

2019

Sommerakademie



Lebensmittel auf dem Prüfstand

Was steckt drinne in tierischer, vegetarischer und veganer Kost

Gro Harlem Brundtland Labor
Sövegjarto-Wigbers/ Jordan
8.7.2019



Inhaltsverzeichnis

Einführung 2

Proteine 3

Nachweis von Proteinen 3

Versuch: Nachweis von Proteinen anhand der Biuret-Reaktion 3

Versuch: Nachweis von Proteinen mit aromatischen Aminosäuren 5

Auftrennen und Identifizierung von Proteinen 7

Versuch: SDS-Page 7

Quantitative Analyse von Proteinen 12

Versuch: Photometrische Bestimmung der Proteinkonzentration nach Biuret 12

Fette 15

Extraktion von Fett 17

Versuch: Quantitative Analyse nach Soxhlet 17

Charakterisierung von Fetten und Ölen 19

Versuch: Qualitative Analyse eines Reinfettes mittels DC 19

Sonstige Bestandteile 25

Salzgehalt von Lebensmittel 25

Versuch: Kochsalzbestimmung nach Mohr 25

Kohlenhydrate in Lebensmitteln 28

Versuch: Nachweis von reduzierenden Zuckern 28



Einführung

Der Markt für spezielle vegetarische und vegane Produkte boomt. Vegetarisches Cordon Bleu, vegane Leberwurst und vegetarische Salami, eifreie Bisquitrolle oder Käseimitat, Tofu, Tempeh und Lupino sind Beispiele dafür. In vielen Supermärkten sind ganze Regale oder Kühltheken mit vegetarischen und veganen Produkten gefüllt. Seit 2008 ist dieses Segment nach Angaben des Handels jährlich um 30 Prozent gewachsen.

Nicht alle Produkte, die für eine vegetarische oder vegane Ernährung angeboten werden, sind wirklich empfehlenswert oder gesünder. Wie bei allen industriell hergestellten Lebensmitteln ist ein Blick auf die Zutatenliste ratsam. Bei der Produktion werden häufig isoliertes Soja- oder Weizeneiweiß oder isolierte Stärke verwendet. Damit handelt es sich um hochverarbeitete Lebensmittel – wie Fertigprodukte mit Zutaten tierischer Herkunft auch - nicht selten mit Geschmacksverstärkern und Aromen sowie teilweise sehr hohen Salzgehalten. Auch der Fettgehalt entspricht nicht immer den Grundsätzen einer ausgewogenen Ernährung.

Während Sojamilch, Tofu und Tempeh noch als gering verarbeitet gelten, sind Sojafleisch, Seitan, Produkte auf der Basis von Milch (zum Beispiel "Valess") oder von Pilzprotein (zum Beispiel "Quorn") stark verarbeitet und daher weniger empfehlenswert. Auch die große Palette an Wurst-, Fleisch- und Ei-Ersatzprodukten sollte man sich genauer anschauen und die Zutatenlisten beachten. (Quelle Verbraucherzentrale)

Viele Verbraucher erwarten, dass Ersatzprodukte eine gesündere Alternative sind. Tatsächlich zeigen sich bei den Nährwerten aber große Unterschiede. So sind Ersatzprodukte für Wurst und Fleisch zwar durchschnittlich kalorienärmer und enthalten weniger gesättigte Fette als die Originalprodukte, dafür jedoch oft zu viel Salz

Die Unterschiede wollen wir genauer wissen und die Produkte in ihrer Zusammensetzung vergleichen.

Dazu bedienen wir uns gängiger chemischer Analyseverfahren und bewerten Proteine, Fette, Salzgehalt und Kohlenhydrate der verschiedenen Lebensmittel.

Bildet Teams aus zwei Teilnehmern und los kann es gehen mit eurer Recherche.

Proteine

Proteine, umgangssprachlich auch Eiweiße genannt, sind Makromoleküle, die aus Aminosäuren aufgebaut sind. Die Aminosäuren bestehen hauptsächlich aus den Elementen Kohlenstoff, Wasserstoff, Sauerstoff, Stickstoff und – seltener – Schwefel. Proteine gehören zu den Grundbausteinen aller Zellen. Sie verleihen der Zelle nicht nur Struktur, sondern sind die molekularen „Maschinen“, die Stoffe transportieren, Ionen pumpen, chemische Reaktionen katalysieren und Signalstoffe erkennen. (Quelle Chemie.de)




Rund 1.000 verschiedene Proteine sind derzeit bekannt. Sie unterscheiden sich alle in ihrer Zusammensetzung, sind vom Aufbau jedoch weitgehend vergleichbar. Alle Proteine bestehen aus Aminosäuren, die in unterschiedlicher Reihenfolge, Anzahl und räumlicher Anordnung miteinander verbunden sind und so die Eigenschaften des Proteins bestimmen. Damit die Proteine biologisch aktiv werden können, müssen sie so gefaltet werden, dass sie in einer dreidimensionalen Struktur angeordnet sind.

Insgesamt kennt man bis heute 20 verschiedene Aminosäuren, die unterteilt werden in die entbehrlichen und unentbehrlichen Aminosäuren. Die unentbehrlichen Aminosäuren kann der menschliche Organismus nicht selbst synthetisieren, weshalb sie mit der Nahrung zugeführt werden müssen, um das Stickstoffgleichgewicht im Körper zu erhalten (Quelle safS-beta.de, Mai 2019)

Nachweis von Proteinen

Versuch: Nachweis von Proteinen anhand der Biuret-Reaktion

Sicherheit:

Chemikalie	Piktogramm	H und P-Sätze
Natronlauge	 Gefahr	H280 Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301 BEI VERSCHLUCKEN: P330 Mund ausspülen. P331 KEIN Erbrechen herbeiführen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen
Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat Cu(II)SO ₄ *5H ₂ O	  Achtung	H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H315 Verursacht Hautreizungen H319 Verursacht schwere Augenreizung. H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung. P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P302 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: P352 Mit viel Wasser / ... waschen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen



Chemikalien:

1 mol/L NaOH, Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat 1 mol/L

Geräte:

Je Probe 1* Reagenzglas, Reagenzglasständer, Trichter, Watte, Rührkern, Magnetrührer, je Probe 1*Erlenmeyerkolben 50 ml, ggf. Mörser und Pistill, Pipetten, 50 ml Messzylinder

Material:

Beispielsweise: Erbsen, Linsen, Joghurt, Zucker, Eiweißshake, Hühnerei...-

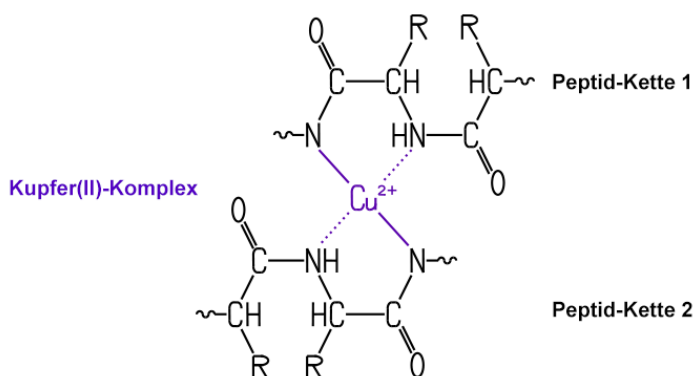
Durchführung:

1. Ca. 5 g der festen Proben werden im Mörser mit 30 ml 0,9% NaCl leicht zerstoßen und anschließend in einem Erlenmeyerkolben filtriert
2. Ca. 5 g der flüssigen Proben werden mit 10 ml isotonischer Kochsalz-Lösung verdünnt
3. Ca. 5 g der weichen Proben werden grob zerkleinert und dann in 10 ml Kochsalz-Lösung für 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt, anschließend in einen 50 ml Erlenmeyerkolben filtriert
4. Hühnereier werden getrennt, das Eiklar mit 100 ml Kochsalzlösung verdünnt und ebenfalls 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt
5. Von den Lösungen werden 2 ml in ein zuvor beschriftetes Becherglas pipettiert
6. Pipettiere in ein weiteres Reagenzglas 2 ml Wasser als negativ Kontrolle
7. Jedem Reagenzglas werden 2 ml Wasser hinzugefügt
8. Mit einer Pipette werden 10 Tropfen Kupfersulfat-Lösung beigemischt
9. In jedes Reagenzglas werden 1 ml Natronlauge pipettiert.

Entsorgung:

Sammelbehälter für anorganische wässrige Lösungen

Achtung: Das Filtrat aufbewahren für die weiteren Versuche!



Bei Zugabe einer Lauge zu einer Lösung von Cu^{2+} -Ionen fällt hellblaues $\text{Cu}(\text{OH})_2$ aus. Aminosäuren bilden mit Cu^{2+} -Ionen einen dunkelblauen Komplex. Dieser ist so stabil, daß die Fällung ausbleibt. Mit Peptiden und Proteinen bilden Cu^{2+} -Ionen einen violetten Komplex. Voraussetzung dafür ist, daß das Peptid mindestens zwei Peptidbindungen besitzt, d.h. diese Reaktion tritt erst mit Tripeptiden und längeren Aminosäureketten



auf. Kupfer wird dabei insgesamt von vier Peptidbindungen komplexiert. Die charakteristische Farbreaktion bezeichnet man als Biuret-Reaktion(Quelle Axel.schunk.de, Mai 2019)

Versuch: Nachweis von Proteinen mit aromatischen Aminosäuren

Sicherheit:

Chemikalie	Piktogramm	H und P-Sätze
Natronlauge NaOH	 Gefahr	H280 Enthält Gas unter Druck; kann bei Erwärmung explodieren. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301+330+331 BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen.. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen
Salpetersäure HNO ₃	 Gefahr	H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden EUH071 Ätzend für die Atemwege P102 Darf nicht in die Hände von Kindern gelangen. P260 Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol nicht einatmen. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P405 Unter Verschluss aufbewahren. P501 Inhalt/Behälter ZEVES zuführen.
Alanin C ₃ H ₇ NO ₂	-	-
Tryptophan C ₁₁ H ₁₂ N ₂ O ₂ n	-	-

Chemikalien: NaOH 1 mol/L, Salpetersäure w 65%, Alanin, Tryptophan

Geräte:

Wasserbad (Heizplatte mit Becherglas), Trichter, Filterpapier, je Probe ein Reagenzglas, Reagenzglasständer, Tropfpipetten, Messpipette 5 ml, Glasstab,

Material:

Beispielsweise: Milch, Hühnerei, Gelatinehaltige Lebensmittel

Durchführung:

1. Ca. 5 g der festen Proben werden im Mörser mit 30 ml 0,9% NaCl leicht zerstoßen und anschließend in einem Erlenmeyerkolben filtriert
2. 5 g der flüssigen Proben werden mit 10 ml isotonischer Kochsalz-Lösung verdünnt



- 5 g der weichen Proben werden grob zerkleinert und dann in 10 ml Kochsalz-Lösung für 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt, anschließend in einen 50 ml Erlenmeyerkolben filtriert
- In zuvor beschriftete Bechergläser gibt man nun je 3 ml der Probenlösungen
- Je eine Mikrospatelspitze der Aminosäuren Alanin und Tryptophan in ein Reagenzglas geben und mit 3 ml Aqua dest lösen
- In jedes Reagenzglas werden 5-10 Tropfen konzentrierte Salpetersäure pipettiert
- Die Reagenzgläser werden im Wasserbad kurz erhitzt
- Notieren der Beobachtung
- Nach dem Abkühlen wird der Niederschlag etwas am Rand des Reagenzglases hochgezogen und mit der Natronlauge betropft.
- Notiere erneut die Ergebnisse

Entsorgung:

Sammelbehälter für organisch wässrige Lösungen

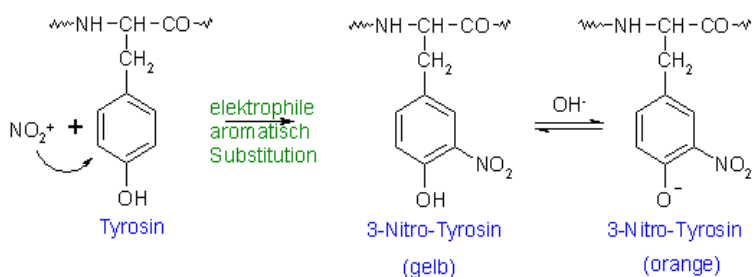
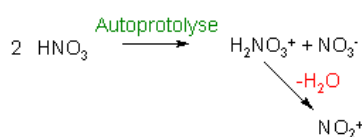
Achtung: weiterhin die Filtrate aufbewahren!!!!

Hintergrund:

Die Xanthoprotein-Reaktion (griech.: *xanthos* „gelb“, *proteuo* „ich nehme den ersten Platz ein“) ist eine Nachweisreaktion für aromatische Aminosäuren in Proteinen. Aromatische Aminosäuren sind solche, die einen Benzolring enthalten. Bei der Zugabe von Salpetersäure (HNO_3) findet eine Nitrierung am Benzolring statt.

Gibt man die Salpetersäure zum Eiklar oder anderen Eiweißen, findet eine Ausflockung statt, die auf die Denaturierung des Eiweißes durch die Säure zurückzuführen ist. Erhitzt man diese Lösung zusätzlich, entsteht eine gelbe Nitroverbindung. Dabei wird ein Wasserstoffatom durch die NO_2 -Gruppe (aus der Salpetersäure) substituiert. So verfärbt sich auch die Haut beim Kontakt mit konzentrierter Salpetersäure gelblich, da ihre Zellen Proteine mit aromatischen Aminosäuren (z. B. Tyrosin, Phenylalanin) enthalten.

Quelle: Wikipedia, Mai 2019





Auftrennen und Identifizierung von Proteinen








Versuch: SDS-Page

Sicherheit:

Tragen von üblicher Laborschutzausrüstung und Nitrilhandschuhen, Teile des Versuches finden im Abzug statt

Symbol	Piktogramm	H und P-Sätze
Natriumdodecylsulfat SDS $C_{12}H_{25}NaO_4S$		<p>H228 Entzündbarer Feststoff. H311 Giftig bei Hautkontakt. H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H335 Kann die Atemwege reizen. H315 Verursacht Hautreizungen H319 Verursacht schwere Augenreizung.</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P304 BEI EINATMEN: P340 Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P309 Bei Exposition oder Unwohlsein: P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen</p>
Tris/HCl $C_4H_{12}ClNO_3$		<p>H319 Verursacht schwere Augenreizung. H335 Kann die Atemwege reizen. H315 Verursacht Hautreizungen</p> <p>P233 Behälter dicht verschlossen halten P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P302 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: P352 Mit viel Wasser / ... waschen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P312 Bei Unwohlsein GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen. P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. P233 Behälter dicht verschlossen halten</p>
Isopropanol C_3H_8O		<p>H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. H319 Verursacht schwere Augenreizung. H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P233 Behälter dicht verschlossen halten P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden</p>



		<p>P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen</p> <p>P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. P235 Kühl halten.</p>
<p>Mercaptoethanol C_2H_6OS</p>	  	<p>H301 Giftig bei Verschlucken. H310 Lebensgefahr bei Hautkontakt. H330 Lebensgefahr bei Einatmen. H315 Verursacht Hautreizungen H318 Verursacht schwere Augenschäden. H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung.</p> <p>P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P302 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT P352 Mit viel Wasser / ... waschen. P304 BEI EINATMEN: P340 Die betroffene Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P309 Bei Exposition oder Unwohlsein: P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufenP</p>
<p>Ethanol C_2H_6O</p>	  <p>Gefahr</p>	<p>H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. H319 Verursacht schwere Augenreizung.</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren.</p> <p>P233 Behälter dicht verschlossen halten</p>
<p>Eisessig $C_2H_4O_2$</p>	  <p>Gefahr</p>	<p>H226 Flüssigkeit und Dampf entzündbar. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden</p> <p>P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301 BEI VERSCHLUCKEN: +P330 Mund ausspülen. *P331 KEIN Erbrechen herbeiführen. P307 P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen</p>
<p>Coomassie Blue</p>	-	-
<p>Glycin $C_2H_5NO_2$</p>	-	-
<p>Glycerin $C_3H_8O_3$</p>	-	-



Bromphenolblau $C_{19}H_{10}Br_4O_5S$	-	-
--	---	---

Chemikalien:

Acrylgele 10%, Laufpuffer (besteht aus Tris/HCl, Glycin und SDS), Probenpuffer (besteht aus Tris/HCl, Glycerin, Bromphenolblau, SDS, Mercaptoethanol), Ethanol, Eisessig, Coomassie Blue R250, Proteinmarker

Geräte:

Waage, Meßzylinder 10,50,100 ml, Becherglas 100 ml, Vollpipette 10 ml, Magnetrührer, Filterpapier, Trichter, Erlenmeyerkolben 50 ml, Pipetten μ l + 20 μ l, Pipettenspitzen, 1, 5 ml Reaktionsgefäße, Thermomixer, Elektrophoreseeinheit mit Netzteil, Schalen

Material:

Vegane, vegetarische, tierische Wurst

Durchführung:

1. Vorbereitungen allgemein

a. Erstelle eine Proteinlösung

- Wiege 5 g zerkleinerte Probe in einem 100 ml Becherglas ab und füge 10 mL 0,9% NaCl mittels Vollpipette dazu
- Rühre deine Probe für ca 10 Minuten auf dem Magnetrührer
- Filtriere deine Lösung durch einen Faltenfilter in ein 50 ml Erlenmeyerkolben

b. Erstelle die Färbelösung

- 40 ml Ethanol , 10 ml Eisessig, 200 mg Coomassie Blue R250 auf 100 ml im Meßkolben lösen

c. Erstelle die Entfärbelösung

- 40 ml Ethanol, 10 ml Eisessig in 100 ml Meßkolben lösen

2. Probenvorbereitung und Lauf

- Abzug! Es werden jeweils 750 μ l der Proben mit 750 μ l Probenpuffer versetzt und bei 100 °C drei Minuten im Thermomixer erhitzt
- Einspannen der Gele inklusive Glasplatten in den Spannrahmen (kurze Glasplatte nach innen)
- Einsetzen der Spannrahmen in die Elektrophoresekammer
- Füllen der inneren Kammer mit ca. 200 ml Laufpuffer (bis zum Ende der äußeren Platte)
- Füllen der äußeren Kammer mit ca. 500 ml Laufpuffer
- Kamm entfernen
- Aufsetzen der Ladehilfe zwischen beide Glasplatten
- Abzug! Es werden 15 μ l Probe langsam in je eine Tasche pipettiert
- Von dem Marker werden 8 μ l in eine Tasche pipettiert
- Verschließen der Kammer und anschließen der Spannungsquelle
- Einstellen der Spannungseinheit auf 200V für 35 Minuten
- Entfernen der Spannungsquelle
- Entnahme der Spannrahmen aus der Kammer, lösen des Spannrahmens

- Die Glasplatten werden mit Hilfe des Schabers vorsichtig getrennt, das Sammelgel entfernt und die re obere Ecke des Geles zur Zuordnung abgeschnitten

3. Färben und Entfärben des Geles

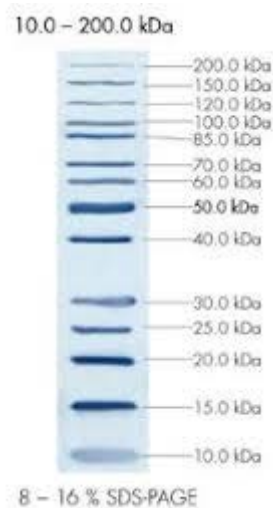
- Einlegen des Geles in die Färbelösung, dieses sollte gut mit Färbelösung bedeckt sein
- Die Schale mit dem Gel wird für ca. 1 Stunde auf dem Thermomixer bei 200 RPM in Bewegung gehalten
- Nach der Färbung wird das Gel bei ebenfalls 200 RPM 3 Stunden in der Entfärbelösung entfärbt

4. Auswertung des Geles

- Das Gel wird mit Hilfe der Markerleiter ausgewertet und so die Proteine zugeordnet

Protein	Molekulargewicht in kDa
Serumalbumin -Rind	ca.66
Ovalalbumin- Huhn	ca.45
Trypsin-Inhibitor -Soja	Ca. 20
Carboanhydrase- Rind	Ca. 29
Lysozym-Ei	Ca. 14,3
Casein Rind	Ca. 24

Markerleiter Protein-Marker II unstained PeqGold von VWR



Entsorgung:

Laufpuffer in anorganische Lösungen, Probenpuffer+ mit diesem behandelten Proben in Sondergefäß,

Probenlösung unbedingt aufbewahren

SDS-PAGE wird in der Analyse von Proteinen verwendet. Als Trennmedium bei dieser Art der Elektrophorese dient ein Gel auf Polyacrylamidbasis. Zusätzlich kommt SDS (Natriumdodecylsulfat) zum Einsatz. Dieses anionische Tensid (Detergens) überdeckt die Eigenladungen von Proteinen. Pro 1 g Protein binden ungefähr 1,4 g SDS, sodass die Proteine eine konstante Ladungsverteilung aufweisen.



Bei der Probenvorbereitung wird SDS im Überschuss zu den Proteinen hinzugegeben und die Probe anschließend auf 95 °C erhitzt, um Sekundär- und Tertiärstrukturen durch das Unterbrechen von Wasserstoffbrücken und das Strecken der Moleküle aufzubrechen. Optional können Disulfidbrücken durch Reduktion gespalten werden. Dazu werden reduzierende Thiolverbindungen wie β -Mercaptoethanol, Dithiothreitol (DTT) oder Dithioerythrit (DTE) dem Probenpuffer zugesetzt. Am Ende dieser Präparation weisen die mit SDS beladenden Proteine eine ellipsoide Form auf.

Zur Auftrennung werden die denaturierten Proben auf ein Gel aus Polyacrylamid geladen, das in geeignete Elektrolyten eingelegt ist. Danach wird eine elektrische Spannung angelegt, die eine Migration der negativ geladenen Proben durch das Gel bewirkt. Das Gel wirkt dabei wie ein Sieb. Kleine Proteine wandern relativ leicht durch die Maschen des Gels, während große Proteine eher zurückgehalten werden und dadurch langsamer durch das Gel wandern. Am Ende des Vorganges sind alle Proteine nach Größe sortiert und können durch weitere Verfahren (Färbungen wie z. B. Coomassiefärbung oder Silberfärbung, Immunologische Nachweise wie z. B. beim Western Blot) sichtbar gemacht werden. Zusätzlich zu den Proben wird meistens ein Größenmarker auf das Gel geladen. Dieser besteht aus Proteinen von bekannter Größe und ermöglicht dadurch die Abschätzung der Größe der Proteine in den eigentlichen Proben. (Quelle chemie.de, Mai 2019)

Das am häufigsten eingesetzte Verfahren ist die diskontinuierliche SDS-PAGE. Bei dieser wandern die Proteine zuerst in ein Sammelgel mit neutralem pH, in dem sie konzentriert werden und anschließend in ein Trenngel mit basischem pH, in dem die eigentliche Auftrennung erfolgt. Sammel- und Trenngel unterscheiden sich durch unterschiedliche Porengröße (4–6%T bzw. 10–20%T), Ionenstärke und pH-Werte (pH6,8 bzw. pH8,8). Als Elektrolyt wird häufig ein SDS-haltiges TRIS-Glycin-Chlorid-Puffersystem eingesetzt. Glycin bildet bei neutralem pH-Wert überwiegend die zwitterionische Form aus, bei hohen pH-Werten verlieren die Glycinationen positive Ladungen und werden vorwiegend anionisch. Im Sammelgel wandern die kleineren, negativ geladenen Chloridionen vor den Proteinen (engl. *leading ions* ‚führende Ionen‘) und die etwas größeren, negativ und teilweise positiv geladenen Glycinat-Ionen nach (engl. *trailing ions* ‚folgende Ionen‘), während im vergleichsweise basischen Trenngel beide Ionen vor den Proteinen wandern. Der pH-Gradient zwischen Sammel- und Trenngelpuffer führt zu einem Stapelungseffekt an der Grenze des Sammelgels zum Trenngel, da das Glycinat beim ansteigenden pH-Wert teilweise seine bremsende positive Ladung verliert und dann als zuvor folgendes Ion die Proteine beim Wandern überholt und zum führenden Ion wird, wodurch die nach einer Färbung sichtbaren Banden der verschiedenen Proteine schmaler und schärfer werden (*Stapelungseffekt*) (Quelle Wikipedia, Mai 2019)

Quantitative Analyse von Proteinen

Versuch: Photometrische Bestimmung der Proteinkonzentration nach Biuret

Sicherheit:

Chemikalie	Piktogramm	H und P-Sätze
Natronlauge NaOH	 Gefahr	H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301+330+331 BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P308+310 Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, und Leitstelle anrufen
Kupfer(II)-sulfat Pentahydrat Cu(II)SO ₄ *5H ₂ O	 Achtung	H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H315 Verursacht Hautreizungen H319 Verursacht schwere Augenreizung. H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung. P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P302+P352 BEI KONTAKT MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen
Kalium-Jodid KI	-	-
Natrium-Kalium-Tartrat C ₄ H ₄ KNaO ₆	-	-
BSA	-	-
Natriumchlorid NaCl	-	-

Chemikalien:

Biuret-Reagenz (45 g K-Na-Tartrat +5 g Kupfersulfat KI auf 1000 ml 0,2 M NaOH), BSA Standard (500 mg auf 50 ml 0,9% NaCl → 10 mg/ml), 0,9% NaCl, Trichter, Filter, ggf Mörser+Pistill

Geräte:

Reagenzgläser je Probe 1 Stück +10 für die Kalibriergrade, Büretten 2*, Photometer, Küvetten, Tropfpipetten, Erlenmeyerkolben 50 ml je Probe, Messpipetten 2 ml

Material:

Vegane, vegetarische, konventionelle Lebensmittel



Durchführung:

10. Ggf. Ansetzen der Biuret-Reagenz
11. Ggf. Ansetzen der BSA-Standardlösung
12. Min 5 g (genaue Einwaage notieren) der festen Proben werden im Mörser mit 30 ml 0,9% NaCl leicht zerstoßen und anschließend in einem Erlenmeyerkolben filtriert
13. Min 5 g (genaue Einwaage notieren) der flüssigen Proben werden mit 10 ml isotonischer Kochsalz-Lösung verdünnt
14. Min 5 g (genaue Einwaage notieren) der weichen Proben werden grob zerkleinert und dann in 10 ml Kochsalz-Lösung für 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt, anschließend in einen 50 ml Erlenmeyerkolben filtriert
15. Hühnereier werden getrennt, das Eiklar mit 100 ml Kochsalzlösung verdünnt und ebenfalls 10 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt
16. Ansetzen der Kalibriergrade
 - In zuvor beschrifteten Reagenzgläser wird zuerst die in der Tabelle angegebene Menge an 0,9% NaCl mittels Bürette gefüllt
 - Nun wird in die Reagenzgläser die in der Tabelle angegebene Menge an BSA-Standardlösung mittels Bürette hinzugegeben

Reagenzglas	Vol. 0,9% NaCl In ml	Vol. BSA- Standard in ml	Proteinkonzentration In mg /ml
1	9,0	1	1
2	7,5	2,5	2,5
3	5,0	5	5
4	2,5	7,5	7,5
5	0	10	10

17. In 6 weitere beschriftete Reagenzgläser+ für jede Probe ein Reagenzglas wird nun je 2 ml der jeweiligen Konzentration pipettiert
18. Anschließend wird in jedes Reagenzglas 2 ml Biuret-Reagenz gegeben
19. In das letzte Reagenzglas wird 2 ml 0,9% NaCl pipettiert und mit 2 ml Biuret-Reagenz vermengt, dieses dient als Blindwert
20. Überführung des Blindwertes in eine Küvette, einstellen des Fotometers auf 546 nm und nullen des Gerätes mit dem Blindwert
21. Nacheinander wird nun von der schwächsten bis zur stärksten Konzentration die Extinktion gemessen und notiert.
22. Danach werden die Werte für die Proben ermittelt, liegt der Extinktionswert bei über 1 muss ein Teil Probenlösung verdünnt, erneut mit Biuret versetzt und gemessen werden

Entsorgung:

Sammelbehälter für anorganische wässrige Lösungen

Mit **Photometrie** oder **Fotometrie** (zu altgriechisch $\phi\omega\varsigma$ ‚Licht‘ sowie $\mu\epsilon\tau\rho\epsilon\acute{\iota}\nu$ ‚messen‘) werden Messverfahren im Wellenlängenbereich des ultravioletten und des sichtbaren Lichtes mit Hilfe eines Photometers bezeichnet.

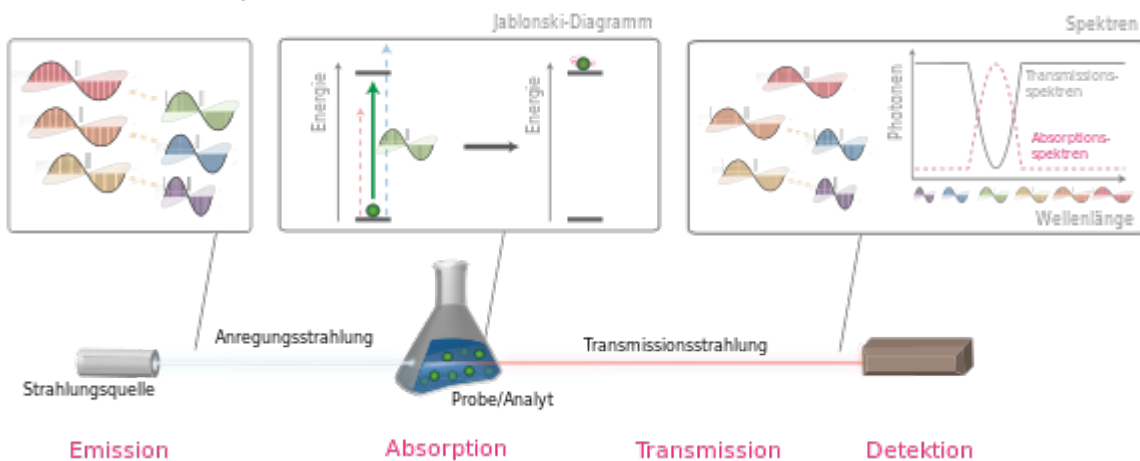
Teilgebiete

Die Photometrie ist ursprünglich ein Teilgebiet der Physik beziehungsweise der Chemie, Astronomie und der Fotografie, inzwischen aber eine reguläre Ingenieurwissenschaft. Sie wird beispielsweise in der Photovoltaik oder auch bei der Herstellung von Anzeigen für die industrielle Messtechnik zur Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle ständig weiterentwickelt. Für die Entwicklung von optischen Technologien wie der Lasertechnik gehört sie wie die verwandte Kolorimetrie ebenfalls zum Handwerkszeug.

Darüber hinaus findet die Photometrie besonders auch in der (bio-)chemischen und medizinischen Analytik Verwendung. Sie erlaubt den qualitativen und quantitativen Nachweis ebenso wie die Verfolgung der Dynamik chemischer Prozesse von strahlungsabsorbierenden chemischen Verbindungen.

Die Verallgemeinerung der Photometrie auf das gesamte elektromagnetische Spektrum (Radio- bis Gammastrahlung) nennt man Radiometrie.

Transmissionsmessungen



Photometrische Messung eines lila Teilchens in einer Lösung

Älteres Photometer für medizinische Zwecke, aber auch in der chemischen Analytik einsetzbar. Absorption und Farbe einer Flüssigkeit oder eines transparenten Festkörpers hängen von der stofflichen Zusammensetzung und der Konzentration ab. Mit der Photometrie werden mithilfe des sichtbaren Lichtes die Konzentrationen von farbigen Lösungen bestimmt.

Bestrahlt man die Lösung eines absorbierenden Stoffes mit Licht, hängt die durchtretende Intensität (benötigt wird ein möglichst linear arbeitender Detektor) von den im Allgemeinen wellenlängenabhängigen Absorptionseigenschaften des Stoffes, der Konzentration und der Länge des Lichtweges in der Lösung ab. Diese Gesetzmäßigkeit wird durch das Lambert-Beersche Gesetz beschrieben. Um dieses Gesetz anzuwenden, wird das in einem schmalen Wellenlängenbereich für verschiedene bekannte und unbekannte Konzentrationen gemessene Intensitätssignal I logarithmisch gegen die Konzentration c aufgetragen. Es entsteht eine Gerade, an der die unbekannt Konzentrationen abgelesen werden können.



Ein Photometer erledigt diese Interpolation rechnerisch: Die Intensitäten werden durch den Achsenabschnitt $I(c=0)$ geteilt (\rightarrow Transmissionsgrad) und logarithmiert (\rightarrow Extinktion). Die Extinktion ist proportional zur Konzentration.

(Quelle : <https://www.chemie-schule.de/KnowHow/Fotometrie>, Mai 2019)

Für eine genaue Messung ist es wichtig, dass die Probe sowie die Kalibrierlösungen auswertbare Konzentrationen besitzen. Um dies zu ermöglichen, kann das Lambert Beer'sche Gesetz hinzugezogen werden.

Lambert Beer'sches Gesetz:

$$E = \epsilon \cdot d \cdot c$$

Das „E“ steht für die Extinktion. Sie ist der negative Logarithmus der Transmission (Durchgelassene Lichtintensität). Die Extinktion sollte dabei Minimum den Wert 0,1 und maximal den Wert 0,9 annehmen. Die Extinktion hat keine Einheit.

Das „ ϵ “ ist das griechische Epsilon. Es ist der molare Extinktionskoeffizient. Er wird in $\text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ angegeben. Der Wert ist stoffspezifisch und wird zu einer definierten Wellenlänge zugeordnet.

Das „d“ steht für die Schichtdicke der Küvette. Diese beträgt meistens 1 cm.

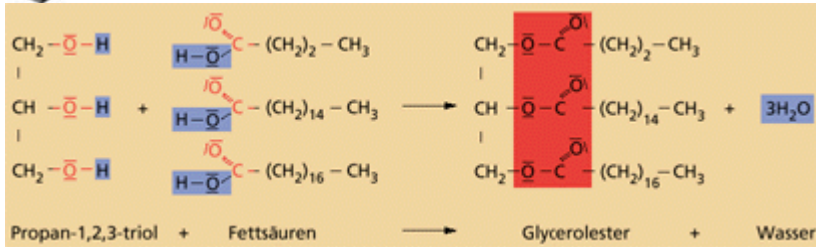
Das „c“ steht für die Konzentration. (Näheres dazu findet ihr auf euren Bogen „Allgemeine Informationen“)

$$Y=mx+b \rightarrow E= mc+b \rightarrow c=(\epsilon-b)/m$$

Fette

Fette und fette Öle (Neutralfette) sind Ester des dreiwertigen Alkohols Glycerin (Propan-1,2,3-triol) mit drei, meist verschiedenen, überwiegend geradzahligem und unverzweigten aliphatischen Monocarbonsäuren, den so genannten Fettsäuren. Verbindungen dieser Art werden auch Triglyceride genannt, die IUPAC empfiehlt jedoch als Name Triacylglycerine. Je nachdem, ob ein Fett bei Raumtemperatur fest oder flüssig ist, spricht man von Fetten oder fetten Ölen. Unter Fett versteht man primär ein Stoffgemisch aus verschiedenen Fettsäuretriglyceriden, die entweder aus Tieren oder Pflanzen gewonnen werden

Die physikalischen Eigenschaften eines Fettes werden durch die Kettenlängen und besonders durch die Häufigkeit von C=C-Doppelbindungen -wie ungesättigt sie sind- in den Fettsäureresten beeinflusst. Doppelbindungen in natürlichen Fetten und Ölen besitzen fast ausschließlich cis-Konfiguration; enthält eine Fettsäure mehrere Doppelbindungen, so sind sie in der Regel durch eine Methylengruppe (-CH₂-) voneinander getrennt. Die nebenstehende Abbildung zeigt ein typisches Beispiel für ein Triglyceridmolekül, wie es in vielen pflanzlichen Fetten enthalten ist. Pflanzlichen Fette enthalten viele ungesättigte Fettsäuren und liegen daher meist als Öle vor. (quelle Chemie.de)



(Quelle Lernhelfer.de, Mai 2019)

Natürliche Fette enthalten meist unterschiedliche Fettsäuren, stellen immer ein Gemisch verschiedener klar definierter Fette mit einheitlicher molekularer Struktur dar und weisen keinen scharfen Schmelzpunkt, sondern einen Schmelzbereich auf. Mit steigender Kettenlänge und abnehmender Anzahl an Doppelbindungen zwischen den Kohlenstoffatomen der Kette steigt die Schmelztemperatur. Die festen Produkte enthalten hohe Anteile langer und gesättigter Fettsäuren, wohingegen die Fettsäuren in den flüssigen Ölen überwiegend einfach oder mehrfach ungesättigt sind. Beim Erhitzen zersetzen sich Fette zum Teil bereits unterhalb ihres Siedepunktes.

Durch die relativ langen Ketten der Fettsäuren (4 bis 26, typischerweise 12 bis 22 Kohlenstoffatome, praktisch immer geradzahlige Anzahl) werden die Sauerstoffatome der Esterbindung abgeschirmt, so dass Fette hydrophob und damit kaum in Wasser löslich sind. Dadurch haben sie keinen Einfluss auf den osmotischen Zustand einer wässrigen Phase wie zum Beispiel Zellsaft, Zwischenzellflüssigkeit, Blut, Lymphe bei Tieren, Vakuole und Transportgefäße bei Pflanzen. Sie bilden somit als Depotfett eine geeignete Speicherform für Energie - beim Menschen liegt die Menge dafür bei 10 kg und mehr.

Es wurden Hinweise gefunden, nach denen ein Fettgeschmack - neben den bereits bekannten Geschmacksrichtungen salzig, sauer, süß, bitter und umami - eine weitere Qualität des Geschmackssinns darstellen könnte: In Mäusen führen in der Nahrung enthaltene Fettsäuren wie Linolsäure zu einer Aktivierung von Geschmackssinneszellen und Nervenzellen in den geschmacksrelevanten Bereichen des Gehirns.

Fette sind jedoch meist geruchs- und geschmacklos, wirken aber als Aromaträger. Der bei ranzigem Fett auftretende intensive Geruch stammt von kurzkettigen, freigesetzten Fettsäuren wie zum Beispiel Buttersäure oder von Keto- oder Hydroxy-Fettsäuren, die für den menschlichen Organismus giftig sind. (Quelle Chemie-schule.de, Mai 2019)



Extraktion von Fett

Versuch: Quantitative Analyse nach Soxhlet

Sicherheit:

Aufbau der Apparatur unter dem Abzug, Tragen von Nitrilhandschuhen, Schutzbrille, Kittel

Chemikalie	Piktogramm	H/P Sätze
Heptan C_7H_{16}	<p>Gefahr</p>	H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar H304 Kann bei Verschlucken oder Eindringen in die Atemwege tödlich sein- H315 Verursacht Hautreizungen H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen H410 Vor Sonneneinstrahlung schützen P210-Von Hitze/Funken /Flammen/heißen Oberflächen fernhalten P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden P273-Freisetzung in die Umwelt vermeiden P301+330+331Bei Verschlucken: Mund ausspülen, kein Erbrechen herbeiführen P302+352Bei Hautkontakt mit viel Wasser und Seife waschen P403+233 An gut belüfteten Ort dicht verschlossen aufbewahren

Chemikalien:

Heptan

Geräte:

Rundkolben 250 ml, Soxhlet –Apparatur 150 ml, Rückflußkühler mit Wasserablauf sowie Zulaufschlauch, Extraktionshülse, ggf. Mörser mit Pistill, ggf. Pürierstab, Waage, Watte, Heizpilz, Siedesteichen, Stativ und Klemmen, 20 ml Messpipette, Peleusball, Kolbenring

Material:

zu Untersuchende Lebensmittel

Durchführung:

1. Auswiegen der Rundkolben inklusive Siedesteichen, dann füllen mit ca. 200 ml Heptan
2. Lebensmittel ggf. mörsern oder pürieren und bis zur Hälfte (5-10g) in Extraktionshülse einwiegen
3. Hülse mit Watte verschließen in Soxhlet Apparatur einbringen
4. Extraktionsapparatur aufbauen, sichern und Kühlung starten
5. Erhitzen des Lösungsmittels, 20-30 Entleerungen warten (Dauer ca. 4-6 h)
6. Unmittelbar nach letzter Entleerung erfolgt die Entfernung der Hülse mitsamt Inhalt.
7. Abdestillation des Lösemittels
 - Sobald Soxhlet gefüllt ist, mehrmalige Entnahme des Lösemittels mittels Messpipette und weitere Destillation bis weitgehend gesamtes Lösemittel ab destilliert ist
8. Restbestände des Lösemittels im Kolben werden 1 h lang bei 103°C im Trockenschrank abgedampft, ggf. kann dieser auch über Nacht im Abzug stehen bleiben
9. Erneute Einwaage des Kolbens
10. Die ermittelte Differenz entspricht der Masse an Fett

$$F (\%) = \frac{m_2 - m_1}{E} \cdot 100$$

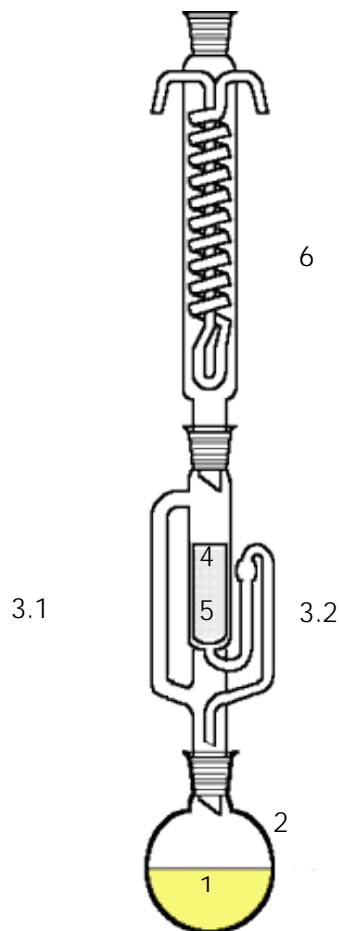
m_1 = Masse (in g) des leeren, getrockneten Rundkolbens + Siedesteinen

m_2 = Masse (in g) des Rundkolbens mit Fett nach der Trocknung

E = Probeneinwaage (in g)

Entsorgung:

Lösemittel in organische Lösemittel, Hülse und Inhalt nach Trocknung in Abfall, ggf. für weitere Untersuchung aufbewahren.



1. Siedesteinchen und Lösemittel
2. Rundkolben
3. Soxhlet-Aufsatz
 - 3.1 Dampfrohr
 - 3.2 Heberohr mit Zulauf und Ablauf
4. Extraktionshülse
5. Probe verschlossen mit Watte
6. Rückflußkühler mit Wasserzu- und Ablauf

Ablauf des Versuches:

Das zu extrahierende Lebensmittel wird gewogen und in eine Hülse gefüllt, diese wird in die Soxhlet-Aufsatz eingesetzt.

Im Rundkolben (2) unter dem Aufsatz wird ein Lösemittel zum Sieden gebracht, dabei steigen dessen dämpfe durch das Dampfrohr (3) auf und kondensieren im darüber gelegenen kühler (9). Das Lösemittel tropft in die Hülse (4) und löst das fett aus dem Lebensmittel.

Das Lösemittel sammelt sich durch stetiges tropfen weiter im Aufsatz bis der Flüssigkeitsspiegel die Höhe des Steigröhrchens (6) übersteigt und schlagartig wieder in den Rundkolben entleert wird.





Unter kontinuierlichen Sieden erfolgt dieser Zyklus mehrmals, dadurch reichert sich das Fett im Kolben an. Zwecks Isolation des Fettes, wird das Lösemittel ab destilliert und verbleibt als Rückstand im Kolben.

Charakterisierung von Fetten und Ölen

Versuch: Qualitative Analyse eines Reinfettes mittels DC

Sicherheit:

Der Versuch wird im Abzug mit Nitrilhandschuhen, Schutzbrille und Laborkittel durchgeführt!

<p>Aceton C₃H₆O</p>	 <p>Gefahr</p>	<p>H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. H319 Verursacht schwere Augenreizung.H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen.</p> <p>EUH066 Wiederholter Kontakt kann zu spröder oder rissiger Haut führen.</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. P233 Behälter dicht verschlossen</p>
<p>Acetonitril C₂H₃N</p>	 <p>Gefahr</p>	<p>H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. H332 Gesundheitsschädlich bei Einatmen H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H312 Gesundheitsschädlich bei Hautkontakt. H319 Verursacht schwere Augenreizung.</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen.</p> <p>P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden P302+352 BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser waschen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. P233 Behälter dicht verschlossen</p>

<p>Chloroform CHCl₃</p>	<p>Gefahr</p>	<p>H302 Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H331 Giftig bei Einatmen. H315 Verursacht Hautreizungen H319 Verursacht schwere Augenreizung. H351 Kann vermutlich Krebs erzeugen (Expositionsweg angeben, sofern schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht). H361d Kann vermutlich das Kind im Mutterleib schädigen. H336 Kann Schläfrigkeit und Benommenheit verursachen. H372 Schädigt die Organe (alle betroffenen Organe nennen) bei längerer oder wiederholter Exposition (Expositionsweg angeben, wenn schlüssig belegt ist, dass diese Gefahr bei keinem anderen Expositionsweg besteht).</p> <p>P261 Einatmen von Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol vermeiden. P281 Vorgeschriebene persönliche Schutzausrüstung verwenden P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P311 GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt oder ... anrufen</p>
<p>Molybdätophosphorsäure in Ethanol H3[PMo12O40]</p>	<p>Gefahr</p>	<p>H272 Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden H225 Flüssigkeit und Dampf leicht entzündbar. H319 Verursacht schwere Augenreizung. P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P220 Von Kleidung/ Materialien fernhalten/entfernt aufbewahren. P240 Behälter und zu befüllende Anlage erden P280 1. Geeignete Schutzhandschuhe tragen. 2. Geschlossener Laborkittel tragen. 3. Augenschutz tragen. 7. In Abzug/Kapelle arbeiten. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen P403 An einem gut belüfteten Ort aufbewahren. P233 Behälter dicht verschlossen halten</p>

Chemikalien:

Fließmittel bestehend aus Aceton/Acetonitril/Chloroform im Verhältnis 5:4:2, Molybdätophosphorsäure 1% in Ethanol

Geräte:

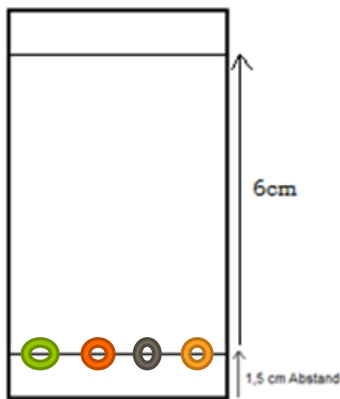
DC Platten RP-18, Messpipette 2*5ml+2ml, Je Probe und Vergleichslösung 1*25 ml BG, 20µL Mikroliterpipette, DC Kammer, Sprühflasche, Analysenwaage, Tropfpipetten, bei festen Fetten Spatel und Heißplatte-dazu je ein kleines BG zum Schmelzen.

Material:

extrahiertes Fett/Öl, Vergleichslösungen

Durchführung:

1. Vorheizen des Trockenschrankes auf 110°C
2. Ansetzen des Fließmittels und befüllen der Kammer
3. Ansetzen der Vergleichslösungen und der Proben
 - Es werden je 10 mg in ein 25 ml BG mittels Pipette eingewogen und anschließend mit 5 ml Aceton gelöst (feste Fette werden vorher geschmolzen)
4. Platte wie folgt vorbereiten:



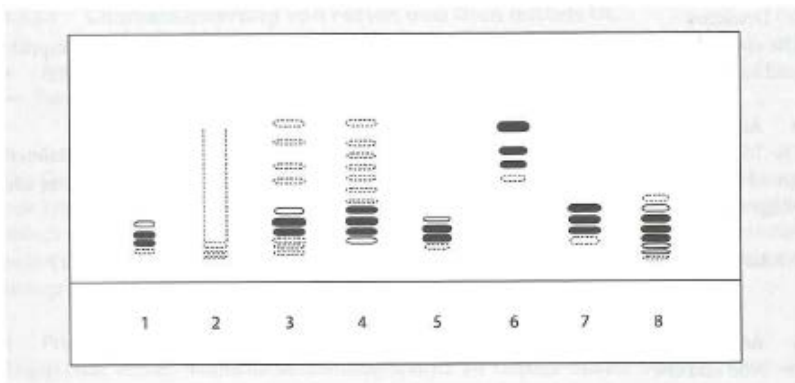
* Unten eine Bleistiftlinie mit 1,5cm Abstand zur Kante zeichnen

* Die andere Linie im Abstand von 6cm einzeichnen

Achtung: Mit dem Bleistift nur ganz leicht aufdrücken, da sonst die DC-Platte beschädigt wird.

Lage der Proben markieren, auf Zettel notieren (nachher sieht man nichts mehr!!!!)

5. Auftragen von jeweils 5µL der Proben und Vergleichslösungen mittels Mikroliterpipette auf die vorbereitete DC-Platte
6. DC-Platte in gesättigte Probenkammer stellen
7. Entnahme der Platte, wenn sie die zweite Markierung erreicht
8. Lufttrocknen der Platte
9. Mit Molybdatophosphorsäure –Reagenz kräftig besprühen (erfolgt durch Laborleiter)
10. Zur Farbentwicklung ca. 15 Minuten in den Trockenschrank legen.



■ Abb. 7.15 Charakterisierung von Fetten und Ölen mittels RP-DC. 1 Schweinefett, 2 Rinderfett, 3 Erdnussöl, 4 Weizenkeimöl, 5 Olivenöl, 6 Rizinusöl, 7 Sonnenblumenöl, 8 Rapsöl

Quelle: Lebensmittelanalytik Reinhard Matissek/Gabriele Steiner/Markus Fischer Seite 234



Entsorgung:

Fließmittel in Sammelbehälter Organische HALOGENIERTE Lösemittel, Proben und Vergleichslösungen in Organische Lösemittel, ebenso die Sprühreagenz

Grundprinzip der chromatographischen Trennung

Das Grundprinzip der Chromatographie gilt für alle chromatographischen Methoden und kann wie folgt kurz zusammengefasst werden: Teilchen (Moleküle, Ionen) verteilen sich auf zwei Phasen in einem bestimmten Verhältnis (Gleichgewichtszustand). Bei der DC wandert ein Lösungsmittel durch Kapillarkräfte an einem festen, feinporigen Trägermaterial (z.B. Kieselgel) aufwärts. Sind in dem Lösungsmittel unterschiedliche organische Substanzen mit verschiedenartigen funktionellen Gruppen enthalten, so gibt es Adsorptionswechselwirkungen der einzelnen Substanzen mit dem Trägermaterial. Eine starke Wechselwirkung dämpft die Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Komponente in Bezug zur Lösungsmittelfront. Je höher der Anteil eines stark polaren Lösungsmittels bei der Auftragung, desto mehr Oberflächenbereiche der Beschichtung sind für die Adsorption unwirksam, desto schlechter das Trennergebnis bei der DC (geänderte Rf-Werte, Fleckenverbreiterung). Entscheidend ist, dass die Teilchen individuell sehr rasch von der einen Phase in die andere wandern (auf Grund der Wärmebewegung, der Diffusion und der raschen Austauschprozesse) und wieder zurück (*dynamischer Gleichgewichtszustand*).

In der Chromatographie werden die Unterschiede, die es bei den Austauschvorgängen zwischen den verschiedenen Teilchensorten gibt, in Geschwindigkeitsunterschiede verwandelt. Die Geschwindigkeit ergibt sich aus dem Produkt der Geschwindigkeit der mobilen Phase und dem Zeitanteil, den die Teilchen in der mobilen Phase verbringen. Es wird angenommen, dass die Teilchen in der mobilen Phase (statistisch gesehen) dieselbe Geschwindigkeit haben wie die Laufmittelmoleküle. Sind sie an die stationäre Phase gebunden, ist die Geschwindigkeit gleich Null („stop and go“-Modell). So werden also Verteilungsunterschiede (Verteilung im allgemeinen Sinn) in Geschwindigkeitsunterschiede verwandelt. Oft sind die Verteilungsunterschiede nur gering. Auftrennungen wären so mit anderen Methoden kaum zu erzielen. In dem Augenblick, in dem es sich aber um Geschwindigkeitsunterschiede handelt, ist es nur eine Frage der Länge der Wegstrecke, bis es zu einer ausreichenden Auftrennung gekommen ist.

Mit flüssigchromatographischen Methoden, zu denen auch die Dünnschichtchromatographie zählt, lassen sich alle Proben, die ausreichend stabil sind und in Lösung gebracht werden können, untersuchen.

Grundlage der Dünnschichtchromatographie sind also Transportprozesse in einer Flüssigkeit („mobile Phase“), die durch eine Pulverschicht („stationäre Phase“) strömt. Dabei zeigen unterschiedliche Moleküle meist unterschiedliches Wanderungsverhalten. Wie groß diese Unterschiede sind, ist abhängig von den chemischen und physikalischen Eigenschaften der verwendeten stationären und mobilen Phase.

Stationäre Phase

In der Regel kommt als stationäre Phase Kieselgel zum Einsatz (Normalphasenchromatographie), das aufgrund der freien endständigen Hydroxygruppen als polares Adsorbens für die Probenmoleküle dient. Der mittlere Porendurchmesser der Kieselgele beträgt meist 4 bis 100 nm, wobei der Porendurchmesser von 6 nm (Kieselgel 60, Merck) am gebräuchlichsten ist. Kieselgele enthalten Siloxan- oder Silanol-Gruppen.

Alternativ dazu kommen auch DC-Materialien mit anderen funktionellen Gruppen (z. B. Aminogruppen) zum Einsatz. Sie unterscheiden sich vom Standard-Kieselgel nicht nur in ihrer Polarität, sondern auch in der Basizität und führen damit zu völlig anderen Trennergebnissen. Auch oberflächenmodifizierte Kieselgele mit unpolaren Haftstellen (durch Kupplung mit Organochlorsilanen) werden eingesetzt (Umkehrphasenchromatographie, reversed phase). Die Reihenfolge, in der die verschiedenen Probemoleküle aufgetrennt werden, kehrt sich dann um – die polaren Moleküle laufen schneller, die unpolaren Moleküle werden stärker festgehalten. Vorteilhaft ist dabei unter anderem, dass auch sehr polare Proben untersucht werden können. Als weitere

stationäre Phasen für die DC eignen sich auch Aluminiumoxid, Magnesiumsilikat, Kieselgur, Polyamid, Cellulose.

Mobile Phase

Als Laufmittel werden in der Normalphasen-DC unpolare organische Lösungsmittel in der Regel als Gemisch mit mäßig polaren Lösungsmitteln genutzt (z. B. Petrolether und Essigsäureethylester); in der Umkehrphasen-DC dagegen polare Laufmittel (z. B. Acetonitril und Wasser). Über das Mischungsverhältnis kann man die Polarität des Fließmittels steuern.

Bei der DC ist die erwünschte räumliche Auftrennung zwischen den verschiedenen Probekomponenten der gesamten Laufstrecke proportional (Abstand Startlinie – Laufmittelfront).

Probenauftrag

Glaskapillaren mit Ringmarke

Die zu untersuchende Substanz wird in einem geeigneten Lösungsmittel gelöst und mit Hilfe einer Kapillare punkt- oder strichförmig aufgetragen. Dies geschieht bei der eindimensionalen DC auf der Startlinie der Folie oder Platte, bei der zweidimensionalen DC (siehe unten) in einer Ecke. Die zu trennende Substanzmenge beträgt ca. 5–20 Mikrogramm. Für eine besonders gleichmäßige und auch quantitativ reproduzierbare Auftragung stehen auch Maschinen zur Verfügung, welche die Lösung mit Hilfe von Druckluft oder Stickstoff aufsprühen. Die stationäre Phase (Trennschicht) besteht aus einer dünnen Schicht eines sehr feinkörnigen Materials (z. B. Kieselgel, Kieselgur, Aluminiumoxid, Cellulose). Diese Trennschicht ist sehr gleichmäßig auf eine Trägerfolie oder Trägerplatte aus Kunststoff, Aluminiumblech oder Glas aufgetragen und kommerziell in unterschiedlichen Schichtdicken erhältlich.

Daneben werden auf der Startlinie in vielen Fällen auch Lösungen von reinen Vergleichssubstanzen oder Vergleichsmischungen aufgetragen. Es ist entscheidend, die Auftragzonen möglichst eng zu halten (wenige Millimeter). Kommerziell erhältlich sind auch DC-Folien mit so genannten Konzentrationszonen. Hier wird eine Zone mit besonders geringer Adsorption vorgeschaltet. Die Probeflecken werden dadurch nach Beginn der Chromatographie in der Richtung der Laufstrecke zusammengestaucht und so sind besonders enge Auftragzonen erzielbar.

Nach dem Auftragen muss die Platte getrocknet werden, da restliches Lösungsmittel das Ergebnis verändern kann.

Auftrennung



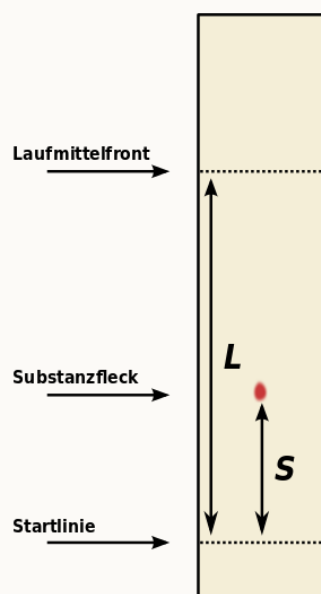
Nach dem Auftragen wird die Platte senkrecht in eine Chromatographiekammer mit einem geeigneten Fließmittel (mobile Phase) eingestellt. Um eine Beeinflussung der Ergebnisse durch das Verdampfen des Fließmittels zu verhindern, führt man die Trennung in einer mit dem Fließmittel gesättigten Atmosphäre in einem geschlossenen Gefäß durch. Zur besseren Sättigung des Dampfraumes mit Laufmittel kann ein Filterpapier eingelegt werden. Die Sättigung verhindert Verdampfen des Laufmittels von der Platte und damit eine Änderung der Zusammensetzung auf der Platte.

Das Fließmittel saugt sich nun über Kapillarkräfte in die stationäre Phase nach oben. Sobald die Flüssigkeit die Startlinie erreicht hat, lösen sich die Substanzen in ihr. Die Moleküle sind nun den Anziehungskräften der stationären Phase einerseits und den Anziehungskräften der mobilen Phase andererseits ausgesetzt. Je nach

Kräfteverhältnis bleibt ein Teilchen eher am Startpunkt oder es wandert mit der mobilen Phase nach oben. Im Allgemeinen gilt: Je unpolarer das Fließmittel ist, desto weniger wandern polare Substanzen und umgekehrt. Es gilt aber auch, dass polare Substanzen mit polaren stationären Phasen stärker wechselwirken. Die Lösungsmittelpolarität ist dabei analog wie in der Säulenchromatographie.

Kurz bevor die Laufmittelfront das obere Ende der Platte erreicht, wird die Platte aus der Chromatographiekammer entnommen und möglichst zügig getrocknet.

Auswertung



Im einfachsten Fall sind die getrennten Substanzen beim Betrachten unter UV-Licht als Punkte sichtbar. Alternativ können sie vor der Chromatographie mit Chromophoren derivatisiert werden, damit sie UV-aktiv werden. Auch das Besprühen mit oder Tauchen in Reagenzienlösungen sind weitere Möglichkeiten.

Viele Schichtmaterialien enthalten Zusätze, die im UV-Licht fluoreszieren und an denjenigen Stellen dunkle Fluoreszenzlöschung zeigen, an denen sich die getrennten Stoffe befinden. Probemoleküle werden sichtbar, wenn sie im Bereich von 254 nm oder 366 nm UV-Licht absorbieren. Es gelangt dann weniger UV-Licht zu den Fluoreszenzfarbstoffmolekülen (dunkle Flecken auf grün bzw. blau leuchtendem Hintergrund zu sehen). Dazu müssen genügend viele funktionelle Gruppen bzw. genügend große Systeme mit konjugierten Doppelbindungen vorhanden sein. Gesättigte Kohlenwasserstoffe und viele Aminosäuren sind daher mit dieser Methode nicht nachzuweisen, aromatische Verbindungen z. B. sehr leicht bei 254 nm.

Auch die Eigenfluoreszenz bestimmter Stoffe oder andere Eigenschaften wie Radioaktivität können zur Detektion herangezogen werden.

Bei der Verwendung von Sprüh- oder Tauchreagenzien (z.B. NBD-Cl, Molybdätophosphorsäure oder 2,7-Dichlorfluorescein) laufen Farbreaktionen ab, die empfindlich und spezifisch genug sind, um zum Nachweis bestimmter funktioneller Gruppen verwendet zu werden. Über die Auswahl der Farbreaktion lässt sich der Informationsgehalt bei der DC wesentlich erhöhen. Alternativ werden Reaktionen eingesetzt, die allgemein wirksam sind (zum Beispiel Oxidation mit Hilfe von Salpetersäurelösungen oder Ioddampf). Bei einer Reihe von Farbreaktionen ist es erforderlich, die Folie nach dem Besprühen bzw. der Tauchung zu erhitzen.

Durch Auftragen von Referenzproben, welche unter gleichen Bedingungen gleich weit wandern wie entsprechende Probekomponenten, kann man das qualitative Auftreten von Stoffen nachweisen. Hierzu wird die Lage der verschiedenen Punkte mit der Lage der Referenzproben verglichen.

Um verschiedene DC vergleichen zu können, werden die so genannten $RfRf$ -Werte (Retentionsfaktor, Rückhaltefaktor, *ratio of fronts*) berechnet. Es handelt sich dabei um das Verhältnis Wanderungsstrecke des Substanzfleckes (SS) zur Wanderungsstrecke des Lösemittels (LL): $Rf = SLRf = SL$. Die $RfRf$ -Werte sind bei gleichem Plattenmaterial und gleicher Laufmittelzusammensetzung Stoffkonstanten.

(Quelle.: <https://www.chemie-schule.de/KnowHow/Dünnschichtchromatografie>, Mai 20169)

Sonstige Bestandteile

Salzgehalt von Lebensmittel

Versuch: Kochsalzbestimmung nach Mohr

Sicherheit:

Arbeiten unter dem Abzug mit persönlicher Schutzausrüstung und Nitrilhandschuhen

Chemikalie	Piktogramm	H und P-Sätze
Kaliumchromat K_2CrO_4	<p>Gefahr</p>	<p>H315 Verursacht Hautreizungen H317 Kann allergische Hautreaktionen verursachen. H319 Verursacht schwere Augenreizung. H335 Kann die Atemwege reizen. H340 Kann genetische Defekte verursachen (H350i Kann bei Einatmen Krebs erzeugen. H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung.</p> <p>P201 Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P308+310 Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, und Leitstelle anrufen P313 Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen</p>
Silbernitrat-Lösung $AgNO_3$	<p>Gefahr</p>	<p>H272 Kann Brand verstärken; Oxidationsmittel.</p> <p>H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung.</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P220 Von Kleidung/.../brennbaren Materialien fernhalten/entfernt aufbewahren. (Die vom Gesetzgeber offen gelassene Einfügung ist vom Inverkehrbringer zu ergänzen) P260 Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol nicht einatmen. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten</p>

		<p>P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P370 Bei Brand: +P378 mit ABC zum Löschen verwenden. P308+310 Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, und Leitstelle anrufen</p>
<p>Essigsäure $C_2H_4O_2$</p>	<p>Gefahr</p>	<p>H226 Flüssigkeit und Dampf entzündbar. H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden</p> <p>P210 Von Hitze, Funken, offenen Flammen, heißen Oberflächen sowie anderen Zündquellen fernhalten. Nicht rauchen. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301+330+331 BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P308+310 Bei Exposition oder falls betroffen: Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, und Leitstelle anrufen</p>

Chemikalien:

Indikator (3% Kaliumchromat), Silbernitrat-Lösung 0,1 M, destilliertes Wasser; Essigsäure

Geräte:

Waage, Becherglas 250 ml, Messkolben 250 ml, Rührkern, Magnetprüher, Trichter, Filter, Vollpipette 25 ml, Peleusball, Erlenmeyerkolben 200 ml, Bürette mit Stativ

Material: -

Vegane, vegetarische, fleischhaltige Lebensmittel

Durchführung:

1. Min 100 Gramm der Probe im Becherglas einwiegen (genaue Einwaage notieren) und ggf. zerkleinern
2. Zugabe von ca. 150 ml heißem destillierten Wasser und rühren für ca 10 Minuten
3. Abkühlen und filtrieren der Lösung in einen 250 ml Messkolben, auffüllen mit destilliertem Wasser bis zur Eichmarke
4. 25 ml dieser Lösung werden mittels Vollpipette in den Erlenmeyerkolben überführt
5. Der pH-Wert wird mittels Essigsäure zwischen 6,5 und 10,5 eingestellt
6. Zugabe von 10 Tropfen Indikator
7. Ggf auffüllen der lösung auf ca 100m zum besseren titrieren
8. Titrieren mit Silbernitrat-Lösung auf dem Magnetprüher bis zum Farbumschlag nach orangerot

Entsorgung:



Vorlage mit einigen Tropfen verd. Salzsäure ansäuern und mit einem Spatel Natriumhydrogensulfit versetzen. Nachdem grünes Chrom(III) entstanden ist, in den Behälter für anorganische Lösungen

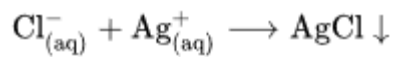
Hintergrund:

Bei einer Titration wird ein genau abgemessener Teil einer Probe in ein genau definiertes Volumen gelöst.

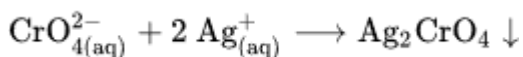
Diese Lösung enthält dann den zu bestimmenden Stoff /Titranten, in diesem Fall Chlorid

Unter Rühren wird der Analysenlösung die Maßlösung mit bekannter Konzentration (hier 0,1 M

Silbernitratlösung) zu getropft, diese enthält den Titrator (hier Ag⁺)



Nach Erreichen des Äquivalenzpunktes (Punkt an dem die Menge des Titranten und Menge des Titrators genau gleich sind), entsteht ein Farbumschlag. Es bildet sich im unseren Fall das orangebraune Silberchromat



Anhand des verbrauchten Volumens an Maßlösung kann man nun die Konzentration der Analysenlösung bestimmen.

$$c(\text{NaCl}) = \frac{V(\text{AgNO}_3) * c(\text{AgNO}_3)}{V(\text{NaCl})} = \underline{\hspace{10cm}}$$

Kohlenhydrate in Lebensmitteln

Versuch: Nachweis von reduzierenden Zuckern

Sicherheit:

Tragen von Handschuhen Nitrilhandschuhen, Laborbrille und Kittel

Reagenz	Piktogramm	H und P Sätze
Fehlingsche Lösung	 Gefahr	H318 Verursacht schwere Augenschäden. H410 Sehr giftig für Wasserorganismen, Langzeitwirkung. P273 Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P391 Verschüttete Mengen aufnehmen
Salzsäure HCl	 Gefahr	H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden H335 Kann die Atemwege reizen. H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. P260 Staub/ Rauch/ Gas/ Nebel/ Dampf/ Aerosol nicht einatmen. P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301+330+331 BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen.P331 KEIN Erbrechen herbeiführen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen
Natronlauge NaOH	 Gefahr	H290 Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. H314 Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden P280 geeignete Schutzhandschuhe /geschlossener Kittel/ Laborbrille tragen/im Abzug arbeiten P301+330 BEI VERSCHLUCKEN: P330 Mund ausspülen. P305 + P351 + P338. BEI BERÜHRUNG MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen P308 Bei Exposition oder falls betroffen: P310 Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM, Arzt, oder ... anrufen

Chemikalien:

Fehlingsche Lösung I, Fehlingsche-Lösung II, Salzsäure, Natronlauge, pH-Papier, Aqua dest (Wasser)

Geräte:

je Probe 3 Reagenzgläser, Ständer, Tropfpipetten, Heizplatte mit Wasserbad, Bechergläser, Thermometer



Material:

Vegane, vegetarische, fleischhaltige Lebensmittel

Durchführung:

1. Ca. 2 ml der jeweiligen Filtrate werden in die beschrifteten (1. 1a, 1b etc) Reagenzgläser (1,2,3) überführt und mit ca. 8 ml Aqua dest verdünnt.
2. Die entstandenen Lösungen werden gedrittelt-mittels Tropfpipette in die zwei weiteren beschrifteten RG überführt (1b, 1c etc)
3. Als positiv Kontrolle wird eine kleine Spatelspitze Fructose in 5 ml Aqua dest gelöst und ebenfalls gedrittelt
4. Zugabe von je 1 ml Fehling I und Fehling II in Lösungen in die Reagenzgläser 1,2,3, und 1a,2a,3a
5. Kurzes Erhitzen der Probelösungen 1,2,3 im Wasserbad
6. Notieren der Beobachtung im Vergleich mit 1a.2a.3a
7. Ansäuern der Reagenzgläser 1b,2b,3,b mit HCl (Test durch pH-Papier-wird rot), kurzes Erhitzen der Lösungen), anschließend kurz abkühlen lassen
8. Die Lösungen 1b,2b, 3b werden mittels NaOH alkalisch eingestellt (Überprüfung mittels pH-Papier-wird blau)
9. Versetzen der Proben 1b.2b.3b mit je 1 ml Fehling I und II, erneutes Erhitzen und Vergleich mit den Lösungen der Gruppe B

Beobachtungen:

Nummer	Probe	Nur Fehling	Fehling nach Ansäuern
1			
2			
3			

Entsorgung:

Das Reagenz darf nicht in dem Abfluss gelangen, Entsorgung im Sammelbehälter Anorganische Lösungen

Zur Durchführung der Fehling-Probe verwendet man zwei Lösungen als Nachweisreagenzien, die nach Hermann Fehling als „Fehling I“ und „Fehling II“ bezeichnet werden.

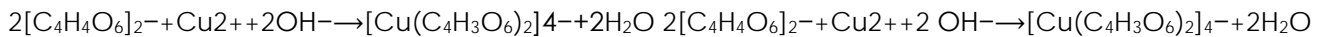
Die hellblaue Fehlingsche Lösung I ist eine verdünnte Kupfer(II)-sulfat-Lösung.

Die farblose Fehlingsche Lösung II ist eine alkalische Kaliumnatriumtartrat-Lösung.

Nach Zusammenführen gleicher Volumina beider Fehling-Lösungen besitzt das Fehling-Reagenz aufgrund der Komplexbildung der Cu(II)-Ionen mit den Tartrat-Ionen eine charakteristische, dunkelblaue Farbe. Das Tartrat hat die Aufgabe eines Komplexbildners: Durch die hohe Komplexstabilität wird das



Löslichkeitsprodukt des Kupfer(II)-hydroxids nicht mehr erreicht. Wenn die Kupfer(II)-Ionen nicht komplex gebunden vorlägen, würden die OH⁻-Ionen also mit den Kupfer(II)-Ionen zum schwerlöslichen blauen Kupfer(II)-hydroxid Cu(OH)₂ reagieren, und die eigentliche Nachweisreaktion würde so nicht mehr stattfinden.

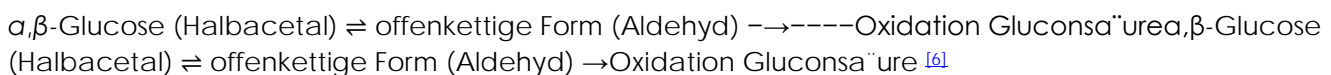


Salze der Weinsäure und Kupfer(II)-Ionen reagieren zum tiefblauen Kupfertartratkomplex und Wasser.

Nach der Zugabe der Testsubstanz wird die Lösung erwärmt. Dadurch wird die Nachweisreaktion gemäß der RGT-Regel beschleunigt. Die Monosaccharide werden in ihrer offenkettigen Form nachgewiesen, da hier die Oxidierbarkeit der Aldehydgruppe genutzt wird, die in den Ringformen als Halbacetal gebunden ist. Die offenkettige Form steht mit den verschiedenen Ringformen in einem chemischen Gleichgewicht. So liegen zum Beispiel bei Glucose in wässriger Lösung weniger als 0,1 % der Zuckermoleküle in offenkettiger Form vor.

Es erfolgt dann eine Reduktion der Kupfer(II)-Ionen erst zu gelbem Kupfer(I)-hydroxid (CuOH) und dann eine Dehydratisierung zu Kupfer(I)-oxid (Cu₂O). Aldehyde werden nach Zugabe von Fehling-Reagenz zu Carbonsäuren oxidiert, während das Kupfersulfat (CuSO₄) zu Kupfer(I)-oxid (Cu₂O) reduziert wird und als rotbrauner Niederschlag ausfällt.

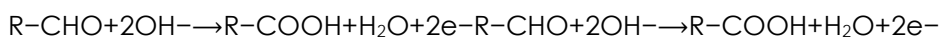
Nicht zuletzt durch das Entstehen eines festen Produkts liegt das Gleichgewicht dieser Reaktion fast vollständig auf Seiten der Carbonsäure. Dadurch werden weitere Zuckermoleküle in die offenkettige Form überführt, bis die Reaktion praktisch vollständig abgelaufen ist:



Redoxreaktion

Da die Oxidation der Probesubstanz durch Reduktion der Kupfer(II)-Ionen erfolgt, kann die Gesamtreaktion wie bei allen Redoxreaktionen in eine Oxidations- und Reduktionsreaktion zerlegt werden. Dabei wird im nachfolgenden Beispiel zur Vereinfachung nicht berücksichtigt, dass die Kupferionen eigentlich in einem Komplex mit Tartrat-Ionen (Kupfertartrat) vorliegen:

Oxidation:

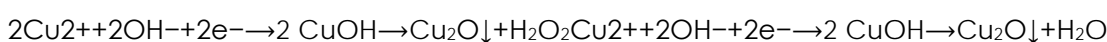


Eine Aldehydgruppe wird im basischen zur Carbonsäure oxidiert.



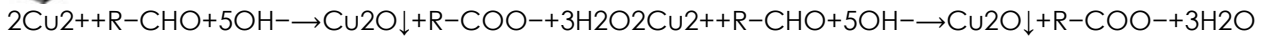
Da die Reaktion in alkalischer Umgebung stattfindet, wird die entstehende Carboxygruppe durch Hydroxidionen zur Carboxylatgruppe im Sinne einer Säure-Base-Reaktion deprotoniert.

Reduktion:

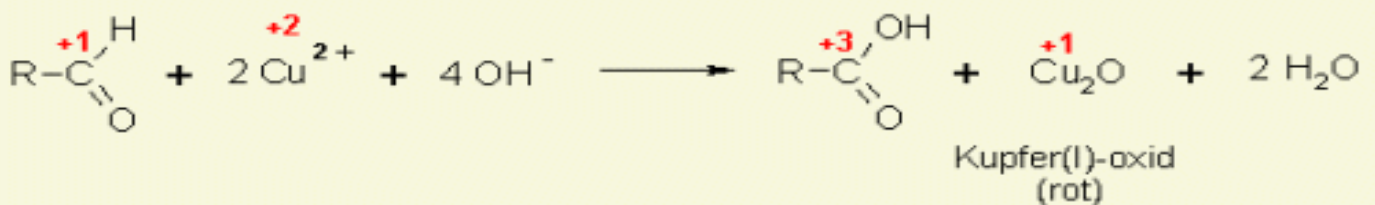
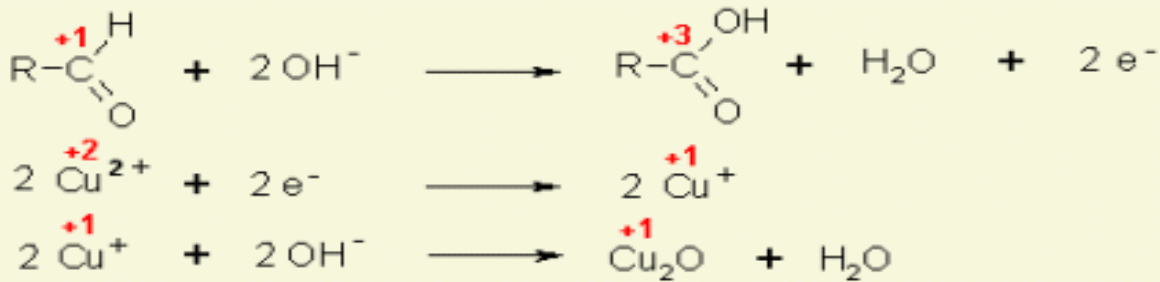


Kupfer(II)-Ionen und Hydroxidionen reagieren zu Kupfer(I)-hydroxid, das weiter zu Kupfer(I)-oxid dehydratisiert.

Redoxreaktion:



Kupfer(II)-Ionen und Aldehydgruppen reagieren im basischen Milieu zu Kupfer(I)-oxid, Carboxylaten und Wasser. (Quelle <https://www.chemie-schule.de/KnowHow/Fehling-Probe>, Mai 2019)



Quelle Chemiezauber.de

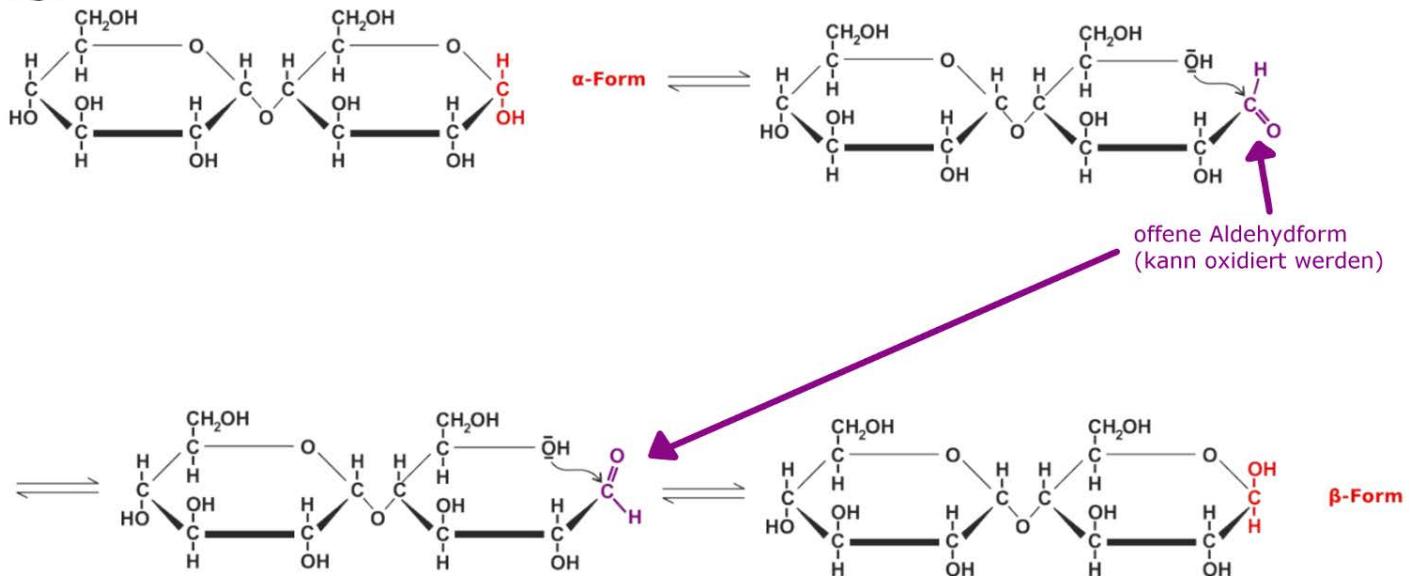
Reduzierende Wirkung von Zuckern:

Monosaccharide (Einfachzucker):

Viele Zucker liegen als Aldosen vor und haben somit eine reduzierende Wirkung. Der Grund dafür ist, dass die Aldehydgruppe (-COH) zur Carbonsäure oxidiert wird. Obwohl Zucker verhältnismäßig öfter in der Ringform vorliegen, kommt es immer wieder zur Ringöffnung, sodass die Zucker offenkettig vorliegen. In der offenkettigen Form (der Fischerprojektion) liegt dann wieder die funktionelle Aldehydgruppe vor, an der sich der Ring öffnet und schließt (siehe Ringschluss). Somit kann der Reaktionspartner reduziert werden, weshalb man von der reduzierenden Eigenschaft von Zuckern spricht.

Disaccharide (Zweifachzucker):

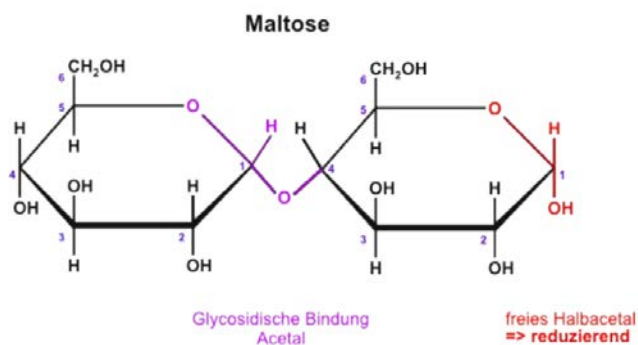
Auffällig ist, dass die Fehlingprobe bei manchen Disacchariden auch positiv (z.B. bei Lactose), aber bei anderen negativ (Saccharose) verläuft. Entscheidend hierfür ist die glycosidische Bindung zwischen den beiden Monosacchariden. Ist eines der beiden anomeren (frei drehbaren) Kohlenstoffe nicht an der glycosidischen Bindung beteiligt, so ist die Ringöffnung und Mutarotation möglich. Somit ist auch die Fehlingprobe bei diesen Zuckern positiv, da die Zucker zu einem gewissen Anteil in der offenkettigen Form vorliegen und die Aldehydgruppe oxidiert werden kann. Sind aber beide anomeren Kohlenstoffatome miteinander glycosidisch verknüpft wie bei der Saccharose, so ist die Ringöffnung der Monosaccharide nicht mehr möglich und die Fehlingprobe reagiert negativ.



reduzierende Zucker - Mechanismus der Umwandlung

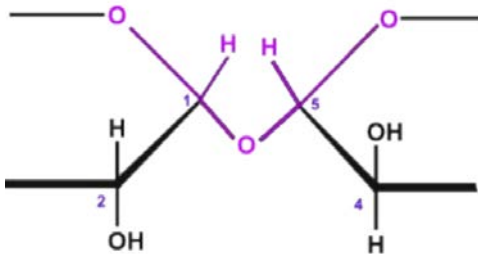
Auf einen Blick reduzierende Zucker erkennen:

Will man lediglich anhand der Strukturformel eines Zuckers einordnen, ob er eine reduzierende Wirkung hat oder nicht, so kann man einem einfachen Schema folgen. Generell kann man sagen, dass alle Monosaccharide eine reduzierende Wirkung haben, da die Ringöffnung möglich ist. Auch alle 1,4-glycosidischen gebundenen Disaccharide haben eine reduzierende Wirkung, da das erste (anomere) Kohlenstoffatom des zweiten Monosaccharids nicht an der glycosidischen Bindung beteiligt ist. Zusätzlich hilft uns die Suche nach einem Halb- bzw. Vollacetal. Liegt ein anomeres Kohlenstoffatom vor, so entsteht immer ein Halbacetal (R-C-O-C-OH) und somit ist die Ringöffnung möglich! Damit liegen Aldosen vor, welche leicht reduziert werden können.



Halbacetal

Sind allerdings beide anomeren "C"-Atome miteinander verknüpft, so entsteht ein Vollacetal (R₁-C-O-C-O-C-O-C-R₂). Dann ist keine Ringöffnung möglich, folglich kann auch kein freies Aldehyd vorliegen und der Zucker hat keine reduktiven Eigenschaften. Eine Fehlingprobe ist dann zum Beispiel negativ!



Glycosidische Bindung
Acetal

Kein freies Halbacetal!
=> nicht reduzierend

Vollacetal

Schlussfolgerung: Liegt ein bei Kohlenhydraten ein Halbacetal vor, so ist auch ein anomeres Kohlenstoffatom vorhanden und der Zucker ist oxidierbar (bzw. hat eine reduzierende Wirkung). Liegt bei Disacchariden ein Vollacetal vor, so sind die beiden frei drehbaren Kohlenstoffatome miteinander verbunden und können nicht weiter oxidiert werden, weshalb der Zucker in diesem Fall keine reduzierende Wirkung hat.

(Quelle: <https://abitur-wissen.org/index.php/organische-chemie/457-organische-chemie-fehlingprobe-reduzierende-eigenschaften-bei-kohlenhydraten>, Mai 2019)