

Stofftransport durch die Biomembran

Praktikum: Die Biomembran als Barriere und Schleuse

Material: Küchenzwiebel, 2 Reagenzgläser, kleines Becherglas, RG- Ständer, Stopfen, Pipetten, Skalpell, Pinzette, Objektträger, Deckgläschen

Chemikalien: Neutralrot-Stammlösung ($w = 0,1\%$ in dest. Wasser, leicht sauer): frisch verdünnt im Verhältnis 1:5 mit Leitungswasser, leicht alkalisch; Salzsäure ($c = 1 \text{ mol/l}$), ev. Natronlauge $c=0,1 \text{ mol/L}$, Salatöl (frisch!)

Vorversuch:

Füllen Sie 2 Reagenzgläser ca. 1 cm hoch mit Neutralrotlösung und verfahren Sie wie folgt:

RG 1: + 10 Tropfen Salzsäure

RG 2: + 10 Tropfen Leitungswasser

Man überschichtet die Flüssigkeit in den beiden RG circa 1 cm hoch mit Salatöl, verschließt mit einem Stopfen und schüttelt, dann lässt man kurze Zeit stehen.

Beobachtungen	Farbe der Lösung nach Zugabe von	Farbe der Phasen nach Zugabe von Salatöl und Umschütteln	
		untere Phase	obere Phase
RG 1	Salzsäure:		
RG 2	Leitungswasser:		

Beschreiben Sie die besonderen Eigenschaften des Farbstoffes Neutralrot.

Hauptversuch:

Durchführung:

a) Geben Sie einen Tropfen der Neutralrotlösung auf den Objektträger. Fertigen Sie von der Zwiebelepidermis ein Präparat und legen Sie dieses für 2-3 Minuten in die Neutralrotlösung. Decken Sie sodann mit einem Deckgläschen ab und mikroskopieren Sie.

- Formulieren Sie eine Fragestellung und eine Hypothese zu a)
- Beschreiben Sie Ihre Beobachtung.

b) Saugen Sie mit einem Filterpapier Wasser unter dem Deckgläschen hindurch, bis das Umfeld des Präparats durch Wasser ersetzt ist.

- Erklären Sie die Beobachtungen aus a) und b). Falls dies nicht auf Anhieb gelingt, nehmen Sie die **gestuften Hilfen** am Pult in Anspruch.

Weiter führende Aufgabe- zum Nachdenken

Das in a) hergestellte Präparat wird nun mit einer Lösung von Ammoniak behandelt, indem man eine kleine Portion der Lösung unter dem Deckgläschen hindurch zieht. Formulieren Sie eine Hypothese zu diesem Experiment.

Nach Wild, A. (1999). Pflanzenphysiologische Versuche in der Schule, Biologische Arbeitsbücher 56. Wiebelsheim: Quelle & Meyer Verlag S.100 ff.



Lösungshinweise

Die haltbare Stammlösung wird in dest. Wasser hergestellt.

Vor der Unterrichtsstunde wird ein Teil dieser Lösung im Verhältnis 1:5 mit Leitungswasser verdünnt (falls das Leitungswasser nicht hart und somit leicht alkalisch ist, muss man der Lösung einen Tropfen Natronlauge ($c=0,1\text{mol/L}$) hinzufügen). Die frische, gebrauchsfertige Neutralrotlösung ist nun braunrot. Sie kann über die Stunde hinaus nicht aufbewahrt werden.

Vorversuch:

Beobachtungen	Farbe der Lösung nach Zugabe von	Farbe der Phasen nach Zugabe von Salatöl und Umschütteln	
		untere Phase	obere Phase
RG 1	Salzsäure: kirschrot	kirschrot	farblos
RG 2	Leitungswasser: braun	farblos	braun

Das Neutralrot liegt im pH- Bereich größer 7 als neutrales **Molekül** vor und zeigt lipophile Eigenschaften. Es lässt sich mit Salatöl aus Wasser ausschütteln. Säuert man die Neutralrotlösung zuvor mit wenigen Tropfen Salzsäure an, so wird das Molekül protoniert und dadurch in die ionische Form des **Farbstoff-Kations** umgewandelt, was dazu führt, dass Neutralrot nun hydrophil ist und in der wässrigen Phase verbleibt.

Hauptversuch:

- a) Der lipophile Farbstoff wandert aufgrund des gegebenen Konzentrationsgefälles in die Zelle und schließlich in die Vakuole ein. Dort wird er protoniert (der Vakuoleninhalt ist leicht sauer) und kann sich somit anreichern: Die Ionen des Neutralrot sitzen sozusagen in der Falle, weshalb das Experiment auch als Ionenfallen- Experiment bezeichnet wird. Im mikroskopischen Präparat erscheint nahezu die gesamte Zelle rot gefärbt, aber die Plasmakappen, welche sich bevorzugt in den spitz zulaufenden Enden der Zellen finden, sind ungefärbt.

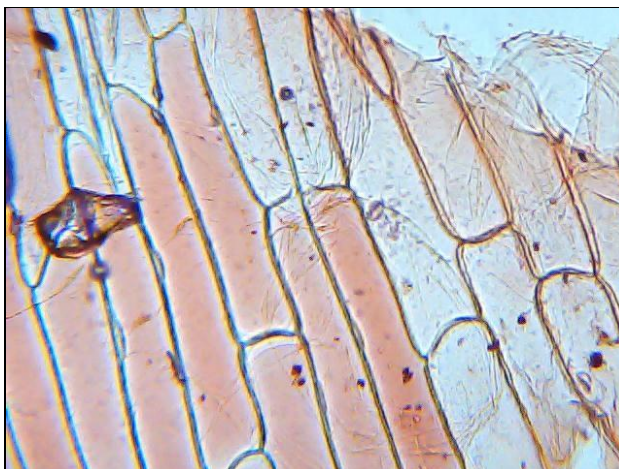


Bild 1: Zellen der Zwiebelepidermis, Vakuole mit Neutralrot gefärbt
lichtmikrosk. Aufnahme, x 100
Quelle: ZPG Biologie

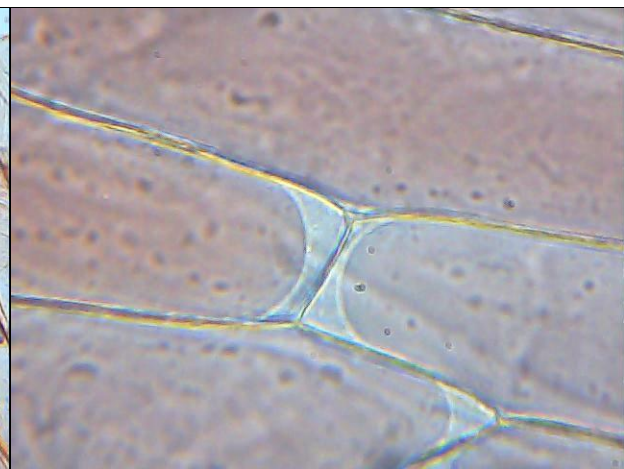


Bild 2: Zellen der Zwiebelepidermis, Vakuole mit Neutralrot gefärbt, Plasmakappen ohne Farbstoff
lichtmikrosk. Aufnahme, x 400
Quelle: ZPG Biologie

- b) Liegt der Farbstoff als Ion vor, so kann er die Zellmembran nicht durchdringen, ein Verlassen der Vakuole/ der Zelle unterbleibt auch dann, wenn ein Konzentrationsgradient in die Gegenrichtung vorliegt.

Weiter führende Aufgabe- zum Nachdenken

Bei der Behandlung der Präparate aus a), deren Zellen den Farbstoff in den Vakuolen angereichert haben, mit einer alkalischen Lösung von Ammoniak, wird das Neutralrot in der Vakuole durch eindringendes Ammoniak neutralisiert und der Farbstoff könnte die Vakuole in Richtung des Konzentrationsgefälles wieder verlassen, was sich in einem Verschwinden der roten Farbe zeigen müsste.

Fazit:

Die Zellmembran ist für neutrale Farbstoffmoleküle (lipophil) durchlässig, nicht aber für positiv geladene Farbstoffionen (hydrophil).

Hiermit ergibt sich die Fragestellung, wie hydrophile organische Moleküle oder Ionen die Membran passieren können für den weiteren Unterrichtverlauf.