



## 7. Schülerpraktikum zur BIO-Analytik

**Dienstag: 03. März 2009, 9.30 – 16.00 Uhr**

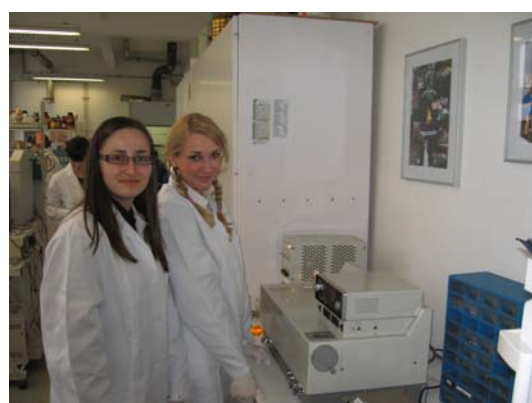
**10 Schüler aus den Sächsischen Gymnasien:**

Ferdinand –Sauerbruch-Gymnasium Großröhrsdorf	Immanuel- Kant –Gymnasium Wilthen
Landau- Gymnasium Weißwasser	Joliot- Curie- Gymnasium Görlitz
Geschwister- Scholl- Gymnasium Löbau	Augustum- Annen –Gymnasium Görlitz
Städt.- Goethe- Gymnasium Bischofswerda	Lessing- Gymnasium Hoyerswerda

**„In Erwartung“**



**Interesse & Freundlichkeit**



**Jetzt löst „es“ sich!**



**„Lösung“ gefunden?**



Herzlichen Dank Herrn Wolf-Dieter König (Fachberater Biologie) für die gute Betreuung der interessierten Schüler!

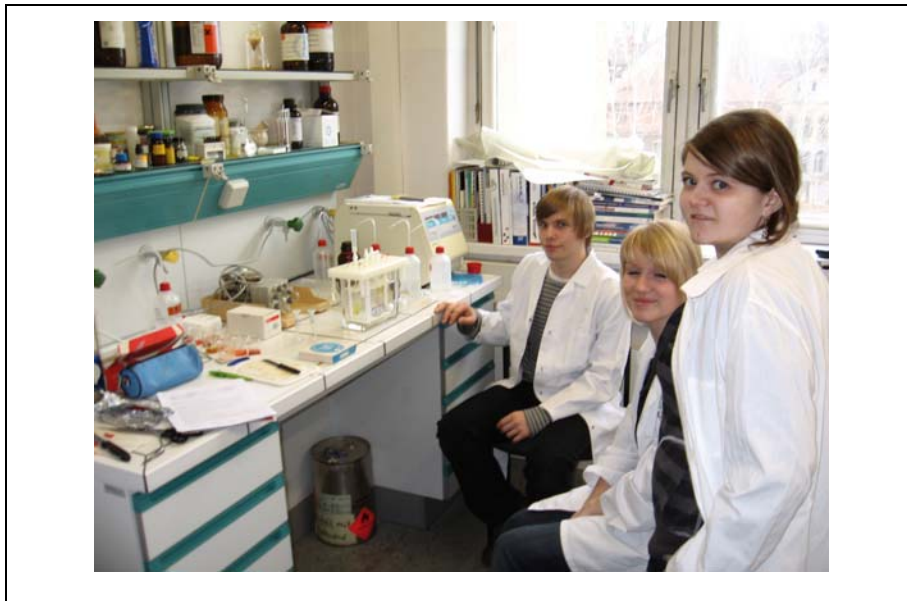
# 7. Schülerpraktikum zur BIO-Analytik

**Mittwoch: 04. März 2009, 9.30 – 16.00 Uhr**

**10 Schüler aus den Sächsischen Gymnasien:**

Johanneum – Hoyerswerda	Friedrich-Schleiermacher-Gymnasium Niesky
Geschwister- Scholl- Gymnasium Löbau	Schiller –Gymnasium Bautzen
Humboldt –Gymnasium Radeberg	Augustum- Annen –Gymnasium Görlitz

**Augen auf oder zu?**



**„Wir haben fertig“**



**Herzlichen Dank an Frau Monika Opitz für die engagierte Organisation und die gute Betreuung der interessierten Schüler!**

Hochschule Zittau/Görlitz (FH)  
Külzufer 2, D-02763 Zittau  
Labor „Instrumentelle Bioanalytik“ Haus VI, R 118  
web: [www.papa-gey.de](http://www.papa-gey.de) e-mail: [papa-gey@gmx.de](mailto:papa-gey@gmx.de)

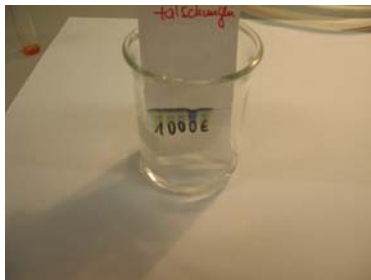


## 7. Schülerpraktikum zur BIO-Analytik

Dienstag 03. März 2009, 9.30 – 16.00 Uhr  
Mittwoch 04. März 2009, 9.30 – 16.00 Uhr  
Donnerstag 05. März 2009, 8.00 – 17.00 Uhr

### Pro-Programm

Fälschungen ? – PC



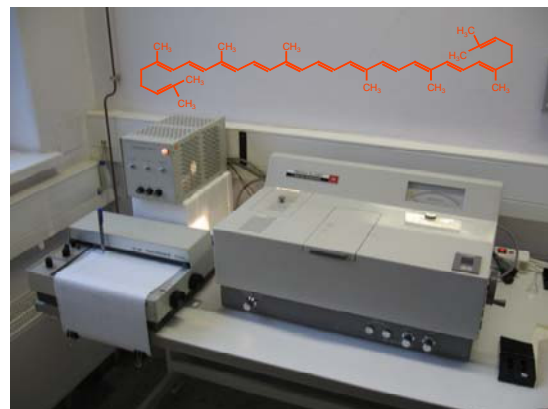
Lebensmittel-**Farbstoff**-  
Analytik mittels TLC



Farbstoff-**Extraktion**

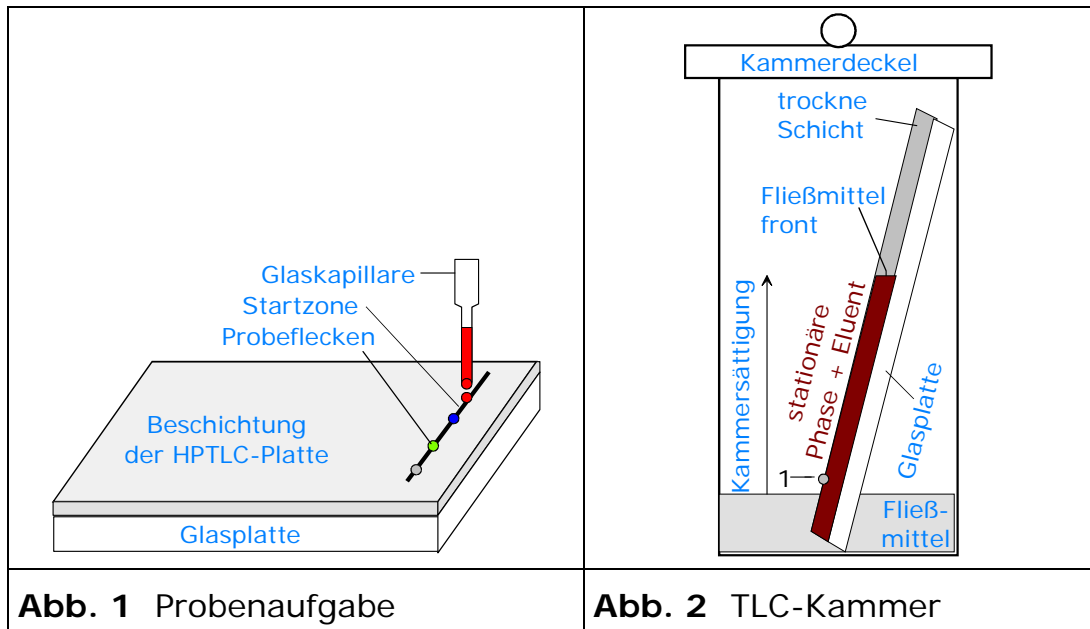


Analyse von **Lycopin** mittels  
UV/VIS-Spektroskopie



# 1. Chromatographie

- Eine Analysenprobe besteht aus Analyt(en) und Matrix.
- Die Chromatographie ist eine analytische Trennmethode.
- In der Chromatographie werden die Analyte zwischen einer mobilen und einer stationären Phase verteilt.
- Man unterscheidet zwischen Gas(GC)- und Flüssigchromatographie(LC: *Liquid Chromatography*) – in Abhängigkeit davon, ob die mobile Phase ein Gas oder eine Flüssigkeit ist.
- In der LC existieren die Techniken Papierchromatographie (PC), Dünnschichtchromatographie (DC bzw. TLC: *Thin Layer Chromatography*), die auf Glasplatten oder Folien durchgeführt wird, und **Säulenchromatographie**.
- In den Abbildungen 1 und 2 werden die Grundlagen der DC/HPTLC (HP: *High Performance*) dargestellt (Diskussion erfolgt im Praktikum).

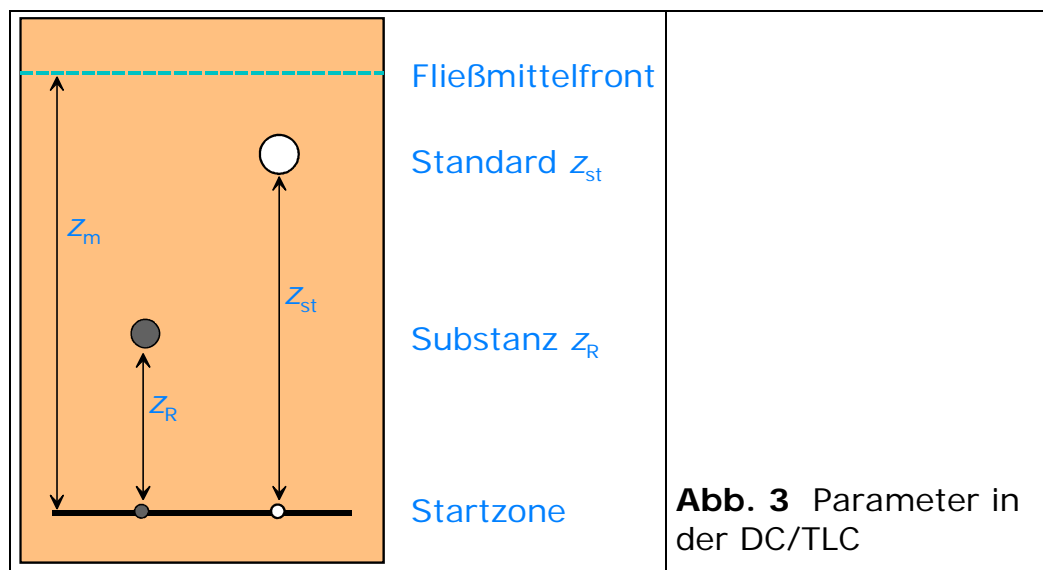


- Innerhalb der Auswertung von TLC-Chromatogrammen dient der Retentionsfaktor ( $R_f$ ) als qualitatives Maß, der auch als Verzögerungsfaktor bezeichnet wird.
- Er ist als das Verhältnis der Wanderungsstrecke des Analyten,  $z_R$ , zur Wanderungsstrecke der mobilen Phase ( $z_M$ ) definiert (siehe Abbildung 3 und Gleichungen 1/2).

$$R_f = \frac{z_R}{z_M} \quad (1)$$

$$R_{st} = \frac{z_R}{z_{st}} \quad (2)$$

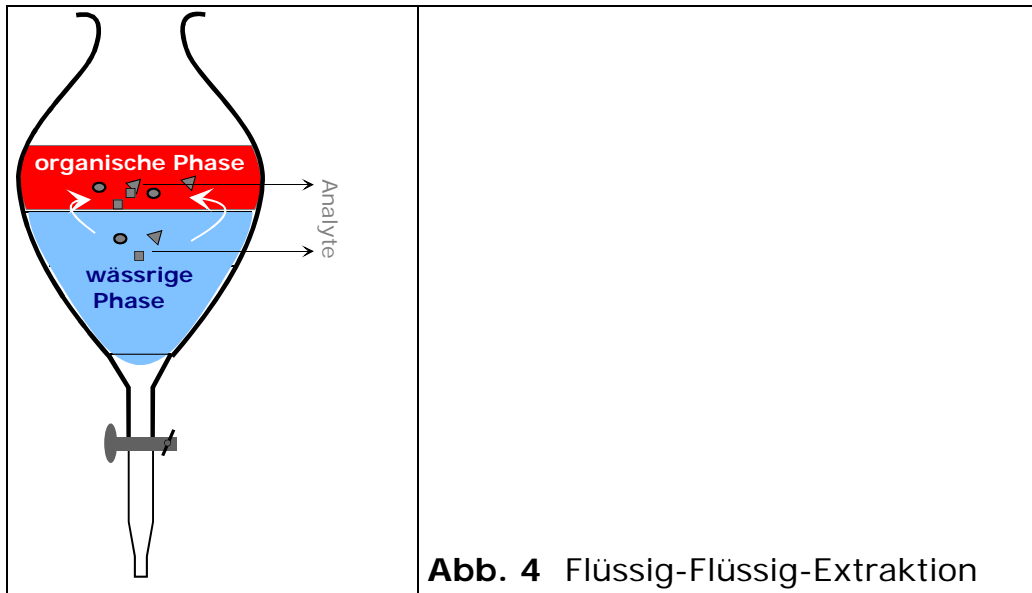
- Zur Erzielung besserer Reproduzierbarkeiten in der Dünnschichtchromatographie wurde ein Retentionsfaktor ( $R_{st}$ ), eingeführt, der sich auf eine Standardsubstanz ( $z_{st}$ ) bezieht.



## 2. Extraktion

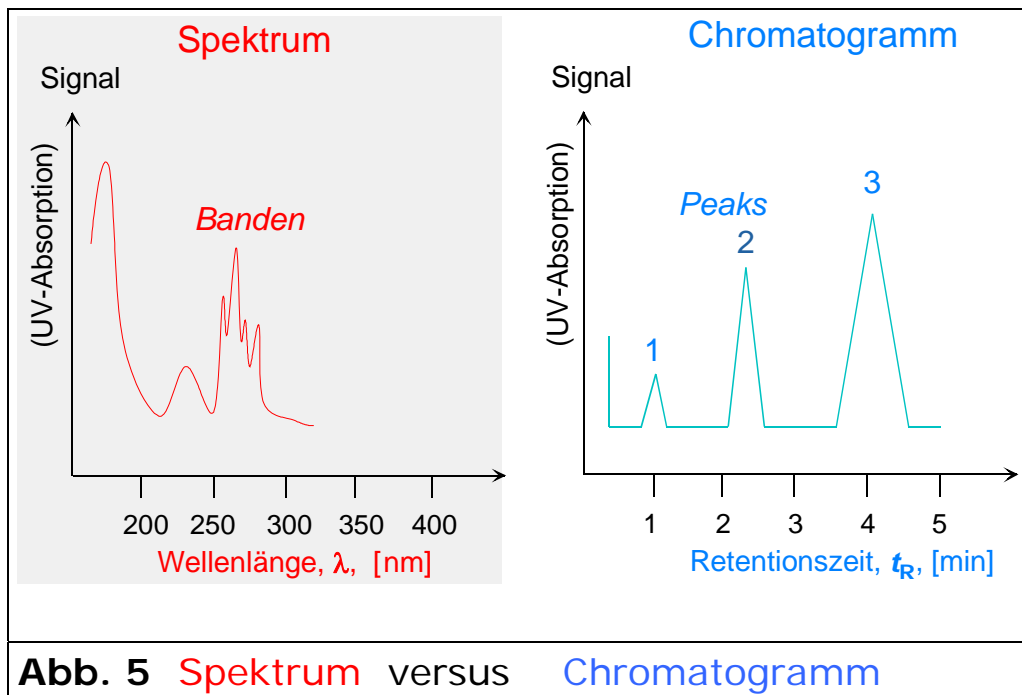
- Unter Flüssig-Flüssig-Extraktion (LLE: *Liquid Liquid Extraction*) versteht man im allgemeinen die Extraktion einer wässrigen Lösung mit einem mit Wasser nicht mischbaren organischen Lösungsmittel.
- Bei der Flüssig-Flüssig-Extraktion sollte zwischen dem Extraktionsgut und dem Extraktionsmittel ein genügend hoher Dichteunterschied sein, um das Abtrennen beider Phasen zu ermöglichen.
- Die Polarität des Lösungsmittels zum Extraktionsgut muss unterschiedlich sein, damit sich die zu extrahierenden Stoffe nicht ineinander lösen.

- Die Extraktion kann als einfache Variante durch „Ausschütteln“ durchgeführt werden (Abbildung 4).
- Dies ist mit einer einmaligen Gleichgewichtseinstellung verbunden; es resultieren Extrakt und Raffinat.

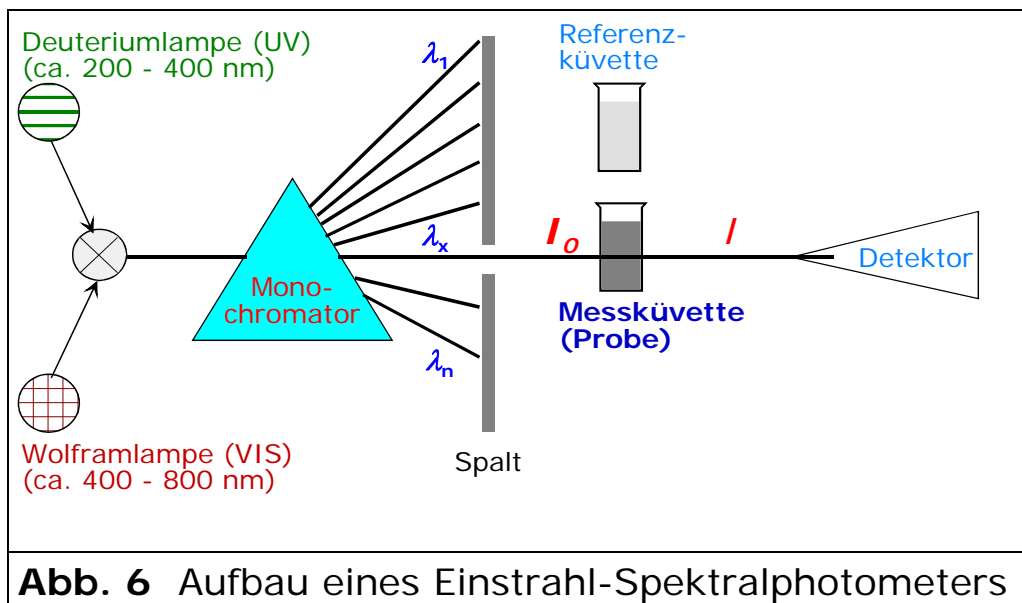


### 3. UV/VIS-Spektroskopie

- Die Spektroskopie beinhaltet die analytischen Methoden, die auf Wechselwirkungen zwischen elektromagnetischer Strahlung und Materie basieren.
- Materie bedeutet die Gesamtheit des zu analysierenden Probenmaterials (i. d. R. die Analyte).
- Das Gebiet der UV-Strahlung liegt zwischen etwa 200 und 400 nm und der daran anschließende sichtbare Spektralbereich erstreckt sich bis ca. 800 nm.
- Das Ergebnis einer UV/VIS-spektroskopischen Messung ist ein Spektrum, bei dem auf der Ordinate die Intensität der elektromagnetischen Strahlung und auf der Abszisse die entsprechenden Wellenlängenbereiche aufgetragen sind.
- Demgegenüber erfolgt in einem Chromatogramm die Aufzeichnung der Intensität eines Signals (Absorption) gegen die Zeit (siehe Abbildung 5).



- Die Abbildung 6 zeigt den schematischen Aufbau eines Einstrahl-Spektralphotometers.



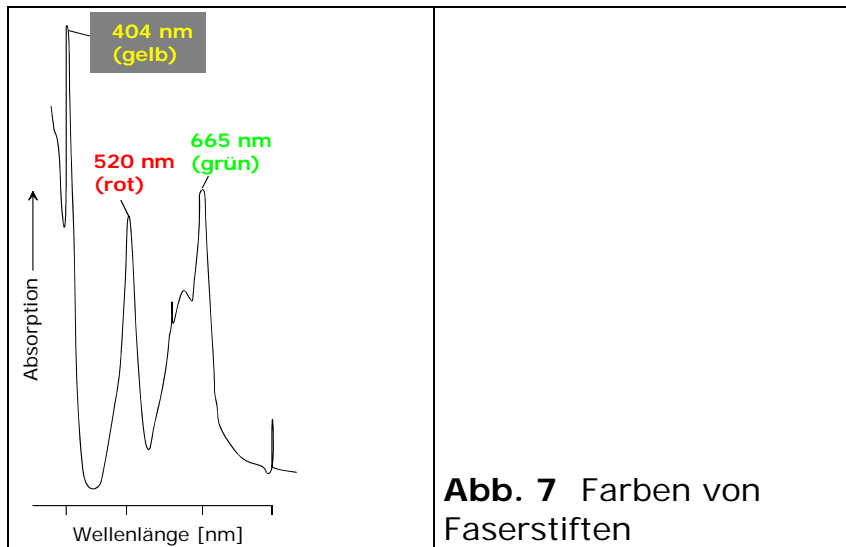
- Das von einer Lampe ausgehende polychromatische Licht wird in einem Monochromator spektral in einzelne Wellenlängen zerlegt.
- Die selektierte Wellenlänge ( $\lambda_x$ ) trifft danach mit der Intensität  $I_0$  auf eine Messküvette, die die in einer Flüssigkeit gelöste Probe – Matrix plus Analyt(e) – enthält.

- Bei Einstrahlgeräten wird der Lichtstrahl alternierend auf die Vergleichsküvette geleitet, um Untergrundabsorptionen durch Streuung und Reflexion zu eliminieren.
- Ein Detektor (Empfänger) registriert die geschwächte Wellenlänge der Intensität  $I$ .
- Als Lichtquellen dienen im UV-Bereich Deuteriumlampen und im sichtbaren Bereich werden Halogen- oder Wolframlampen eingesetzt.
- Die Zerlegung des Lichtes erfolgt in einem Monochromator (Filter, Prisma, Gitter).
- Während sich Gitter durch eine hohe spektrale Auflösung auszeichnen, ist das Prisma durch seine hohe Lichtintensität gekennzeichnet.
- Im sichtbaren Spektralbereich (400–800 nm) werden Glasküvetten eingesetzt.
- Im UV-Bereich (200–400 nm) müssen auf Grund der Eigenabsorption des Glases hochreine Quarzküvetten verwendet werden.
- Als Detektoren dienen sogenannte Sekundärelektronenvervielfacher (SEV) oder Fotodioden.

### Applikationen aus der UV/VIS-Spektroskopie

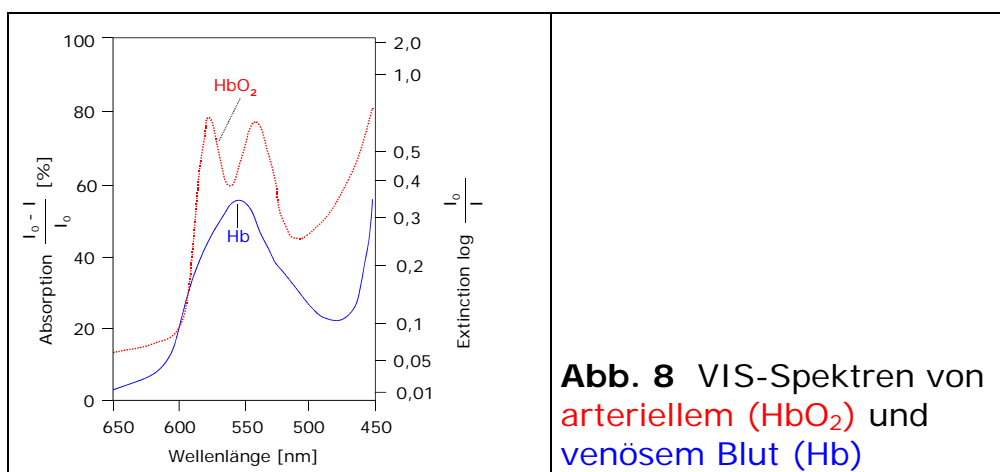
- Schließlich sollen noch zwei ganz praktische Beispiele die Aussagemöglichkeiten der UV/VIS-Spektroskopie belegen; vor allem im sichtbaren Spektralbereich.
- Farbgemische, die aus gelben, grünen oder roten Tinten bzw. aus entsprechenden Faserstiften resultieren, können hinsichtlich der einzelnen Farben anhand der Absorptionsmaxima zugeordnet werden (Abbildung 7).
- So erscheint bei 404 nm ein Absorptionsmaximum für die Farbe Gelb.
- Bei den Maxima 520 nm und 665 nm werden der rote bzw. der grüne Farbstoff registriert.





**Abb. 7** Farben von Faserstiften

- Signifikant sind auch die Unterschiede in den Spektrenverläufen, wenn man arterielles (sauerstoffreiches) und venöses (sauerstoffarmes) Blut vergleicht.
- Im praktischen Versuch kann auch Kapillarblut aus der Fingerkuppe entnommen und mit Wasser verdünnt in eine Küvette überführt werden.
- In dieser Probe ist Sauerstoff an den roten Blutfarbstoff Hämoglobin ( $\text{HbO}_2$ ) gebunden und das Spektrum im sichtbaren Bereich zeigt um 550 nm zwei charakteristische Absorptionsmaxima (Abbildung 8).
- Durch Zugabe einer kleinen Spatelspitze Natriumthiosulfat direkt in die Messküvette erfolgt die Reduktion des Hämoglobins zu Desoxyhämoglobin.
- Im nachfolgend aufgenommenen Spektrum verschwinden die beiden Absorptionsmaxima und es resultiert eine relativ breit ausgeprägte Bande in diesem Spektralbereich (siehe „Hb-Kurve“).



**Abb. 8** VIS-Spektren von arteriellem ( $\text{HbO}_2$ ) und venösem Blut (Hb)