

Pflanzenchemie im Experiment, Teil 5: Pflanzenfarbstoffe

Erntezeit – Obst und Gemüse von grün bis rot

Georg Schwedt, Bonn

Chlorophylle, Carotinoide und Flavonoide/Anthocyane bestimmen die Vielfalt an Farben in Obst und Gemüse. In der Pflanzenbiochemie werden sie als Sekundärmetabolite mit wesentlichen Funktionen im Stoffwechsel (Chlorophylle), als Lichtschutzfaktoren oder Signalstoffe sowie Antibiotika (Flavonoide) bezeichnet. In der Ernährung des Menschen spielen sie als Provitamine oder Antioxidantien ebenfalls eine wichtige Rolle.

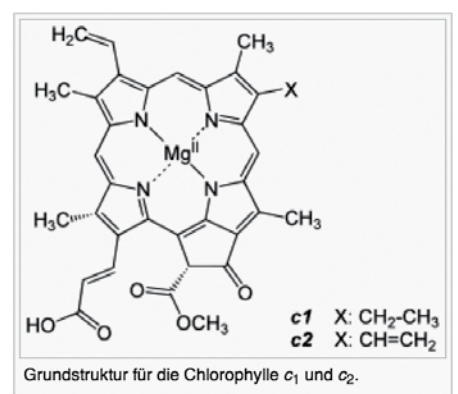
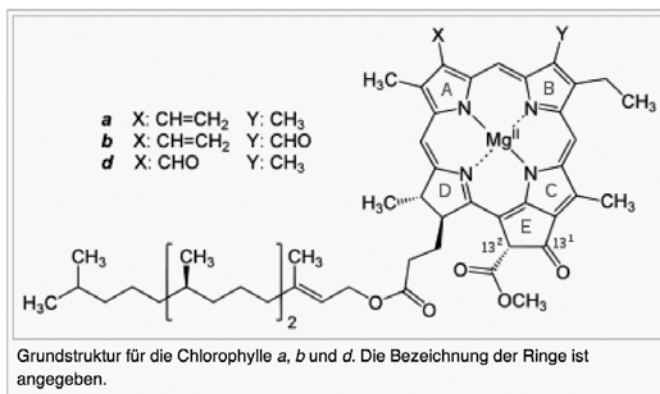
Chlorophylle – in Salat und Petersilie

In der Trockensubstanz der Blätter sind 1-2 % an Chlorophyllen enthalten, deren Synthese in den Plastiden erfolgt. Wichtiger Baustein für die Synthese ist das δ -Aminolävulinat, das in den Plastiden durch Reduktion von Glutamat entsteht. Zwei Moleküle δ -Aminolävulinat kondensieren zum Porphobilinogen als Baustein für den weiteren Aufbau von Tetrapyrrolen.

Die Strukturaufklärung des grünen Blattfarbstoffes gelang Richard Willstätter und seinen Mit-

arbeitern zwischen 1903 und 1911 (Nobelpreis 1915). Die Chlorophylle a und b unterscheiden sich in einer Seitenkette (Methylrest im Ring b beim Chlorophyll a, Formylrest beim Chlorophyll b). Das Verhältnis beider Chlorophylle zueinander in Pflanzen beträgt etwa 3:1 – Chlorophyll a ist das zentrale Photosynthesepigment, Chlorophyll b mit einem zu längeren Wellenlängen verschobenen Absorptionsspektrum erhöht die Effizienz der Nutzung von Sonnenenergie. Chlorophyll a ist blaugrün, Chlorophyll b gelbgrün gefärbt. Mit der Trennung der Blattfarbstoffe durch den Botaniker Tswett 1901 begann die Geschichte der Chromatographie. Über die komplexen Mechanismen der Photosynthese (Aufbau von Kohlenhydraten aus Kohlenstoffdioxid und Wasser) berichtet ausführlich Hans W. Heldt in seinem Lehrbuch „Pflanzenbiochemie“ [1]. Beide Chlorophylle befinden sich in den Chloroplasten in Form gleichmäßig geschichteter Membranstapel. Für die Photosynthese stellen die Chlorophylle, die mit mehreren Proteinen assoziiert sein können, wichtige Redoxsysteme dar. Im Zentrum der zyklischen Tetrapyrrole befindet sich ein Magnesiumatom. Die Fettlöslichkeit

Name	Struktur	C ₃ -Rest	C ₇ -Rest	C ₈ -Rest	C ₁₇ -Rest	C ₁₇₋₁₈ -Bindung	Summenformel
Chlorophyll a		-CH=CH ₂	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₂ COO-Phytyl	Einfachbindung	C ₅₅ H ₇₂ O ₅ N ₄ Mg
Chlorophyll b		-CH=CH ₂	-CHO	-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₂ COO-Phytyl	Einfachbindung	C ₅₅ H ₇₀ O ₆ N ₄ Mg
Chlorophyll c ₁		-CH=CH ₂	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	-CH=CHCOOH	Doppelbindung	C ₃₅ H ₃₀ O ₅ N ₄ Mg
Chlorophyll c ₂		-CH=CH ₂	-CH ₃	-CH=CH ₂	-CH=CHCOOH	Doppelbindung	C ₃₅ H ₂₈ O ₅ N ₄ Mg
Chlorophyll d		-CHO	-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	-CH ₂ CH ₂ COO-Phytyl	Einfachbindung	C ₅₄ H ₇₀ O ₆ N ₄ Mg



Die Abbildung zeigt Chlorophyll-Grundgerüste und deren Substitutionsmuster.

der Chlorophylle ist auf den Substituenten am Tetrapyrrol, einen Phytolrest (sekundärer Alkohol mit Diterpen-Charakter – hydrophob) zurückzuführen. [2]

Experiment

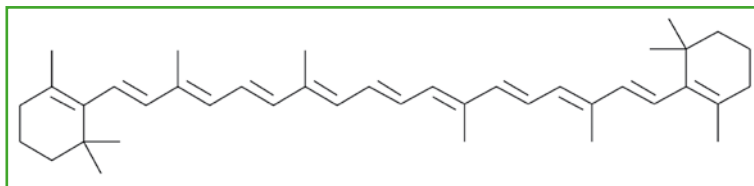
Am besten geeignet ist gerebelte Petersilie (getrocknet) aber auch zerkleinerte grüne Blätter (Spinat) bzw. Schale von grünen Äpfeln (gerieben) sind geeignet. Sie werden in einem Rollrandglas (Schnappdeckelglas) mit Spiritus übergossen und dann extrahiert: immer wieder einmal kräftig schütteln und längere Zeit stehen lassen. Dann gießt man den dunkelgrünen (bis grüngelben) Extrakt in ein zweites Glas, fügt etwa die Hälfte des Volumens an Reinigungsbenzin hinzu und schüttelt den Inhalt des verschlossenen Glases für etwa 30 Sekunden kräftig durch.

Nach der Phasentrennung wird in der oberen Benzinphase eine intensive Grünfärbung, in der unteren alkoholischen bzw. wässrig-alkoholischen Phase dagegen eine Gelbfärbung durch die Begleitstoffe der Chlorophylle festgestellt. Es handelt sich um Xanthophylle (oxidierte Carotine). Die unpolaren (lipophilen) Chlorophylle verteilen sich in der Benzinphase, die polaren Xanthophylle bevorzugt im polaren Lösungsmittelgemisch (Ethanol/Wasser). Andere Begleitstoffe wie Carotine lösen sich ebenfalls im Benzin; ihre gelbe Farbe wird jedoch infolge der wesentlich höheren Konzentration der Chlorophylle verdeckt.

Im Herbst werden die Chlorophylle abgebaut und die Gelbfärbung des Laubes ist dann auf die *Xanthophylle* zurückzuführen. Auch das Gelbfärben von beispielsweise Salat ist durch das gleiche Phänomen zu erklären. Xanthophylle haben in den Blättern die Funktion, energiereiche UV-Strahlung zu absorbieren, sie dienen ebenso wie Chlorophyll b zur besseren Ausnutzung der Lichtenergie.

Carotine – die Farbstoffe der Möhre

β -Carotin ist die Ausgangssubstanz für die Synthese des Sehpigments Rhodopsin und wird daher auch als Provitamin A (essenziell) der menschlichen Ernährung bezeichnet. Carotinoide haben als Farbstoffe sowohl eine Bedeutung bei der Photosynthese als auch als Lockstoffe in Blüten. Der Pharmazeut und Chemiker Heinrich Wilhelm Ferdinand Wackenroder (1798-1854) hat 1831 an der Universität Jena aus der Mohrrübe (Karotte) deren gelben Farbstoff Carotin isoliert. Carotine sind isoprenoide Kohlenwasserstoffe (Tetraterpene) mit der Summenformel $C_{40}H_{56}$. Sie werden auch als Hautbräunungsmittel, als Lebensmittelfarbstoff und als Antioxidans eingesetzt.



Strukturformel von β -Carotin.

Experiment

Der Boden eines Rollrandglases wird mit geriebener Möhre bedeckt. Dann fügt man 2-3 cm hoch Spiritus hinzu, schüttelt kräftig und filtriert nach mehrmaligem Schütteln in ein zweites Glas. Dann fügt man zu dem intensiv gelb gefärbtem Extrakt das gleiche Volumen an Reinigungsbenzin hinzu und schüttelt. Nach der Phasentrennung, die hier wegen des hohen Wassergehaltes der Möhre ohne Zusatz von Wasser eintritt, ist nur die obere Benzinphase gelb gefärbt.

Möhren bestehen zu 90 % aus Wasser und enthalten als Farbstoff α - und β -Carotin (durchschnittlich 2,1 bzw. 5,5 mg je 100 g). Mit diesen hohen Gehalten an vor allem β -Carotin stellen sie die beste Quelle für das Provitamin A dar.

Xanthophylle

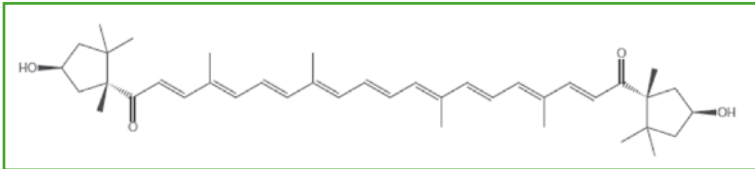
Der Name *Carotinoide* stammt von dem Botaniker Tswett (s. Chlorophylle), der diese Gruppe von Naturfarbstoffen nach dem Carotin benannte. Unter der Sammelbezeichnung Carotinoide (von lat. carota: Möhre, Karotte) fasst man Carotine als isoprenoide Kohlenwasserstoffe und alle gelb bis rot gefärbten Derivate mit meist 11- bis 13fach ungesättigten Molekülen zusammen, die in Blättern, Blüten und Früchten von Pflanzen sowie auch in tierischem Gewebe weit verbreitet sind. *Carotine* bestehen nur aus Kohlen- und Wasserstoffatomen, *Xanthophylle* (abgeleitet von griech. xanthos: gelb und phyllon: Blatt) sind Sauerstoffderivate mit Hydroxy-, Epoxy- und Oxo-Gruppen.

In Pflanzen stellen Carotinoide so genannte akzessorische („nebensächliche“) Pigmente dar, die an der Photosynthese beteiligt sind und Pflanzen auch gegen eine Photosensibilisierung schützen. Carotinoide kommen zwar auch in tierischem Gewebe vor, sie werden aber nur von Pflanzen synthetisiert.

Experimente

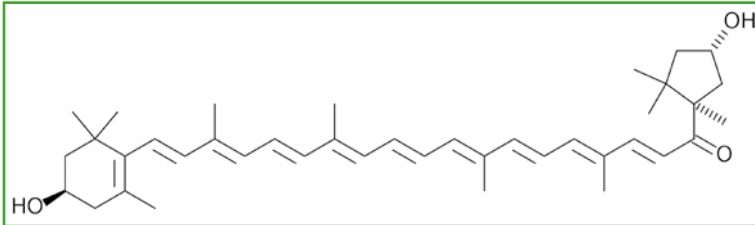
Zur Unterscheidung von Carotinen und Xanthophyllen sind einfache Experimente mit Flüssigflüssig-Verteilungen geeignet. Sie lassen sich mit *Gemüsepaprika*, *Tomaten* und auch *Äpfeln* (grüne und gelbe) durchführen.

Es werden jeweils in kleine Teile zerschnittene Proben der Gemüsearten bzw. geriebene Apfelschale mit Spiritus extrahiert. Zur Mazeration der



Oben: Strukturformel von Capsorubin.

Unten: Strukturformel von Capsanthin.



Schalen wird etwas Soda (Natriumcarbonat) und Wasser zugefügt. Die sodaalkalischen Extrakte sind deutlich intensiver gefärbt. Dann fügt man nach der Filtration in jeweils ein zweites Glas Benzin hinzu und schüttelt wie beschrieben. Die Beobachtungen lassen sich wie folgt deuten:

Tomate

In der *Tomatenschale* ist vor allem *Lycopin* (ein spezielles Carotin – mit 3-8 mg/100 g) enthalten, das sich im Benzin löst. In der wässrig-ethanolischen Farbe verbleibt *Lycophyll* (Polyenalkohol). Lycopin (fettlöslich) hat eine große Bedeutung als Antioxidans im menschlichen Körper. Das Mo-

dellxperiment macht deutlich, dass Lycopin vor allem dann gut und schnell im Körper für den Organismus verfügbar ist, wenn zuvor ein Tomatensaft vorgelegen hat und nicht erst der „Aufschluss“ der Tomatenschale (durch Magensäure und Enzyme) stattfinden muss. Auch die Zubereitung mit Ölen fördert die Bioverfügbarkeit.

Paprika

Beim *Paprika* werden folgende Beobachtungen gemacht: Bei grüner Paprika ist der Extrakt intensiv grün, die Benzinphase grün (Chlorophylle), die Spiritusphase gelb (Kryptoxanthin: Polyenalkohol) gefärbt. Bei gelber Paprika: Extrakt intensiv gelb (mit einem leichten Grünstich), obere Phase schwach gelb, untere Phase gelb (getrübt); bei orangefarbener Paprika: Extrakt gelb, obere Phasen intensiver gelb als die untere; bei roter Paprika: Extrakt orangefarben, obere Phase orange (β -Carotenepoxid), untere Phase rötlicher (Capsanthin und Capsorubin: Polyketone).

Äpfel

Mit *Äpfeln* wie Granny Smith (grün) und Golden Delicious (gelb) erhält man folgende Ergebnisse. [3] *Granny Smith*: Extrakt grüngelb (trüb), obere Phase grasgrün (klar), untere Phase schwach gelb, stark getrübt (Soda-Zusatz verbessert die Phasentrennung, untere Phase deutlicher gelb); *Golden Delicious*: Extrakt gelb, nur obere Phase gelb, untere Phase farblos.

In gelben Äpfeln ist vor allem Violaxanthin als Polyenepoxid vorhanden, das sich in Benzin löst (s. roter Paprika).

Die „GreenBox: Der Apfel – von der Schale bis zum Kern“ ist eine Experimentierbox mit CD. Sie wurde vom Autor dieses Artikels entwickelt.



Anthocyane

Anthocyane bilden rote und blaue Blütenpigmente. Sie sind Glucoside von Anthocyanidinen und zählen zu den Flavylumfarbstoffen (Flavonoide – Grundgerüst: Flavon). [4] [5] [6] Charakteristisch ist ihre Wasserlöslichkeit (sie kommen im Zellsaft gelöst vor) und ihre pH-abhängigen Farben (sauer: rot, neutral: blau, alkalisch: grün bis gelb).

Ihre speziellen Namen haben sie nach ihrem jeweiligen Vorkommen – so Rubrobrassin im Rotkohl – erhalten. Auch diese Pflanzenfarbstoffe wirken im Körper als Antioxidantien. In Pflanzen sind sie Lichtschutzfaktoren (Schirmpigmente) – so löst eine Bestrahlung von Blättern mit UV-Licht eine stark erhöhte Flavonoidsynthese aus. [1]

Anthocyanidin	Grundstruktur	R ^{3'}	R ^{4'}	R ^{5'}	R ³	R ⁵	R ⁶	R ⁷
Aurantininidin		-H	-OH	-H	-OH	-OH	-OH	-OH
Cyanidin		-OH	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Delphinidin		-OH	-OH	-OH	-OH	-OH	-H	-OH
Europinidin		-OCH ₃	-OH	-OH	-OH	-OCH ₃	-H	-OH
Luteolinidin		-OH	-OH	-H	-H	-OH	-H	-OH
Pelargonidin		-H	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Malvidin		-OCH ₃	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Peonidin		-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Petunidin		-OH	-OH	-OCH ₃	-OH	-OH	-H	-OH
Rosinidin		-OCH ₃	-OH	-H	-OH	-OH	-H	-OCH ₃

Die Stoffgruppe der Anthocyane selbst lässt sich in die Zucker-freien Anthocyanidine (Aglykone) und die Anthocyane (Glykoside) unterteilen. Es sind etwa 250 Anthocyane bekannt. Die Abbildung zeigt einige ausgewählte Anthocyanidine und deren Substitutionsmuster. Anthocyanidine weisen an Position 3 zumeist eine Hydroxylgruppe auf. Bei den Glykosiden der Anthocyanidinen, den Anthocyanen (engl. anthocyanosides), sind in der Regel an der Hydroxylgruppe am Kohlenstoffatom 3 Zuckermoleküle über eine O-glykosidische Bindung gebunden. Das können Glucose, Galactose, Arabinose, Rhamnose und Xylose in Form eines einzelnen Moleküls oder als Di- oder Trisaccharide sein. Durch Acylierung mit aromatischen Pflanzensäuren an diesen ergibt sich die Vielfalt der Anthocyane.

Experimente

Der Nachweis von Anthocyanen (auch die Unterscheidung von roten Carotinoiden) ist am Beispiel des Rotkohls auf einfache Weise möglich. Ein wässriger Extrakt (Auskochen zerkleinerter Blätter) ändert seine Farbe durch Zugabe von Essig (nach Rot), Natron (nach Blau), Soda (nach Grün) und verdünnter Natronlauge (nach einiger Zeit nach Gelb). Diese Indikatoreigenschaften sind auf Ionisierungen sowie auf die Stapelung der Moleküle zurückzuführen. [2] Treten diese Farbänderungen nicht auf (Beispiel Rote Betsaft mit Betanin, rote Äpfel mit speziellen Carotinoiden in der Schale), so handelt es sich nicht um Anthocyane. Diese charakteristische Reaktion kann auch durch die Anwesenheit anderer Inhaltsstoffe überlagert werden (meist durch Pflanzenphenole).

CLB

Literatur

- [1] Heldt, Hans W.: Pflanzenbiochemie, 3. Aufl., Spektrum Akad. Verlag, Heidelberg 2003
- [2] Schwedt, Georg: Chemie für alle Jahreszeiten – Einfache Experimente mit pflanzlichen Naturstoffen, Wiley-VCH, Weinheim 2007
- [3] GreenBox: Der Apfel – von der Schale bis zum Kern (Experimentierbox mit CD), www.FruLab.de, Hamburg 2009 (Vertrieb für Schulen und Lehrer: Fa. Hedinger, Stuttgart)
- [4] Schulz, Stephen: Jugend forscht: Anthocyane in Reihe – „smarte“ Analytik, CLB 08/2003, S. 296-301.
- [5] Schulz, Stephen: Jugend forscht: Synthese von Naturstoffen (sp. Anthocyane): Von Radikalen zu Radikalfängern, CLB 07/2004, S. 254-260.
- [6] Schulz, Stephen: Jugend forscht: Synthese von Naturstoffen (sp. Anthocyane): Von Radikalen zu Radikalfängern (Teil 2), CLB 08/2004, S. 293-301.