember grün und weisen dabei sogar photosynthetische Aktivität auf.

Allgemeiner Konsens in der Bewertung der herbstlichen Laubfärbung ist, dass die winterkahlen Gehölze vor der endgültigen Verabschiedung ihrer sommerlichen Produktionsorgane eine Art Materialrecycling einleiten, dazu einen großen Teil an N- und P-Komponenten aus dem Stoffbestand der Mesophyllzellen exportieren und diesen den Depots zuführen. Bei Gehölzen kommen dafür vor allem die parenchymatischen Markstrahlen in Betracht. Auffälliges äußeres Zeichen dieser Rückrufaktion ist der innerhalb weniger Tage vollzogene Abbau von Chlorophyll, während die in den Chloroplasten als photosynthetische Antennenpigmente vorhandenen Carotinoide vor Ort verbleiben. Sie stellen jetzt den Pigmentbestand der Blattplastiden, die nunmehr als Gerontoplasten (früher: Chromoplasten) bezeichnet werden. Das Ergebnis sind warmtonig gelb verfärbte Wälder. Die Logistik der Stoffverlagerung bildet sich im Blatt ab: Zunächst verfärben sich die Randbereiche, während die Säume entlang der Leitgewebestränge (Blattnerven) zunächst noch grün bleiben. Bei diesem Ablauf sind bemerkenswerte Störfälle und Abweichungen zu beobachten (vergleiche Diskussion in [5]). Andererseits begründet

bei den Erlen (Gattung *Alnus*) die Wurzelsymbiose mit N-bindenden Bakterien offenbar eine besonders üppige Versorgung, die keine Sparmaßnahmen erfordert: Bei diesen Gehölzen fallen die Blätter immer grün ab.

Gelbe und rote Karte?

Rein quantitativ erklärt das Abzugmanöver der grünen Blattfarbstoffe aber nur einen Teil des Erscheinungsbildes des Herbstlaubes vor allem der Lichtholzarten: Das prächtige Sattgelb etwa von Spitz-Ahorn, Rot-Buche, Schwarz- oder Hybrid Pappel geht auf deutlich höhere Carotinoidmengen zurück, als zuvor im sommerlich grünen und photosynthetisch aktiven Blatt vorhanden waren. So ist die *Umfärbung* bereits bei den lipophilen Plastidenpigmenten zumindest anteilig auch eine Frage der *Ausfärbung* unter ergänzender Neusynthese. Ein besonderer physiologischer oder ökologischer Effekt dieser Ausfärbung ist kaum zu erkennen. Schattengehölze, die in ihrer C-Gesamtbilanz weniger begütert erscheinen, bauen auch die Kohlenwasserstoffskelette der Carotinoide ab und sehen, wie etwa die heimischen Holunder-Arten, im Herbstaspekt besonders blass aus. Fallweise und zum Teil artspezifisch verfärbt sich das Herbstlaub indessen intensiv rot (Abbildung 2). Dabei beladen sich die Vakuolen der Mesophyllzellen in nennenswertem Maße mit wasserlöslichen Pigmenten aus der Stoffklasse der Flavonoide, vor allem mit rötlichen Anthocyanen. Deren Kombination mit den Carotinoiden in den Gerontoplasten liefert auf der makroskopischen Ebene besonders leuchtende Farbstellungen zwischen Orange- und Flammenrot (Abbildung 1).

Auch die Anthocyanbeladung der Vakuolen ist letztlich eine unnütze und Ressourcen verbrauchende Neusynthese. Im Unterschied zur Gelbfärbung durch (verbleibende) Carotinoide ist sie geradezu gegenläufig zur synchron stattfindenden Ausräumung der Blätter mit der Rettung recyclingfähiger N- und P-haltiger Baustoffe. Vermutlich stellt sie eine nicht mehr aufzuhaltende Überschussreaktion dar:

Bei der Mobilisierung der gebundenen N-Reserven spielt das Enzym Phenylalanin Ammonium-Lyase eine bedeutende Rolle, das offenbar gleichzeitig den Zimtsäureweg auf Touren bringt und diesen bis zur Endstation Anthocyan arbeiten lässt [6].



Abbildung 1: Schritt für Schritt: Die Haupttrouten für den Materialrücktransport bleiben am längsten funktionell



Abbildung 2: Das intensive Anthocyan-Karminrot im Blattwerk der Jungfernebe (*Parthenocissus inserta*) ist kaum noch steigerungsfähig

Andererseits antworten viele Pflanzen mit Anthocyan-Bildung auch auf besondere Stress-Situationen, etwa bei Parasitenbefall (viele Blattgallen sind kräftig rot) oder an Standorten intensiver Strahlungsbelastung bei gleichzeitiger Trockenheit (vorzeitiges Erröten der sukkulenten Blätter etwa von *Sedum album*) [3, 4]. Bei den Herbstblättern könnte die zusätzliche Ausstattung der Mesophyllzellen mit Anthocyanen einen gewissen Schutz der noch aktiven Chloroplasten und damit die

Bewahrung ihrer photosynthetischen Restkapazität bedeuten - auffällig ist immerhin, dass die Blätter der exponierten äußeren Kronenbereiche eine ungleich intensivere Färbung zeigen als diejenigen im Kroneninneren oder an der Schattenflanke eines Baumes.

Bei der Bewertung des Phänomens ist jedoch außerdem zu berücksichtigen, dass Gehölze an Standorten mit vergleichsweise kalten Nächten bei hohem Strahlungsangebot während der Tage besonders lebhaft umfärben: Berg-Ahorn (*Acer pseudoplatanus*) oder Eberesche (*Sorbus aucuparia*) nahe der Baumgrenze in den Alpen bringen einen überaus kräftigen Farbakkord zu Stande, während sich das Laubwerk beider Arten im Tiefland eher unauffällig aus der Sommersaison ausklinkt.

Den mitteleuropäischen Gebirgsstandorten klimatisch vergleichbar sind die Laubwälder in den Neuenglandstaaten, wo das Pigmentaufgebot der Laubgehölze ("indian summer") jährlich einen beachtlichen Blattfärbungstourismus auslöst. Neben der Mitsteuerung der Verfärbung durch den aktuellen Witterungsverlauf ist daran sicherlich auch eine genetische Komponente beteiligt, denn als Parkgehölze in Mitteleuropa angepflanzte Baumarten wie Amberbaum (*Liquidambar styraciflua*), Tulpenbaum (*Liriodendron tulipifera*), Zucker-Ahorn (*Acer saccharum*) oder Rot-Eiche (*Quercus rubra*) zeigen generell eine ungleich prächtigere Gesamtfärbung als vergleichbare heimische Gehölzarten (siehe [7]). Die vergleichende Umschau unter den Pflanzen im Herbst orientiert zusätzlich darüber, dass saisonal bedingte Blattverfärbungen nicht ausschließlich auf die Gehölze beschränkt sind, auch wenn diese landschaftsphysiognomisch am wirksamsten sind. Wenige Farne wie der Adlerfarn (*Pteridium aquilinum*) wandeln ihren Plastidenbestand in fahlgelbe Gerontoplasten um, während auch ungewöhnliche Stauden wie die Wassernuss (*Trapa natans*) eine lebhaft Herbstfärbung mit vollem Pigmentprogramm zeigen.

Blattfarben im Schnelltest

Die nachfolgenden Versuchsanregungen thematisieren zwar die Färbung von grünen und umgefärbten Laubblättern im Herbst, lassen sich aber analog auch auf die Untersuchung von Blüten- sowie Fruchtpigmenten übertragen [8]. Sie orientieren rasch darüber, welche Komponenten der beiden Blattpigmentierungssysteme (lipochrome oder chymotrope Farbstoffe) am Erscheinungsbild einer Pflanze beteiligt sind, beinhalten insofern einfache qualitative Untersuchungen, die eine exaktere stoffliche Analytik nicht ersetzen können.

Versuch 1:

Trennung von Blattpigmenten im Zweiphasensystem

Geräte: Reibschale (Mörser) mit Pistill, 3 Reagenzgläser (RG), Reagenzglasständer, Faltenfilter, Glastrichter, Pipetten (2, 5, 10 Milliliter), Peleusball

Chemikalien: 96 prozentiges Ethanol, Aceton (unverdünnt), verdünnte Salzsäure (0,1 N HCl), Benzin (Feuerzeugbenzin), Quarzsand

Versuchsobjekt: Kräftig grüne sowie bereits herbstlich gelb-rötlich verfärbte Blätter beliebiger Laubholz-Arten

Zeitbedarf: circa 10 Minuten

Durchführung

Etwa ein bis zwei Gramm Blattmaterial wird in der Reibschale zunächst trocken durch Zerreiben mit Quarzsand bis zur Pulverkonsistenz zerkleinert und anschließend mit 3 bis 5 Millilitern 96 prozentigem Ethanol extrahiert. Die erhaltene Lösung (= Rohpigmentlösung) wird über ein Faltenfilter in ein trockenes, sauberes Reagenzglas (RG) filtriert. Sie sollte so konzentriert sein, dass sie tief dunkelgrün erscheint. Herbstlich bunte Blätter beliebiger Artherkunft (Vorschlag: Ahorn, Buche, Birke, Essigbaum, Felsenbirne, Jungfernebe, Kirsche, Schneeball) zerkleinert man ebenfalls zuvor in der Reibschale und extrahiert sie dann jeweils in circa 5 bis 10 Milliliter der Mischung Ethanol (96 prozentig) : Aceton : 0,1 N HCl = 10 : 2 : 0,5.

Etwa zwei Milliliter dieser Pigment-Lösung versetzt man in einem sauberen RG mit circa zwei Milliliter Benzin und schüttelt vorsichtig um, wobei eine Emulsion mit Tröpfchen-Feinstverteilung möglichst vermieden werden soll. Nach der gründlichen Vermischung gibt man aus der Spritzflasche rasch etwa 5 Milliliter H₂O hinzu.

Beobachtung

Sofort setzt im RG nach erneutem Schütteln eine Phasentrennung in eine spezifisch leichtere Oberphase aus Benzin und eine schwerere wässrige Unterphase (polar) ein. Damit einher geht eine Verteilung der Pigmente aus dem Rohextrakt. Die offensichtlich lipophilen (hydrophoben) Blattpigmente reichern sich innerhalb von Minuten in der apolaren Benzin-Oberphase an (Abbildung 3). Die wässrige und daher polare Unterphase bleibt wegen der eventuell nur unvollständig ablaufenden Entmischung vorerst noch milchig trüb. Sofern herbstlich verfärbte Blätter extrahiert wurden, die größere Mengen an Anthocyanen enthalten, ist die wässrige Phase entsprechend intensiv rötlich verfärbt.

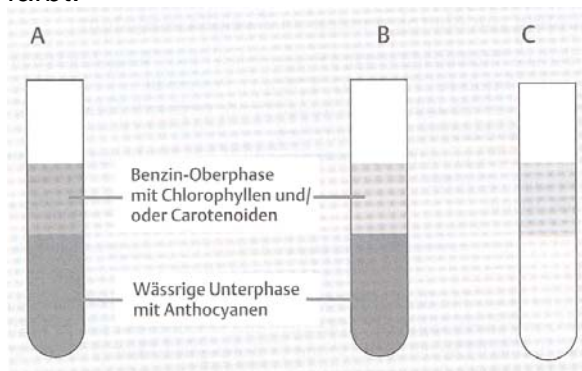


Abbildung 3. Pigmenttrennung in Zweiphasengemischen. (A) bei Anwesenheit restlicher intakter Chloroplasten neben Vakuolenpigmenten, (B) nach Umwandlung der Chloroplasten zu Gerontoplasten und Vakuolenbeladung mit Anthocyanen, (C) Gerontoplasten neben Anthoxanthinen in der Vakuole.

Erläuterung

Wie ein Kontrollversuch sofort nachweist, lassen sich die an der Photosynthese beteiligten Plastidenfarbstoffe aus normal grünen Blättern nicht wässrig extrahieren. Nach ihrem visualisierten Löslichkeitsverhalten sind sie somit lipophil (hydrophob) - sie liegen in den Chloroplasten grundsätz-

lich in Membranbindung und nicht als Vakuolenbestandteile vor.

Die aus den Vakuolen stammenden hydrophilen und chymotropen Blattpigmente wie die Anthocyane oder andere Flavonoide verbleiben dagegen nach der Phasenbildung ausschließlich in der Unterphase und färben diese intensiv rot. Je nach verarbeitetem Blattmaterial sind auch folgende Verteilungskonstellationen zu erwarten:

- Sofern die schon deutlich verfärbten Blätter während der Umfärbung noch restliche Chlorophylle enthalten, weist die lipophile Oberphase je nach Mengenanteil lichte oder kräftigere Grünnüancierungen auf, während die Unterphase die gesamte Fraktion der Vakuolenpigmente enthält ("Grün-/Rot-Koalition") (Abbildung 3 (A)).
- Viele Arten mit dramatischer Herbstfärbung kombinieren die Farbwirkung von plastidengebundenen Carotinoiden mit den Anthocyanen in den Vakuolen der gleichen oder benachbarten Zellen. In diesem Fall wird das Ergebnis der Zweiphasen-Trennung nach Ausschütteln eines Blattextraktes eine farbenfrohe "Gelb-/Rot-Koalition" sein (Abbildung 3 (B)).
- In der wässrigen Phase ist mit dieser Vorselektion der Blattpigmente allerdings nur die Gesamtheit aller Flavonoide zu erfassen. Eine Unterscheidung in rötliche Anthocyane und blassgelbe Anthoxanthine, denen die Ringsysteme der Flavone oder Flavonole zu Grunde liegen, ist auf diesem Wege nicht möglich. Gelb/blassgelb gestufte Phasen zeigen sich allerdings bei Blättern, zu deren Stoffbestand auch wasserlösliche Anthoxanthine gehören, während Anthocyane fehlen. Solche Kombinationen sind vor allem bei Arten von Schattenstandorten zu erwarten.

Versuch 2:

Zerlegung des Chlorophyll-Moleküls durch Verseifung

Geräte: wie Versuch 1

Chemikalien: konzentrierte methanolische Kalilauge (KOH) (= gesättigte KOH in 100 prozentigem Methanol), Pigmentextrakt aus Versuch 1

Zeitbedarf: 5 Minuten

Durchführung

Die chlorophyllhaltige Oberphase aus der Schütteltrennung von Versuch 1 wird mit einer kleinkalibrigen Pipette (Pasteurpipette) vorsichtig abgenommen und in ein sauberes RG überführt. Hier versetzt man sie anschließend mit etwa einem Milliliter methanolischer KOH und schüttelt kräftig durch.

Nachdem sich der Ansatz dabei kurzzeitig bräunlich verfärbt hat, kehrt innerhalb von etwa einer Minute eine kräftige Grüntönung zurück - das kurzfristig gebildete Phaeophytin wird nun zum Chlorophyllid. Jetzt gibt man wiederum wie bei Versuch 1 etwa 3 bis 5 Milliliter H₂O aus der Spritzflasche hinzu.

Beobachtung

Sofort erfolgt nach dieser Fraktionenmischung eine erneute Trennung in eine lipophile (hydrophobe) Ober- und eine hydrophile (lipophobe) Unterphase ein. Im Unterschied zu Versuch 1 zeigt sich nunmehr als Versuchsergebnis, dass die aus Benzin bestehende Oberphase nur noch gelöste gelbliche Pigmente enthält, während die wässrige Unterphase kräftig hellgrün gefärbt ist (Abbildung 4).

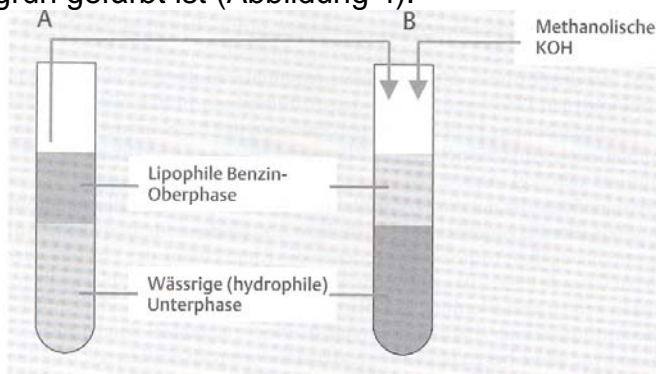


Abbildung 4: Pigmenttrennung in Zweiphasengemischen. (A) ethanolischer Rohextrakt nach Ausschütteln mit Benzin, (B) lipophile Fraktion nach

Behandlung mit methanolischer KOH (vergleiche Versuche 1 und 2).

Die farbgebende Baugruppe der Chlorophyllmoleküle, das Tetrapyrrol- oder Porphyrin-Ringsystem, verhält sich nach Abtrennung des langkettigen lipophilen Phytols durch Verseifung der Esterbindung mit dem Propionsäurerest von Ring III überraschend hydrophil und tritt daher bereitwillig in die wässrige Phase über (Abbildung 5). Der lipophile Bauteil Phytol, der unsichtbar in der Benzinphase verbleibt, dominiert das lipophile Verhalten des Chlorophyll-Gesamt-moleküls und leistet im Wesentlichen seine Verankerung in der Lipidschicht der Thylakoidmembran sowie die Zusammenführung zu den Lichtsammelkomplexen der Photosysteme, während die Ringstruktur die Moleküle auf der hydrophilen Membranaußenseite (= Stromaseite) des Chloroplasten positioniert.

Die ebenfalls in der lipophilen Oberphase versammelten Carotenoide, die von der methanolischen KOH nicht verändert wurden, geben einen ersten Eindruck von den in normal grünen Blättern enthaltenen Mengen an Gelbpigmenten.

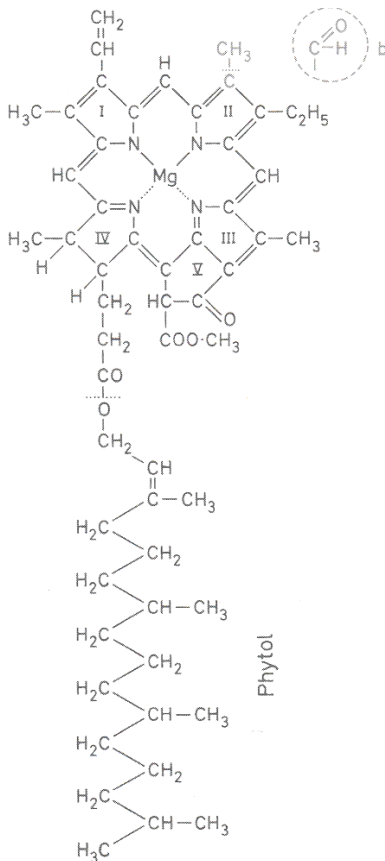


Abbildung: 5. Struktur der Chlorophylle a und b.

Versuch 3:

Demonstration der Chlorophyll-Fluoreszenz

Geräte: Diaprojektor (mit Halogenleuchte), Kantenprisma zur Spektralzerlegung von Licht, Auffangschirm aus weißem Karton, Stativmaterial

Chemikalien: Blattohextrakt aus dem ersten Versuch

Zeitbedarf: 3 bis 5 Minuten

Durchführung

Etwa 2 bis 3 Milliliter der Pigmentlösung gibt man in ein sauberes und trockenes (!) RG und verdünnt mit 96 prozentigem Ethanol eventuell soweit, dass das Projektorlicht hindurchtreten kann.

Im unveränderten Lichtkegel des Projektors (= Anregungslicht) ist bei seitlicher Betrachtung im abgedunkelten Raum eine eindrucksvolle Rotfluoreszenz der Chlorophylle zu erkennen. Der Effekt ist beträchtlich zu steigern, wenn man in den Strahlengang des Projektors - etwa in den

Diaschlitten - ein Blaufilter (zum Beispiel Kobaltglas) bringt.

Blaufilter schneiden bekanntlich den längerwelligen Anteil des Spektrums außerhalb ihrer Eigenfärbung durch Absorption weg. Das in der Chlorophyll-Lösung auftretende Rotsignal muss demnach seine Anregung aus dem eingestrahlten kurzwelligen Wellenband beziehen.

Dieser Versuch verdeutlicht, dass die Lichtabsorption im lebenden Blatt der Energiebereitstellung für die nachgeschalteten Stoffumwandlungsreaktionen des Bassham-Calvin-Zyklus (Kohlenstoffdioxid-Bindung und -Reduktion) dient. Im Extrakt sind die Energiefortleitenden Strukturen der Thylakoidmembran jedoch aufgrund der Extraktionsvorgänge zerstört. Einen Teil der nach wie vor absorbierbaren energiereichen (= kurzwelligen) Anregungsstrahlung geben die gelösten Chlorophyll-Moleküle mit gewissem Energieverlust und deswegen als längerwelliges (= energieärmeres) Fluoreszenzlicht wieder ab. Dessen Emissionsmaximum liegt bei 685 Newtonmeter. Dieser Effekt fällt insbesondere bei sehr kurzweiliger Anregungsstrahlung so stark aus, dass man damit noch sehr geringe Chlorophyllmengen (zum Beispiel bei kriminaltechnischen Untersuchungen) nachweisen kann.

Wenn man aus einer Pasteurpipette - während das RG mit dem Blattohextrakt im Strahlengang bleibt und seine prächtige Chlorophyllfluoreszenz zeigt - tropfenweise circa einen Milliliter Wasser (H_2O) hinzu gibt, erlischt das Fluoreszenzsignal augenblicklich irreversibel (quenching effect): Die von den Pigmentmolekülen reemittierte Energie wird in nunmehr hydrophiler Umgebung von den Wasser-Dipolen als Wärme dissipiert.

Versuch 4:

Papierchromatographische Trennung lipophiler Blattpigmente

Geräte: Stativmaterial, großes Reagenzglas (50 Milliliter) mit Korkstopfen und

hakenförmig aufgebogener Büroklammer, Chromatographie-Papier (Whatman No. 1 oder Schleicher & Schüll 2043b Mgl), auf Streifen von circa 12 mal 1,5 Zentimeter zugeschnitten, Becherglas (25 Milliliter)
Chemikalien: Trenngemisch (Laufmittel): Petrolether (Siedebereich 40 bis 60 Grad Celsius), Petrolether (Siedebereich 50 bis 70 Grad Celsius), Aceton (100 prozentig) = 8 : 2 : 1,6, Pigmentgesamtextrakt aus Versuch 1

Zeitbedarf: 10 bis 15 Minuten

Durchführung

Das RG für 50 Milliliter befestigt man an einem Stativ und hängt den fertig zugeschnittenen Streifen Chromatographie-Papier mithilfe einer aufgebogenen Büroklammer an einem Korkstopfen auf. Am RG markiert man mit Filzschreiber einen Füllstrich etwa 3 Millimeter oberhalb der Papierunterkante - bis zu dieser Markierung füllt man nach Entnahme des Papierstreifens das benannte Trenngemisch ein.

Der von Versuch 1 verbliebene Blattroh-extrakt wird nun in ein kleines Becherglas (10 Milliliter) umgefüllt. Das Chromatographie-Papier taucht man nun kurz in diese Pigmentlösung, sodass eine etwa 10 Millimeter breite Startzone entsteht. Nach kurzer Zwischentrocknung wird dieser Vorgang noch einmal wiederholt.

Der völlig trockene, pigmentbeladene Papierstreifen wird nun vorsichtig und ohne Kontakt zur Gefäßwand in das mit Trenngemisch beschickte RG gehängt, dass die Startzone nur mit ihren unteren 2 bis 3 Millimeter in das Laufmittel reicht.

Beobachtung

Synchron mit dem raschen Laufmittelaufstieg im Papierstreifen setzt die unmittelbar zu verfolgende Trennung des Blattextraktes ein. Diese benötigt nur wenige Minuten. Die Reihenfolge der deutlich erkennbaren Farbzonen wird im Versuchsprotokoll notiert.

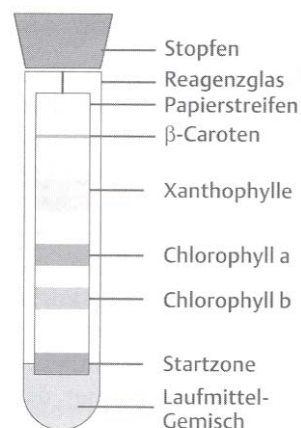


Abbildung 6: Papierchromatographische Trennung lipophiler Blattpigmente im Reagenzglas (Versuch 4).

Erklärung

Wie die deutlich getrennten Farbzonen auf dem Papierstreifen zu erkennen geben (Abbildung 6), sind im Rohextrakt der Blätter verschiedene Pigmentgruppen enthalten. Das hier gewählte Trennsystem sortiert sie auf dem Chromatographiepapier nach dem Grad ihrer Lipophilie: Reine Kohlenwasserstoffe wie das in geringen Mengen immer vorhandene beta-Caroten laufen mit der Laufmittelfront. In deutlichem Abstand folgen die sauerstoffhaltigen Xanthophylle (wie etwa Lutein, Zeaxanthin, Violaxanthin), die in diesem System nicht weiter zu trennen sind. Die Trennbarkeit der beiden farblich unterschiedlichen Chlorophylle (blaugrünes Chlorophyll a und gelbgrünes Chlorophyll b) beruht nur auf einem einzigen Sauerstoffatom in einer funktionellen Gruppe am Ring I. Etwaige im Extrakt vorhandene hydrophile Blattfarbstoffe wie die Anthocyane verharren jeweils in der Startzone.

Versuch 5:

Dünnschichtchromatographie lipophiler Blattpigmente

Geräte: DC-Platten (mit Kieselgel beschichtet, zum Beispiel Merck Nummer 5721 oder Riedel-de Haen Nummer 37600), Trennkammer für DC-Platten im Format 20 mal 20 Zentimeter, Glaskapillaren oder Pipettenspitzen aus Kunststoff

Chemikalien: Trenngemisch (Laufmittel): Benzin (= Petrolether, Siedebereich 100 bis 140 Grad Celsius): 2-Propanol : Chloroform : Wasser = 90 : 10 : 70 : 0,3 (2-Propanol und Wasser zuerst mischen!) Zeitbedarf: 1 bis 2 Stunden

Durchführung

Die Blattextrakte von Versuch 1 werden in 2 Zentimeter Abstand vom unteren Plattenrand mit einer Mikropipette oder Kapillare streifenförmig auftragen, ohne dass die Sorptionsschicht dabei nennenswert zerstört wird. Für den Direktvergleich von Pigmentextrakten aus unterschiedlichem Pflanzenmaterial wählt man strichförmige Auftragungen von etwa 3 bis 5 Zentimeter Breite.

Die Trenndauer der Kieselgel-Platten im beschriebenen Laufmittelsystem nimmt etwa 60 Minuten in Anspruch.

Beobachtung

Die mit klarem Abstand zueinander aufgetrennten Farbstoffzonen lassen sich den benannten Pigmentklassen aus den Versuchen 1 und 4 zuordnen, wobei in diesem Fall zusätzlich eine Unterscheidung verschiedener Xanthophylle (ohne weitere Detailcharakterisierung) möglich ist.

Dieses Verfahren eignet sich hervorragend zur scharfbandigen Auftrennung auch von Blüten- oder Fruchtextrakten, die sehr zahlreiche Carotenoide oder ihre Derivate (Glykoside) enthalten. Als besonders eindrucksvoll erweisen sich die sogenannten Sekundärcarotenoide in Aceton-Extrakten aus küchenüblichem Paprikapulver oder getrockneten Tomaten. Ferner kann man die beschriebenen Trennungen im Halbmikromaßstab auch an Objektträgern durchführen, die mit Kieselgel G (zum Beispiel Merck Nummer 7736) nach dem Eintauchverfahren beschichtet wurden.

Versuch 6:

Dünnschichtchromatographie hydrophiler Blattpigmente

Geräte: Dünnschichtchromatographie-Platten (DC-Platten) (mit Cellulose be-

schichtet, zum Beispiel Fluka/Riedel-de Haen Nummer 95413), Trennkammer für DC-Platten im Format 20 mal 20 Zentimeter oder 5 mal 20 Zentimeter, Glaskapillaren oder Pipettenspitzen aus Kunststoff

Chemikalien: Trenngemisch (Laufmittel): n-Butanol : Essigsäure : Wasser = 90 : 15 : 30

Zeitbedarf: 1 bis 2 Stunden

Durchführung

Die aus der Vorreinigung eines Gesamt-extraktes durch Zweiphasen-Gemische (Versuch 1) gewonnene Fraktion der Vakuolenfarbstoffe wird in zwei Zentimeter Abstand vom unteren DC-Plattenrand mit einer Mikropipette oder Kapillare streifenförmig aufgetragen. Nach Antrocknung der aufgetragenen Pigmentextrakte stellt man die DC-Platte in das angegebene Laufmittelsystem. Die Trenndauer in diesem System nimmt etwa 1 bis 2 Stunden in Anspruch.

Beobachtung

Die hydrophilen Herbstblattpigmente trennen sich je nach Herkunft in mehrere Farbstoffzonen aber häufig mit nur einer Hauptkomponente auf, deren genauere Charakterisierung im Rahmen dieser Versuchsvorschläge keine Rolle spielt. Ebenso bleiben hier die eventuell vorhandenen Anthoxanthine unberücksichtigt. Im Rohextrakt vorhandene lipophile Pigmente verbleiben auf der Startzone.

Erklärung

Sollten Blätter von Pflanzen mit der Betalain- Alternative der Vakuolenbeladung ausgewählt worden sein (Blattstiele oder Blatthauptrippen der Rote Bete (*Beta vulgaris*)), ist mit diesem DC-Verfahren eine zuverlässige Unterscheidung zu den Anthocyanen möglich: Während diese Flavonoide durchweg größere Rf-Werte aufweisen und auf der DC-Platte weit aufsteigen, bewegen sich die Betalaine nur wenige Millimeter von der Startzone weg. Unter den heimischen oder häufig angepflanzten Gehölzen finden sich keine Arten, die in ihren Laubblättern Betalaine führen.

Literatur

- (1) *Kremer, Bruno, P., Keil, Manfred* (Hrsg.) (1993): Experimente aus der Biologie. VCH, Weinheim
- (2) *Hoffmann, Franz, Hoffmann-Tsay, Shyun* (1994): Das Experiment. Ein Spiel mit Blütenfarben. *BiuZ* 24, Seite 139-143
- (3) *Schopfer, Peter, Brennicke, Axel* (1999): Pflanzenphysiologie. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York
- (4) *Larcher, Walter* (1994): Ökophysiologie der Pflanzen. 5. Auflage, Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart; *Schulze, Ernst-Detlev, Beck, Erwin, Müller-Hohenstein, Klaus* (2002): Pflanzenökologie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- (5) *Kleber-Janke, Tamara, Kremer, Bruno, P.* (1997): Abschied auf Raten. Grüne Inseln im bunten Herbstlaub. *BiuZ* 27, Seite 369-374
- (6) *Heldt, Hans-Walter* (1996): Pflanzenbiochemie. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg
- (7) *Kremer, Bruno, P.* (1998): Bäume Mitteleuropas. Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart
- Kremer, Bruno, P.* (2001): Bäume, Mosaik-Verlag, München
- (8) *Bannwarth, Horst, Kremer, Bruno, P., Massing, Dorothea* (1996): Stoffe und Stoffwechsel. Grundlagen, Abläufe, Experimente. Quelle & Meyer Verlag, Wiesbaden
- (9) *Gan, Susheng, Amasino, Richard, M.* (1997): Making sense of senescence. *Plant Physiology* 113, Seite 313-319