

Wolfgang Proske

Schulchemiezentrum

Dipl. Ing (FH) Wolfgang Proske

Bahnhofstr. 18, 06895 Zahna - Elster

Tel: 034924 / 20648,

Fax: 034924 / 20011

www.schulchemiezentrum.de

wolfgang_proske@web.de

wolfgang.proske@schulchemiezentrum.de

StR. Dr. Frank Walter

PhD Biochemistry, Dipl.-Biologe, &

Master in Education (Schul- und Unterrichtsforschung)

Christian-von-Dohm-Gymnasium Goslar

Bornhardtstr. 16, 38644 Goslar

Tel: 05321 / 37 53 20

Fax: 05321 / 37 53 23

www.cvd-gs.de

frwalter@gmx.net

h.walter@cvd-gs.de

Reagenzglasversuche zur Chemie der Kohlenhydrate

Was ist in der Schule machbar?

Fachwissenschaftliche Kontexte und didaktische Umsetzung

- 1. Einleitung**
- 2. Fachliche Grundlagen**
 - 2.1. Kohlenhydrate, eine allgemeine Einführung**
- 3. Monosaccharide, allgemeine Grundlagen**
 - 3.1. Typische Reaktionen**
 - 3.1.1. Reduktionsreaktionen**
 - 3.1.2. Kondensationsreaktionen**
 - 3.1.3. Bildung von Osazonen**
 - 3.2. Experimente zum Thema Monosaccharide**
 - 3.2.1. Experimente zu Struktur von Glucose und Fructose**
 - 3.2.1.1. Reaktion von Glucose mit Schiffs-Reagenz**
 - 3.2.1.2. Reaktion von Fructose mit Natriumnitroprussid**
 - 3.2.1.3. Unterscheidung von Glucose und Fructose mit Kaliumhypoiodit**
 - 3.2.1.4. Reaktion von Glucose mit Methylenblau in alkalischer Lösung**
 - 3.2.1.5. Enzymatischer Glucose- Nachweis, Spezifität**
 - 3.2.1.6. Bildung von Osazonen**
 - 3.2.2. Reduktionsreaktionen als Grundlage der verschiedenen Nachweise**
 - 3.2.2.1. Klassische Fehling Probe**
 - 3.2.2.2. Benedict-Probe**
 - 3.2.2.3. Alternativen zu Fehling und Benedict**
 - 3.2.2.4. Probe nach Tollen**
 - 3.2.2.5. Probe nach Cole**
 - 3.2.2.6. Probe nach Trommer**
 - 3.2.2.7. Probe nach Haine**
 - 3.2.2.8. Probe nach Barfoed**
 - 3.2.2.9. Probe nach Nylander**
 - 3.2.2.10. Reduktion von Pikrinsäure durch Glucose**
 - 3.2.2.11. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn Jensen**
 - 3.2.2.12. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung nach Somogy-Nelson**
 - 3.2.2.13. Halbquantitative Bestimmung von Glucose mit Benedict-Reagenz**
 - 3.2.2.14. Glucose- Bestimmung mittels Halbmikrotitration**
 - 3.2.3. Kondensationsreaktionen**
 - 3.2.3.1. Fructose - Nachweis nach Selivanow**
 - 3.2.3.2. Kohlenhydrat-Nachweis nach Molisch mit Naphthol und Thymol**
 - 3.2.3.3. Pentose-Nachweis nach Bial**
 - 3.2.3.4. Reaktion nach Rothenfußer (Diphenylamin)**
 - 3.2.3.5. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung mit Anthron**

3.2.3.5. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung nach Hultmann**4. Disaccharide****4.1. Allgemeine Grundlagen****4.2. Verhalten von Disacchariden gegenüber Reduktionsproben****4.3. Experimente****4.3.1. Reaktion von Lactose und Saccharose gegenüber Benedict- RL****4.3.2. Inversion von Saccharose mit Säuren****4.3.3. Inversion von Saccharose mit Saccharidase (Bäckerhefe)****4.3.4. Saccharose-Nachweis mittels Probe nach Wöhlk****4.3.5. Identitätsprüfung von Saccharose nach DAC 3****5. Polysaccharide****5.1. Allgemeine Grundlagen****5.2. Chemisches Verhalten****5.3. Experimente****5.3.1. Nachweis von Stärke****5.3.2. Nachweis von Cellulose****5.3.3. Säurehydrolyse der Stärke****5.3.4. Enzymatischer Stärkeabbau (Kohlenhydrat-Verdauung)****5.3.5. Wirkungsweise der Amylase (Amylase-Bestimmung nach Wohlgemuth)****Anhang****Herstellungsvorschrift für die Reagenzien****Literaturverzeichnis**

1. Einleitung

Im Zusammenhang mit einer Literaturrecherche stieß ich auf eine Projektarbeit von mir aus dem Jahre 1980. Das Thema lautete: „Reagenzglasversuche zur organischen Chemie und Biochemie“. Uns störte schon damals im Fernstudium in der Fachrichtung „Medizinisch-technische Laborassistenten“, dass der Unterricht in Chemie und Biochemie reine Kreidechemie war. Unser damaliger Dozent für Biochemie an der Medizinischen Fachschule an der Martin Luther Universität, Herr Jürgen Wermter, regte damals an, im Labor einfache Experimente durchzuführen, welche mit der damaligen Ausstattung eines Klinisch – chemischen Routinelaboratoriums eines Krankenhauses realisierbar waren. Um zu beweisen, dass es auch anders gehen kann, habe ich damals die Arbeit geschrieben, welche seinerzeit als Prüfungsleistung anerkannt wurde. Das Ziel war seinerzeit, dass bestimmte theoretische Sachverhalte aus dem Unterricht experimentell untermauert werden sollten. Diese Sammlung wurde noch im Laufe der Jahre komplettiert, weitere Experimente aus Praktikumsbüchern für Biochemie für Medizinstudenten wurden aufgenommen, da ich auch früher auch als MTA an Laborpraktika Medizinstudenten beteiligt war. Wenn man die Unterlagen nach heutigen Gesichtspunkten sichtet, finden sich darin durchaus auch interessante Anregungen für die experimentelle Arbeit im Chemie- und Biologieunterricht. Es wurden bewusst auch im Sinne der Vollständigkeit Experimente mit Chemikalien darin belassen, deren toxikologisches Potenzial heute anders bewertet wird. Natürlich hat sich heute die Analytik im medizinischen Labor grundlegend geändert. Früher manuell durchgeführte Methoden werden heute von Automaten erledigt. Bei der Kohlenhydratanalytik, wie auch in anderen Bereichen werden heute oft enzymatische Methoden eingesetzt. Ziel dieser Arbeit ist es, neue Anregungen für das experimentelle Arbeiten zu geben, aber auch Dinge, welche bisher nicht in der didaktischen Literatur zu finden waren zu propagieren. Die Materialsammlung könnte auch für die Begabtenförderung interessant sein.

2. Fachliche Grundlagen

2.1. Kohlenhydrate, eine allgemeine Einführung

Kohlenhydrate sind Naturstoffe, die die Summenformel $C_n(H_2O)_n$ haben. Chemisch gesehen sind sie Oxidationsprodukte mehrwertiger Alkohole. Zu den Kohlenhydraten gehören die Monosaccharide, Oligosaccharide und Polysaccharide. Mono- und Oligosaccharide werden auch als Zucker bezeichnet. Sie sind in jeder pflanzlichen und tierischen Zelle vorhanden. Weiterhin stellen sie mengenmäßig den größten Anteil organischer Stoffe auf der Erde dar. Zusammen mit den Eiweißen und Fetten sind sie die wichtigsten Nährstoffe.

Einteilung der Kohlehydrate:

nach der Molekülgröße:

- Monosaccharide ein Kohlenhydrat-Baustein
- Oligosaccharide 2 – 10 Kohlenhydrat-Bausteine
- Polysaccharide > 10 Kohlenhydrat-Bausteine

nach der Anzahl der Kohlenstoffatome:

Name	Anzahl der Kohlenstoffatome	Wichtige Vertreter
Triose	3 C-Atome	Glycerinaldehyd, Dihydroxyaceton
Tetrose	4 C-Atome	Erythrose
Pentose	5 C-Atome	Ribose, Desoxyribose
Hexose	6 C-Atome	Glucose, Fructose

nach der funktionellen Gruppe:

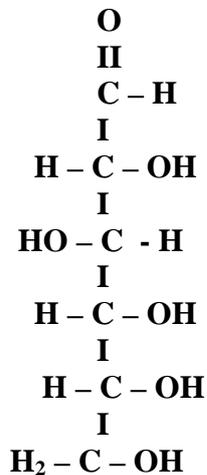
Ketose – enthält eine Ketogruppe im Molekül

Aldose – enthält eine Aldehydgruppe im Molekül

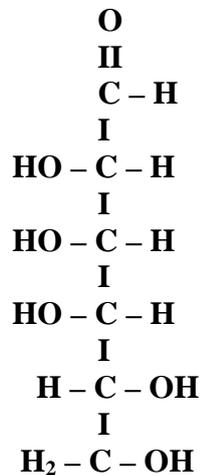
3. Monosaccharide, allgemeine Grundlagen

Die wichtigsten Kohlenhydrate sind:

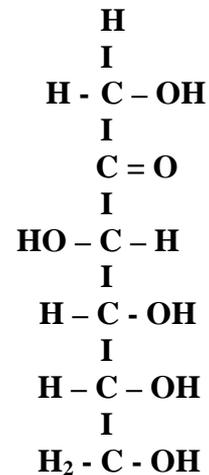
Glucose (Aldose)



Galactose (Aldose)



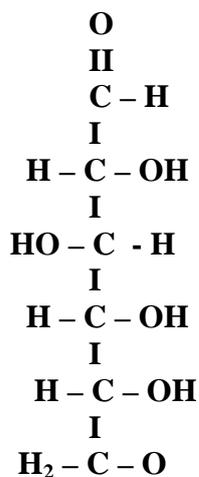
Fructose (Ketose)



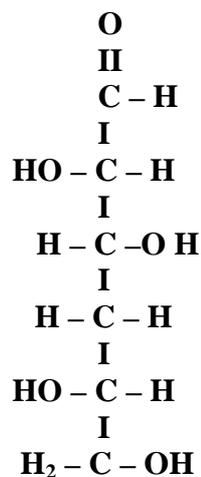
D – und L – Form der Monosaccharide

Bei den Monosacchariden findet man asymmetrische Kohlenstoffatome, das heißt 4 unterschiedliche Substituenten an einem Kohlenstoffatom. Sie sind optisch aktiv und drehen die Ebene des polarisierten Lichtes. Man unterscheidet die D – und L – Form, welche chemisch völlig identisch sind. Steht am letzten asymmetrischen Kohlenstoffatom die funktionelle Gruppe links, handelt es sich um die L – Form, steht sie rechts, um die D – Form. Die Form ist nicht identisch mit der Drehrichtung, sie kann nur am Polarimeter ermittelt werden. Die D – und L – Form der Zucker sind von großer Bedeutung. Der Organismus kann nur die D – Zucker verarbeiten, weil die vorhandenen Enzyme die räumliche Anordnung berücksichtigen (sterische Spezifität).

D - Glucose



L - Glucose



α – und β – Form der Monosaccharide

Bei der Ringbildung entsteht bei Aldosen am C 1 – Atom, bei Ketosen am C 2 – Atom ein neues Asymmetriezentrum, wo vorher eine C = O Doppelbindung war. Es entstehen zwei neue Isomere, die α – und β – Form. Die α – Form hat einen höheren Drehwert des

polarisierten Lichtes. Beim Lösen von Glucose stellt sich ein Gleichgewicht zwischen beiden Formen ein. In der Ringformel (nach Haworth) stellt sich deshalb die OH – Gruppe am C 1 unten bei der α -Form und am C 1 oben bei der β – Form

Furanosen – Pyranosen

Monosaccharide liegen in Lösung nicht in der offenkettigen Form vor. Unter Halbacetalbildung erfolgt die Bildung eines sauerstoffhaltigen Ringes durch Verknüpfung der Carbonylgruppe mit einer Hydroxylgruppe. Man unterscheidet nach Ringgröße fünfgliedrige Furanosen (Halbacetalbildung C 1 und C 4) und die sechsgliedrigen Pyranosen (Halbacetalbildung C1 und C 5). Monosaccharide liegen meist als Pyranosen, seltener als Furanosen vor.

3.1. Typische Reaktionen

In der folgenden Übersicht werden vor allen die typischen Reaktionen der Kohlenhydrate beschrieben, welche die Grundlage für qualitative Nachweisreaktionen und quantitative Bestimmungen sind. Einige wenige sind auch in der Schulpraxis gebräuchlich (Fehling, Benedict, Molisch).

3.1.1. Reduktionsreaktionen

Beim Erhitzen von Monosacchariden kommt es zur Öffnung des Pyranose- bzw. Furanoserings und nachfolgender Isomerisierung am C 1 und C 2 – Atom. Dabei stellt sich ein Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Isomeren und der Dienolform ein. Erfolgt die Reaktion bei leicht alkalischen Bedingungen (pH 12, in Natriumcarbonat-Lösung) bleibt die Reaktion auf dieser Stufe stehen. Bei stark alkalischen Bedingungen (pH 14, Natronlauge) kommt es zu weiteren Zersetzungserscheinungen. Die Reduktionswirkung beruht auf der Aldehydstruktur, aber auch auf der Dienolstruktur. Die halbacetalischen Hydroxylgruppen werden im alkalischen Medium zu Dienolen umgewandelt.

Reduktionsmethoden spielten zur Diagnostik des Diabetes mellitus eine wichtige Rolle:

Nachweis von Glucose im Harn

<i>Methode</i>	<i>Reagenz</i>
Fehling	Kupfersalz
Trommer	Kupfersalz
Haines	Kupfersalz
Benedict	Kupfersalz
Nylander	Bismutsalz
<i>Halbquantitativ</i>	
Benedict	Kupfersalz
Glycurator	Kupfersalz

Bestimmung der Glucose-Konzentration im Blut

<i>Methode</i>	<i>Reagenz</i>
Hagedorn- Jensen	Kaliumhexacyanoferrat (III), iodometrische Titration
Creelius- Seifert	Pikrinsäure, Kolorimetrie
Somogyi-Nelson	Kupfersulfat, Arsenmolybdat, Fotometrie
Neuweiler	Kaliumhexacyanoferrat, Eisen(III)sulfat, Fotometrie

Da die Reduktionsreaktionen im Alkalischen ablaufen ist es erforderlich, dass die Nachweisreagenzien Komplexbildner enthalten. Sie verhindern das Ausfallen der Schwermetalle in alkalischer Lösung. Als Komplexbildner werden vorwiegend Citrate und Tartrate eingesetzt.

3.1.2. Kondensationsreaktionen

Bei der Reaktion von Zuckern mit Säuren werden diese zunächst zu den Monosacchariden aufgespalten, danach reagieren diese unter Wasserabspaltung zu Derivaten des Furans. Aus Pentosen entsteht Furfural (Furaldehyd), aus Hexosen entsteht Hydroxymethylfurfural. Diese reagiert mit verschiedenen Aromaten, es entstehen Triphenylmethanfarbstoffe. Gebräuchliche Aromaten sind: 1-Naphtol, Resorcin, Anthron, o- Toluidin (2. Aminotoluol), Thymol, Diphenylamin, Phlorogucin, Orcin (3 Methyl, 1.5 Dihydroxybenzol)

Anwendung von Kondensationsmethoden zur Blutzuckerbestimmung

<i> Methode</i>	<i> Reagenz</i>
Hultmann	o- Toluidin in Eisessig, Fotometrie
Anthron	Anthron in konz. Schwefelsäure, Fotometrie

3.1.3. Bildung von Osazonen

Eine Möglichkeit zur Identifizierung von Kohlenhydraten aber auch anderen Carbonyl-Verbindungen ist die Reaktion mit Phenylhydrazin aber auch 2.4 Dinitrophenylhydrazin. Es entstehen schwerlösliche Osazone, die ausfallen. Diese haben einen charakteristischen Schmelzpunkt. Anhand des Schmelzpunktes kann man die Carbonylverbindung identifizieren.

3.2. Experimente zum Thema Monosaccharide

3.2.1. Experimente zu Struktur von Glucose und Fructose

3.2.1.1. Reaktion von Glucose mit Schiffs-Reagenz

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Spatel, Glucose, Formaldehyd-Lösung, Schiffs Reagenz

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose wird in 5 ml Wasser gelöst und es werden einige Tropfen Schiffs Reagenz dazugegeben. In einem zweiten Reagenzglas werden 2.3 Tropfen Formaldehyd-Lösung mit 5 ml Wasser gemischt und es werden einige Tropfen Schiffs Reagenz dazugegeben.

Beobachtung:

Die Glucose-Lösung verändert Schiffs Reagenz nicht, bei Formaldehyd-Lösung erfolgt ein Farbumschlag nach rotviolett.

Auswertung:

Glucose liegt in wässriger Lösung nicht in der offenkettigen Struktur (Aldehyd-Form) sondern in Ringform vor. Deshalb fällt die Aldehyd-Probe mit Schiffs Reagenz negativ aus.

3.2.1.2. Reaktion von Fructose mit Natriumnitroprussid

Geräte und Chemikalien:

Tüpfelplatte oder Uhrglasschalen, Fructose, Aceton, Dinatriumpentacyanonitrosylferrat- RM

Durchführung:

Eine kleine Spatelspitze Fructose wird in einigen Tropfen Wasser gelöst und mit einer reichlichen Spatelspitze Dinatriumpentacyanonitrosylferrat-RM versetzt. Eine Gegenprobe wird mit einer Aceton-Lösung (1 ml Wasser 1 Tropfen Aceton) durchgeführt.

Beobachtung:

Nur in Gegenwart von Aceton kommt es zum Farbumschlag nach violett.

Auswertung:

Fructose liegt in Lösung als Furanose vor, deshalb zeigt sie nicht die typischen Eigenschaften der Ketone.

3.2.1.3. Unterscheidung von Glucose und Fructose mit Kaliumhypoiodit

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Fructose, Glucose, Iod-Kaliumiodid-Lösung nach Lugol, Kalilauge 1 mol/l

Durchführung:

10 ml Iod-Kaliumiodid-Lösung werden unter Umschütteln tropfenweise mit Kalilauge versetzt, bis die Lösung gelb gefärbt ist. Je eine Spatelspitze Glucose und Fructose werden in 5 ml Wasser gelöst. Zu beiden Lösungen wird die Kaliumhypoiodid-Lösung gegeben.

Beobachtung:

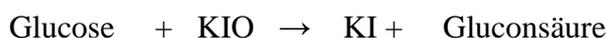
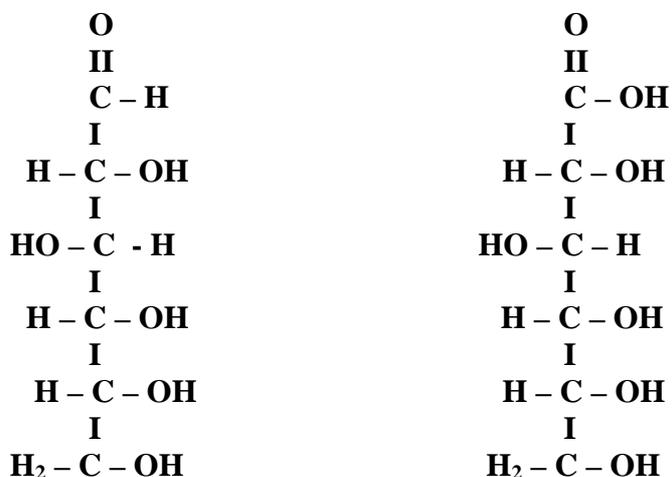
Die Glucose-Lösung wird sofort entfärbt, die Fructose-Lösung entfärbt sich sehr langsam.

Auswertung:

Versetzt man eine Iod-Lösung mit einer Lauge, entsteht ein Gemisch aus Hypoiodid und Iodid



Glucose ist eine Aldose und reduziert die Kaliumhypoiodid-Lösung dabei entsteht Iodid und Gluconsäure



3.2.1.4. Reaktion von Glucose mit Methylenblau in alkalischer Lösung ein Modellversuch zur Wirkungsweise wasserstoffübertragender Systeme

Geräte und Chemikalien:

Reagenzglas mit Stopfen, Glucose, Natronlauge 1 mol/l, Methylenblau-Lösung nach Löffler

Durchführung:

Einen reichlichen Spatel Glucose löst man in 4 -5 ml Wasser, gibt 20 Tropfen Natronlauge sowie 1 Tropfen Methylenblau-Lösung dazu- Danach wird das Reagenzglas mit Stopfen verschlossen und stehen gelassen. Nachdem Entfärbung eingetreten ist, wird es kräftig geschüttelt-

Beobachtung:

Die ursprünglich blaue Lösung entfärbt sich. Beim Schütteln des verschlossenen Glases tritt die Blaufärbung wieder ein. Dieser Vorgang lässt sich mehrfach wiederholen.

Auswertung:

Glucose wird zu Gluconsäure unter Wasserstoff-Abgabe oxidiert. Der blaue Farbstoff Methylenblau nimmt den Wasserstoff auf, es entsteht Leucomethylenblau, es findet Entfärbung statt. Beim Schütteln mit Luft, es genügt der über der Flüssigkeit stehende Luft-Sauerstoff, gibt das Leucomethylenblau den Wasserstoff wieder ab, welcher mit Sauerstoff reagiert. Es entsteht Oxidationswasser. Methylenblau vermag durch den ständigen Wechsel von der oxidierten zur reduzierten Form (Leucomethylenblau) als Wasserstoffüberträger zu wirken, indem es von einem Substrat (z. B. Zucker) Wasserstoff entzieht und auf ein geeignetes Substrat (z. B. Sauerstoff) überträgt.

3.2.1.5. Enzymatischer Glucose- Nachweis, Spezifität und Empfindlichkeit

Geräte und Chemikalien:

Messpipette 1 ml, 10 ml, Reagenzgläser, Glucose-Lösung 10 g/100 ml, Fructose, Teststreifen zum Glucose-Nachweis im Harn

Durchführung:

Nachweis von Glucose:

Teststreifen in Glucose-Lösung eintauchen, Ergebnis nach angegebener Reaktionszeit ablesen

Spezifität:

Nachweis mit Fructose-Lösung wiederholen

Empfindlichkeit:

In 3 von 4 Reagenzgläsern werden 9 ml dest. Wasser pipettiert. In das erste Reagenzglas wird Glucose-Lösung 10 g/100 ml eingefüllt. Aus dem ersten Glas nimmt man 1 ml mit einer Messpipette und pipettiert es in das zweite Glas, welches 9 ml Wasser enthält. Danach gut mischen und wieder 1 ml entnehmen und in das dritte Glas pipettieren und gut mischen. Wiederum 1 ml entnehmen und in das vierte Glas pipettieren. In jedes Glas einen Teststreifen tauchen und das Ergebnis nach der angegebenen Reaktionszeit ablesen.

Beobachtung:

Beim ersten Versuch verfärbt sich der Teststreifen. Beim 2. Teilversuch verändert sich der Streifen nicht. Bei den Verdünnungen erfolgt die Verfärbung mit unterschiedlicher Stärker, je höher die Konzentration, desto intensiver die Farbe.

Auswertung:

Glucose-Teststreifen enthalten die Enzyme Glucose-Oxidase und Peroxidase. Glucose wird zur Gluconsäure oxidiert, in einer Nebenreaktion entsteht Wasserstoffperoxid, welches mit einem Chromogen einen Farbstoff bildet. Nur Glucose ergibt ein positives Resultat. Während

Reduktionsproben z. B. Fehling sowohl mit Glucose als auch mit Fructose ein positives Ergebnis liefern.

3.2.1.6. Bildung von Osazonen

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Wasserbad, Essigsäure 2 mol/l, Phenylhydrazin- Natriumacetat-Gemisch

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose wird in 5 ml Wasser gelöst und mit einigen Tropfen Essigsäure angesäuert. Nach Zusatz eines Spatels Phenylhydrazin- Natriumacetat-Gemisch wird der Ansatz 10 für 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt

Beobachtung:

Es bildet sich ein gelber Niederschlag

Auswertung:

Es entstehen gut kristallisierbare Niederschläge. Sind mikroskopische Untersuchungen möglich, sollte der Niederschlag aus heißem Wasser umkristallisiert werden. Dasselbe gilt auch, wenn die Bestimmung des Schmelzpunktes erfolgen soll.

Da durch die Osazon-Bildung die Asymmetrie der ersten beiden Kohlenstoffatome aufgehoben wird, sind die Osazone von Glucose, Fructose und Mannose identisch.

3.2.2. Reduktionsreaktionen als Grundlage der verschiedenen Nachweise

In dieser Übersicht sind vor allem solche Nachweisreaktionen beschrieben, welche früher im medizinischen Labor zur Diagnostik des Diabetes mellitus eingesetzt worden.

3.2.2.1. Klassische Fehling Probe

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Wasserbad, Glucose, Fehling I, Fehling II,

Durchführung:

Zunächst ist die Mischung gleicher Volumenteile Fehling I und Fehling II herzustellen

Eine Spatelspitze Glucose in 2 ml Wasser lösen und mit 2 ml Fehling-Mischung zu versetzen und zu erhitzen

Das Reagenzglas sollte auf keinen Fall mit einer offenen Flamme erhitzt werden, sondern in ein kochendes Wasserbad gestellt werden, wegen Gefahr der Siedeverzüge

Kupferoxid- Niederschläge lassen sich aus den Reagenzgläsern mit verdünnter Salzsäure, Schwefelsäure oder Essigessenz entfernen.

Beobachtung:

Der Ansatz wird trüb und färbt sich orangerot

Auswertung:

Der Nachweis von Traubenzucker von Hermann Fehling stammt aus dem Jahr 1848.

Natronlauge sorgt für das alkalische Milieu, Kaliumnatriumtartrat verhindert das Ausfallen von Kupferhydroxid.

3.2.2.2. Benedict-Probe

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Wasserbad, Glucose, Benedict-Reagenz

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose in 2 ml Wasser lösen und mit 2 ml Benedict-Reagenz zu versetzen und zu erhitzen

Das Reagenzglas sollte auf keinen Fall mit einer offenen Flamme erhitzt werden, sondern in ein kochendes Wasserbad gestellt werden, wegen Gefahr der Siedeverzüge

Kupferoxid- Niederschläge lassen sich aus den Reagenzgläsern mit verdünnter Salzsäure, Schwefelsäure oder Essigessenz entfernen.

Beobachtung:

Der Ansatz wird trüb und färbt sich orangerot

Auswertung:

Benedict hat diese Reaktion 1911 beschrieben. Natriumcarbonat bewirkt die alkalische Reaktion, als Komplexbildner wird Natriumcitrat eingesetzt. Dieses Reagenz hat gegenüber der bisher in der Schule etablierten Fehling- Lösung mehrere Vorteile:

- jahrelang haltbares Reagenz
- nur eine Lösung erforderlich
- geringeres Gefahrenpotenzial statt Natronlauge Natriumcarbonat

3.2.2.3. Alternativen zu Fehling und Benedict

Modifizierte Fehling-Proben

Der Nachweis reduzierender Stoffe beispielsweise Glucose mit Fehling - Reagenz ist ein häufig durchgeführtes Experiment im Chemie - und Biologieunterricht.

Die ablaufenden Reaktionen der klassischen und modifizierten Fehling-Proben sind identisch. Zweiwertige Kupferionen werden in alkalischer Lösung durch reduzierende Stoffe zu einwertigen Kupferionen oder Kupfer reduziert. Komplexbildner (z.B. Salze der Wein - und Citronensäure verhindern die Ausfällung von Kupferhydroxid in alkalischer Lösung.

Das Problem sind die Siedeverzüge:

Wird der stark alkalische Ansatz im Reagenzglas mit offener Flamme erhitzt wird, besteht die Gefahr, das das stark ätzenden Reaktionsgemisches aus dem Reagenzglas spritzt!

Dies ist eine unkalkulierbare Unfallquelle.

Es gibt drei Möglichkeiten zur Minimierung dieser Unfallquelle:

A Verfahren ohne Brenner

B Tüpfel-Verfahren ohne Brenner

C der „Selbstbau – Fehling“ im Wasserbad

Verfahren ohne Brenner

Als Reaktionsgefäß dient ein Reagenzglas (16/160 mm) in welches maximal 2 cm hoch die zu untersuchende Lösung gefüllt ist und in einen 100 ml Enghalslerlenmeyerkolben gestellt wird. Dazu wird ein Spatel Reagenz I (Kupfersulfat mit Wein – oder Citronensäure) gegeben.

Die Reaktion wird durch Zugabe von 2-3 Natrium – oder Kaliumhydroxid-Plätzchen gestartet. Diese vorgeschlagene Modifikation unterscheidet sich von der klassischen Fehling-Probe dadurch, dass die erforderliche Reaktionstemperatur nicht durch Erwärmen mit einem Brenner, sondern durch eine chemische Reaktion (Auflösung und Neutralisation des festen

Natriumhydroxids) erzeugt wird. Wichtig ist, dass als Reaktionsgefäß ein Reagenzglas (16/160 mm) verwendet wird und dieses maximal 2 cm hoch mit Probelösung gefüllt ist.

Dieses ist aus folgenden Gründen notwendig:

- notwendige Temperatur wird nach Zugabe von 2 bis 3 NaOH- Plätzchen nicht erreicht
- Reagenzglas verfehlt Wirkung als Rückflusskühler zur Verhinderung des Siedeverzuges

Ständer für das Reagenzglas

- 100 ml Enghalslerlenmeyerkolben Schutz vor Berühren des sehr heißen Reagenzglases

Bei Schülerexperimenten empfiehlt sich folgendes Vorgehen:

- Schüler bereiten das Experiment bis einschließlich der Zugabe des Reagenz I vor
- Lehrer gibt Natriumhydroxid mit Hilfe einer Pinzette in das Reagenzglas.

Bei Demonstrationsversuche wäre auch folgende Variante möglich:

- Verwendung eines Demonstrationsreagenzglases (200 x 30 mm)
- Ständer einen 100 ml Weithals – oder 300 ml Enghalslerlenmeyerkolben
- wichtig auch hier maximal die Probe 2 cm hoch einzufüllen

• Tüpfel-Verfahren ohne Brenner

Für dieses Experiment werden in einer Zellkulturplatte (6 oder 12 Vertiefungen) etwa 10 Tropfen Untersuchungslösung eingefüllt und mit einer Spatelspitze Kupfersulfat-Citronensäure-Gemisch versetzt. Die Reaktion wird gestartet, indem eine Spatelspitze gepulvertes Natriumhydroxid zugegeben wird und leicht umgeschüttelt wird.

Dieses Experiment funktioniert nicht mit Tüpfelplatten aus Porzellan!

Geräte und Chemikalien:

A Verfahren ohne Brenner (Variante mit Erlenmeyerkolben)

Reagenzglas 16 x 160 mm, Erlenmeyerkolben 100 ml Enghals

Reagenz I: Gemisch von 1 Teil Kupfersulfat -5 hydrat mit 3 Teilen Wein - oder Citronensäure

Reagenz II: festes Natrium - oder Kaliumhydroxid, Glucose

B Tüpfel-Verfahren ohne Brenner

Zellkulturplatte mit 6 oder 12 Vertiefungen

Reagenz I: Gemisch von 1 Teil Kupfersulfat -5 hydrat mit 3 Teilen Wein - oder Citronensäure

Reagenz II: festes Natrium - oder Kaliumhydroxid ,Glucose

C der „Selbstbau – Fehling“ im Wasserbad

Erlenmeyerkolben 50 oder 100 ml, Reagenzgläser, Wasserbad

Natriumcarbonat-10 hydrat (Soda), Weinsäure oder Citronensäure, Kupfersulfat-5 hydrat, Glucose

Durchführung:

A Verfahren ohne Brenner (Variante mit Erlenmeyerkolben)

Im Reagenzglas wird ein Spatel Glucose in 1 -2 ml Wasser gelöst und mit einer reichlichen Spatelspitze Reagenz I versetzt und gemischt. Das Reagenzglas wird in den Erlenmeyer - kolben gestellt mit 2 -3 Plätzchen Reagenz II versetzt und leicht umgeschwenkt. Nach wenigen Minuten setzt die Reaktion ein.

B Tüpfel-Verfahren ohne Brenner

Für dieses Experiment werden in einer Zellkulturplatte (6 oder 12 Vertiefungen) etwa 10 Tropfen Untersuchungslösung eingefüllt und mit einer Spatelspitze Kupfersulfat-Citronensäure-Gemisch versetzt. Die Reaktion wird gestartet, indem eine Spatelspitze gepulvertes Natriumhydroxid zugegeben wird und leicht umgeschüttelt wird.

Dieses Experiment funktioniert nicht mit Tüpfelplatten aus Porzellan!

C der „Selbstbau – Fehling“ im Wasserbad***Herstellung von „Selbstbau – Fehling“***

- in den Erlenmeyerkolben 10 – 15 ml Wasser geben
- solange Wein – oder Zitronensäure zugeben, bis trotz Schütteln ein Bodensatz bleibt
- bis zur Beendigung der Gasentwicklung portionsweise Natriumcarbonat zugeben
- zusätzlich noch 2 Spatel Natriumcarbonat im Überschuss zugeben
- einen Spatel Kupfersulfat in diesem Gemisch lösen
- es muss eine klare, dunkelblaue Lösung entstehen

Nachweis reduzierender Zucker mit „Selbstbau – Fehling“

- Wasser im Becherglas zum Kochen bringen
- zwei Reagenzgläser mit Folienschreiber beschriften
- in zwei Reagenzgläser je 2,5 ml „Selbstbau – Fehling“ mit Spritze einfüllen
 - Reagenzglas 1 4 Tropfen Wasser zugeben
 - Reagenzglas 2 4 Tropfen Glucose-Lösung
- Reagenzgläser 5 min in das siedende Wasserbad geben

Beobachtung:

Es tritt in allen Fällen die bekannte Farbreaktion ein, beim letzten Experiment ist auch eine Blindprobe (Negativ-Kontrolle)

Auswertung:

Die Alternativen wurden vor Jahren entwickelt und in Veranstaltungen der Lehrerfortbildung vorgestellt, um insbesondere bei Schülerübungen das Gefährdungspotenzial zu reduzieren.

3.2.2.4. Probe nach Tollen**Geräte und Chemikalien:**

Reagenzgläser, Wasserbad,

Glucose, Silbernitrat-Lösung 1 %, Natronlauge 1 mol/l, Ammoniak-Lösung 10 %

Durchführung:***Hinweise zum Arbeitsschutz:***

Ammoniakalische Silbernitrat-Lösung ist unmittelbar vor Gebrauch herzustellen und zu verwenden. Möglicherweise anfallende Reste sind unverzüglich mit Salzsäure anzusäuern (Kontrolle mit Indikatorpapier), um die Bildung von explosiven Silberazid zu verhindern.

Herstellung der Ammoniakalischen Silbernitrat-Lösung:

2 ml Silbernitrat-Lösung werden mit einem Tropfen Natronlauge versetzt, es fällt schwarzes Silberoxid aus. Unter Umschütteln ist tropfenweise Ammoniak-Lösung zuzugeben, bis die Lösung gerade klar und farblos geworden ist. In diese Lösung wird eine Spatelspitze Glucose gegeben, danach wird der Ansatz in ein siedendes Wasserbad gestellt

Beobachtung:

Nach kurzer Zeit scheidet sich ein Silberspiegel an

Auswertung:

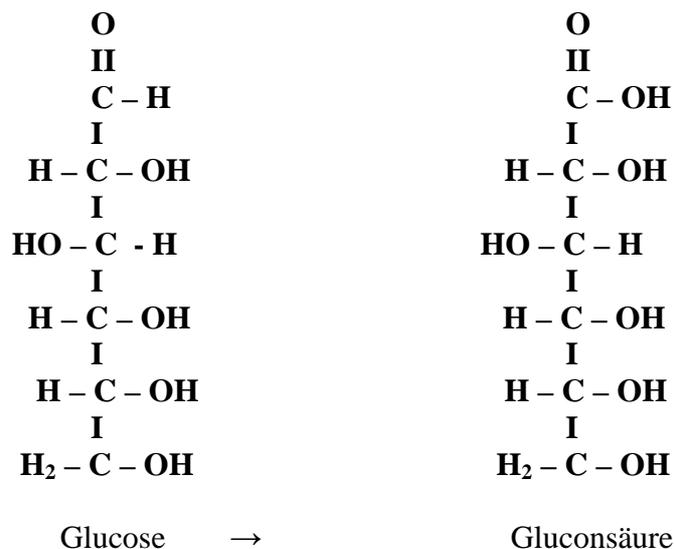
Glucose reduziert die in Tollens – Reagenz enthaltenen Silber-Ionen zu elementarem Silber.

Glucose wird zu Gluconsäure oxidiert.

Diese scheidet sich entweder als Spiegel bei ganz sauberen Gläsern ab, ansonsten fein verteilt als schwarzer Niederschlag.

Hinweis:

Einen guten Silberspiegel erhält man nur mit fettfreien, exakt gereinigten Gläsern. Am besten neue Gläser verwenden!

**3.2.2.5. Probe nach Cole****Geräte und Chemikalien:**

Reagenzgläser, Natriumcarbonat, Kupfersulfat-Lösung 1 %, Natriumcarbonat, wasserfrei, Glycerin

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose wird in 5 ml Wasser gelöst, mit einem Spatel Natriumcarbonat, 3 Tropfen Glycerin und 3 Tropfen Kupfersulfat-Lösung versetzt (Reihenfolge beachten!) Anschließend wird erhitzt.

Beobachtung:

Es findet ein Farbumschlag nach orangegelb statt

Auswertung:

Diese Reaktion wurde 1925 von Cole beschrieben. Als Komplexbildner wird Glycerin eingesetzt. Das gebildete Kupfer(I)oxid bleibt als hydratisiertes CuOH kolloidal in Lösung, es ist die empfindlichste Reduktionsprobe.

3.2.2.6. Probe nach Trommer**Geräte und Chemikalien:**

Reagenzgläser, Glucose, Natronlauge 1 mol/l, Kupfersulfat-Lösung (Fehling I)

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose wird in 5 ml Wasser gelöst. Unter Umschütteln wird Kupfersulfat-Lösung tropfenweise zugegeben, bis sich der Niederschlag trotz Umschütteln nicht mehr löst. Nun wird das Reagenzglas in schräger Lage in der Flamme derart erwärmt, dass nur die obere Schicht erwärmt wird.

Beobachtung:

Es beginnt von oben her die Ausscheidung von rotem Kupfer(I)oxid oder gelben Kupfer(I)hydroxid, das sich nach dem das Reagenzglas aus der Flamme genommen wurde fortsetzt.

Auswertung:

Diese Reaktion wurde von Trommer 1848 beschrieben. Es ist die älteste Reduktionsmethode. Hier wurde auf zusätzliche Komplexbildner verzichtet. Es wird die hier Komplexbildung der Glucose als mehrwertiger Alkohol ausgenutzt.

3.2.2.7. Probe nach Haines

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Wasserbad, Glucose, Haines Reagenz

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose wird im Reagenzglas in 5 ml Wasser gelöst. In einem Reagenzglas werden 2 ml Haines-Reagenz mit 10 Tropfen Glucose-Lösung versetzt und es wird einige Minuten im siedenden Wasserbad erhitzt.

Beobachtung:

Es tritt ein Farbumschlag von blau nach ziegelrot auf

Auswertung:

Die Reaktion nach Haines war zum Nachweis von Zucker im Harn in DAB 6 (1926) vorgeschrieben. Als Komplexbildner dient Glycerin, das alkalische Milieu wird durch Kalilauge geschaffen.

3.2.2.8. Probe nach Barfoed

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Wasserbad, Glucose, Fructose, Laktose, Maltose, Barfoed-Reagenz

Durchführung:

Je eine Spatelspitze Glucose, Fructose, Maltose und Laktose werden in 2 ml Wasser gelöst, mit 5 ml Barfoed- Reagenz versetzt und für 5 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt

Beobachtung:

Bei Glucose und Fructose ist nach wenigen Minuten eine Ausscheidung von Kupfer(I)oxid erkennbar, während bei den Disacchariden noch keine Veränderung zu erkennen ist.

Auswertung:

Barfoed-Reagenz ist eine schwach saure Kupferacetat-Lösung. Sie reduziert Monosaccharide, nach kurzer Zeit, dagegen werden Disaccharide erst nach längerer Zeit reduziert, da die Inversion erst ablaufen muss. Diese Methode gestattet eine Differenzierung im Monosaccharide und Disaccharide.

3.2.2.9. Probe nach Nylander

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Wasserbad, Tüpfelplatte, Reibschale, Glucose, Nylander-Reagenz, Bismutsubnitrat, Natriumhydroxid

Durchführung:

Eine Spatelspitze Glucose in 2 ml Wasser lösen, mit 2 ml Nylander-Reagenz versetzen und für einige Minuten in ein siedendes Wasserbad stellen

Beobachtung:

Die Lösung färbt sich schwarz

Auswertung:

Nylander- Reagenz enthält Natronlauge, Kaliumnatriumtartrat als Komplexbildner und Bismutsubnitrat. Das dreiwertige Bismut wird durch Glucose zu elementarem Bismut reduziert, welches als schwarzer Feststoff ausfällt. Auch diese Reaktion war zum Nachweis von Glucose im Harn viele Jahre gebräuchlich

Hinweis:

Diese Reaktion kann man auch auf einer Tüpfelplatte durchführen. Dazu verreibt man 9,9 g Natriumhydroxid zu einem feinen Pulver und verreibt dieses mit 0,1 g Bismutsubnitrat. Eine Spatelspitze dieser Mischung wird auf eine Tüpfelplatte gegeben und mit einigen Tropfen Probelösung versetzt. Nach kurzer Zeit färbt sich der Ansatz schwarz.

3.2.2.10. Reduktion von Pikrinsäure durch Glucose

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Pikrinsäure-RL, Natronlauge 1 mol/l, Glucose

Durchführung:

Eine kleine Spatelspitze Glucose wird in 2 ml Wasser gelöst, es werden je 20 Tropfen Pikrinsäure-RL und Natronlauge zugefügt und es wird erwärmt

Beobachtung:

Es erfolgt ein Farbumschlag von gelb nach rot

Auswertung:

Glucose reduziert Pikrinsäure zu Pikraminsäure, welche rotgefärbte Salze bildet. Diese Reaktion war die Grundlage der Blutzucker-Bestimmung nach Crecelius- Seifert.

3.2.2.11. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung nach Hagedorn Jensen

Die klassische Bestimmung der Blutzuckers nach Hagedorn-Jensen beruht darauf, das Glucose Kaliumhexacyanoferrat (III) in Gegenwart von Natriumcarbonat zu Kaliumhexacyanoferrat (II) reduziert wird. Dieses wird durch Zinksulfat ausgefällt und abfiltriert. Das nicht umgesetzte Kaliumhexacyanoferrat (III) reagiert mit Kaliumiodid unter Freisetzung von Iod, welches mit Natriumthiosulfat titriert wird

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Trichter Filter, Hagedorn-Jensen Reagenz, Zinksulfat-Lösung 0,1 mol/l, Eisen (III)chlorid-Lösung 0,1 mol/l, Glucose

Durchführung:

Zu 2 ml Hagedorn-Jensen-Reagenz eine Mikrospatelspitze festes Eisen(II)sulfat geben.

2 ml Hagedorn-Jensen-Reagenz mit einer Spatelspitze Glucose versetzen, aufkochen, abkühlen lassen und mit 10 Tropfen Zinksulfat-Lösung versetzen. Danach den Ansatz filtrieren, und das Filtrat mit einer Mikrospatelspitze Eisen(II)sulfat versetzen.

Beobachtung:

Hagedorn-Jensen-Reagenz gibt mit Eisen(II)sulfat eine dunkelblaue Färbung. Beim Erhitzen von Glucose mit dem Reagenz nimmt die Intensität der Gelbfärbung wesentlich ab, nach Zugabe der Zinksulfat-Lösung bildet sich ein Niederschlag. Die Blaufärbung des Filtrates nach Zugabe von Eisen(II)sulfat ist wesentlich geringer als der Ausgangslösung.

Auswertung:

Lösungen von Kaliumhexacyanoferrat (III) sind wesentlich intensiver gelb gefärbt als Lösungen von Kaliumhexacyanoferrat (II). Bereits beim Kochen bemerkt man die Abnahme der Gelbfärbung. Kaliumhexacyanoferrat (III) bildet mit Eisen(II)-Salzen Berliner Blau. Da Eisen(II)sulfat immer Spuren von Eisen(III)-Salzen enthält, sollte der Vergleich wie beschrieben durchgeführt werden.

3.2.2.12. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung nach Somogyi-Nelson

Die Reaktion von Kupfersalzen durch Glucose in alkalischer Lösung ist sehr unempfindlich, d. h. es müssen relativ hohe Glucose-Konzentrationen vorliegen, damit es zur Ausfällung von Kupfer(I)oxid kommt. Das ist bei Zuckerkonzentrationen im Prozentbereich möglich. Die Glucose-Konzentration im Blut liegt im Promillebereich. Die klassische Bestimmung nach Fehling oder Benedict ist zur Blutzuckerbestimmung daher nicht geeignet. Aber es ist möglich, die gebildeten Kupfer (I)-Ionen nachzuweisen. Zu diesem Zweck gibt man eine Arsenmolybdat-Lösung dazu, welche durch Kupfer(I)-Ionen zu Molybdänblau reduziert wird. So lassen sich geringe Glucose-Konzentrationen, wie sie im Blut vorkommen, exakt bestimmen. Eine Alternative zu Arsenmolybdat ist das Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu.

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Glucose, Benedict- Reagenz, Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu

Durchführung:

5 ml stark verdünnte Glucose-Lösung (Konzentration 0,1 – 0,2 %) werden mit einigen Tropfen Benedict- Reagenz versetzt und erhitzt. Nach dem Abkühlen werden einige Tropfen Phenolreagenz zugegeben.

Beobachtung:

Nach dem Zusatz von Phenolreagenz kommt es zu einer intensiven Blaufärbung

Auswertung:

Diese Methode ist von historischer Bedeutung. Heute ist es kaum noch möglich, im Labor mit Arsenverbindungen zu arbeiten, im der Schule ist es heute verboten.

3.2.2.13. Halbquantitative Bestimmung von Glucose mit Benedict-Reagenz

Diese Methode spielte früher zur Abschätzung der Ausscheidung von Glucose im Harn eine gewisse Rolle, um die Therapie des Diabetes mellitus überwachen zu können. Aber im Unterricht könnte sie eingesetzt werden, um die Zuckerkonzentration in Lebensmitteln abschätzen zu können. Das Prinzip dieses Orientierungstestes besteht darin, dass eine bestimmte Menge Glucose eine bestimmte Menge Kupfer reduziert. Es entstehen Mischfarben

aus der blauen Farbe der Reagenzlösung und dem orangeroten Kupfer(I)oxid. Wichtig ist, dass das Mischungsverhältnis Probe und Reagenz genau eingehalten wird. Es ist sehr empfehlenswert, zunächst selber eine Farbvergleichsreihe mit Glucose-Lösungen anzufertigen

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Messpipette, siedendes Wasserbad, Benedict-Reagenz, Glucose-Lösungen
Konzentration in g/l: 1,0 ; 5,0 ; 10,0: 15,0: 20,0:

Durchführung:

0,2 ml Wasser bzw. Glucose-Lösungen der angegebenen Konzentration werden im Reagenzglas mit 2,5 ml Benedict-Reagenz versetzt und für 5 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt.

Beobachtung:

Es entstehen unterschiedliche Färbungen

Glucose-Konzentration in g/l

0
1,0
5,0
10,0
15,0
20,0

Färbung im Reagenzglas

klare blaue Lösung, keine Veränderung
grüne Färbung der Lösung, kein Niederschlag
grüner Niederschlag
olivgrün gefärbter Niederschlag
orangefarbener Niederschlag
roter Niederschlag

Auswertung:

Zur Untersuchung von Lebensmitteln sind diese so zu verdünnen, dass die Konzentration zwischen 5 und 15 g/l liegt. Benedict Reagenz reagiert nur mit Glucose und Fructose, nicht mit Saccharose. Um den Gesamtzucker-Gehalt zu ermitteln, muss die Probe invertiert werden. Dazu werden 10 ml Probe mit 1 ml 10 %iger Salzsäure 5 min gekocht und anschließend mit Natriumcarbonat bis zur basischen Reaktion versetzt. (Kontrolle mit Indikatorpapier). Nach der Inversion sollte die Probe gleich untersucht werden

3.2.2.14. Glucose- Bestimmung mittels Halbmikrotitration

Es handelt sich hier um eine nachgebaute Methode. Es gab seinerzeit ein „Glycurator-Reagenz“, welches dazu diente, dass Diabetiker ihre Harnzucker-Ausscheidung selbst messen konnten. Es handelte sich um eine modifizierte Benedict-Lösung, die so eingestellt ist, dass 2,5 ml dieser Lösung 50 mg Glucose entsprechen. Wenn man die Glucose-Konzentration der Probe nicht kennt, kann man diese ermitteln aus dem Verbrauch der Probelösung bei der Titration. Das Reagenz zur quantitativen Zuckerbestimmung enthält Kaliumthiocyanat. Hier entsteht Kupfer(I) thiocyanat (CuSCN), welches als rein weißer Niederschlag ausfällt. Der Endpunkt ist hier besonders gut zu erkennen. Die Bestimmung erfordert Fingerspitzengefühl, sie muss erst einmal mit Glucose-Lösungen trainiert werden!

Das Erwärmen muss über einer Brennerflamme erfolgen, ein siedendes Wasserbad reicht nicht! Nach jeder Zugabe von Glucose-Lösung muss aufgekocht werden,

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Glucose-Lösungen der Konzentration: 10 %; 5 %; 2,5 : 1,0 ; 0,5%, Benedict Reagenz zur quantitativen Zuckerbestimmung „Glycurator-Reagenz“

Durchführung:

In Reagenzgläser werden pipettiert:

2,5 ml Benedict - Reagenz zur quantitativen Zuckerbestimmung oder
es empfiehlt sich dringend eine Glasperle als Siedesteinchen zur Vermeidung eines Siedeverzuges zuzugeben

- Lösung zum Sieden erhitzen
- aus einer Tuberculin-Spritze tropfenweise Glucose-Lösung zugeben
- Lösung erneut zum Sieden erhitzen
- aus einer Tuberculin-Spritze tropfenweise Glucose-Lösung zugeben
- nach jedem Glucose-Zusatz zum Sieden erhitzen
- bis zum Verschwinden der Blaufärbung bzw. Farbumschlag nach gelblich titrieren

Beobachtung:

Die blaue Lösung entfärbt sich, es entsteht ein weißer Niederschlag.

Auswertung:

Verbrauch an Probelösung in ml	Glucose- Konzentration in %
0,05	20
0,10	10
0,15	6,6
0,20	5,0
0,25	4,0
0,30	3,3
0,35	2,8
0,40	2,5
0,45	2,2
0,50	2,0
0,55	1,8
0,60	1,7
0,65	1,5
0,70	1,4
0,75	1,3
0,80	1,25
0,85	1,2
0,90	1,1
1,00	1,0
1,15	0,9
1,25	0,8
1,50	0,67
2,00	0,5
2,50	0,4

Werden weniger als 0,25 ml Probelösung verbraucht, werden 2 ml Probe mit Wasser zu 10 ml aufgefüllt. Es wird erneut gemessen und der ermittelte Wert mit 5 multipliziert.

Lebensmittelproben werden so verdünnt, das mindestens 0,4 ml Probelösung erforderlich sind. Wichtig ist, alle Lebensmittelproben zu invertieren, da nur Glucose und Fructose, nicht aber Saccharose erfasst werden.

Aufarbeitung von Tomatenketchup:

10 g Tomatenketchup werden in einen 100 ml Maßkolben eingewogen und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt. Von dieser Lösung werden 20 ml in einen weiteren 100 ml Maßkolben

pipettiert, mit 5 ml Carrez-Reagenz I versetzt und gut gemischt. Nach Zugabe von 50 ml Wasser und 5 ml Carrez II wird gut gemischt und mit Wasser aufgefüllt. Der Inhalt des Maßkolbens ist zu filtrieren.

Das Filtrat ist zu invertieren!

3.2.3. Kondensationsreaktionen

3.2.3.1. Fructose - Nachweis nach Selivanow

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Fructose, Glucose, Saccharose, Resorcin, Salzsäure 25 %

Durchführung:

Eine Spatelspitze Resorcin wird in 5 ml Salzsäure gelöst. Je eine Spatelspitze Saccharose, Fructose und Glucose werden in je 5 ml Wasser gelöst. Die Resorcin-Salzsäure gibt man zu den Zuckerlösungen und erhitzt.

Beobachtung:

Die Fructose – und Saccharose-Lösung färbt sich rot, die Glucose-Lösung bleibt unverändert.

Auswertung:

Ketosen bilden beim Erwärmen mit Salzsäure und Resorcin einen roten Farbstoff, während Aldosen nicht reagieren. Mit dieser Probe kann man Fructose im Urin nachweisen, da sie ein ähnliches Verhalten (Reduktionsvermögen) wie Glucose zeigt. Fructose ist im Harn nach übermäßigem Fructose-Genuss nachweisbar. Saccharose reagiert positiv, da Fructose während der Inversion freigesetzt wird.

3.2.3.2. Kohlenhydrat-Nachweis nach Molisch mit Naphthol und Thymol

Die Reaktion nach Molisch ist ein einfacher Suchtest auf Kohlenhydrate, der zwar sehr empfindlich aber nicht spezifisch ist.

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Glucose-Lösung, Molisch-Reagenz, Thymol-Lösung, konz. Schwefelsäure

Durchführung:

In einem Reagenzglas wird eine Glucose-Lösung mit einigen Tropfen Molisch-Reagenz versetzt. In einem weiteren Reagenzglas wird eine Glucose-Lösung mit einigen Tropfen Thymol-Lösung versetzt. Anschließend werden beide Proben vorsichtig mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet.

Beobachtung:

An der Berührungsfläche zwischen wässriger Phase und der Schwefelsäure bildet sich bei Molisch-Reagenz ein rotvioletter Ring, bei Thymol ein lachsroter Ring

Auswertung:

Wichtig ist, für das Unterschichten der Schwefelsäure eine Kapillarpipette mit feiner Öffnung zu verwenden.

3.2.3.3. Pentose-Nachweis nach Bial

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Ribose, Bial-Reagenz

Durchführung:

Eine Spatelspitze Ribose wird in Wasser gelöst, mit Bial-Reagenz versetzt und erhitzt.

Beobachtung:

Die Lösung färbt sich grün.

Auswertung:

Auch Phloroglucin wäre geeignet, hier entsteht eine violette Färbung

3.2.3.4. Reaktion nach Rothenfußer (Diphenylamin)**Geräte und Chemikalien:**

Reagenzgläser, Wasserbad, Glucose, Fructose, Saccharose, Rothenfußer-Reagenz

Durchführung:

Je eine Spatelspitze Glucose, Fructose und Saccharose werden in 5 ml Wasser gelöst, mit 3 ml Rothenfußer-Reagenz versetzt und für 5 min in ein siedendes Wasserbad gestellt.

Beobachtung:

Es entsteht eine starke Blaufärbung bei Saccharose und Fructose, während der Ansatz mit Glucose keine Veränderungen zeigt.

Auswertung:

Die Rothenfußer –Probe erlaubt die Differenzierung zwischen Ketosen und Aldosen.

3.2.3.5. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung mit Anthron**Geräte und Chemikalien:**

Reagenzgläser Wasserbad, Glucose, Anthron, konzentrierte Schwefelsäure

Durchführung:

Eine Mikrospatelspitze Anthron in 2 ml konzentrierter Schwefelsäure lösen, leicht erwärmen.

Eine Mikrospatelspitze Glucose in wenigen Tropfen Wasser lösen, mit der Anthron-Schwefelsäure mischen und für 10 min in ein siedendes Wasserbad stellen.

Beobachtung:

Der Ansatz färbt sich blau

Auswertung:

Diese Methode hat heute nur noch historische Bedeutung. Sie ist auch in der Handhabung nicht ganz ungefährlich. Sie wird durch größere Mengen Wasser gestört.

3.2.3.5. Modellexperiment zur Blutzuckerbestimmung nach Hultmann**Geräte und Chemikalien:**

Reagenzgläser, Glucose, farbloses o-Toluidin, Eisessig

Durchführung:

Eine Mikrospatelspitze Glucose wird in wenigen Tropfen Wasser gelöst. Zu 3 ml Eisessig werden 5 Tropfen farbloses o-Toluidin gegeben, mit der Glucose-Lösung gemischt und für 10 min in ein siedendes Wasserbad gestellt

Beobachtung:

Der Ansatz färbt sich grün.

Auswertung:

Auch diese Methode besitzt heute nur noch einen historischen Wert, da auch o-Toluidin toxikologisch bedenklich ist.

4. Disaccharide

4.1. Allgemeine Grundlagen

Disaccharide entstehen aus zwei Monosaccharid-Bausteinen unter Wasserabspaltung. Die Verknüpfung erfolgt in der Ringform über zwei OH – Gruppen. Man unterscheidet den Maltose- und den Trehalose-Typ, je nach dem an welchem Kohlenstoffatom im Ring die Verknüpfung erfolgte. Der Bindungstyp heißt Glycosid-Bindung.

Maltose-Typ

Hierbei erfolgt die Verknüpfung am ersten und am vierten Kohlenstoffatom.

Trehalose-Typ

Hierbei sind die Hydroxylgruppen jeweils am ersten Kohlenstoffatom glycosidisch verknüpft.

4.2. Verhalten von Disacchariden gegenüber Reduktionsproben

4.3. Experimente

4.3.1. Reaktion von Lactose und Saccharose mit Benedict- Reagenz

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Saccharose, Lactose, Benedict-Reagenz

Durchführung:

Je eine Spatelspitze Saccharose und Lactose werden in je 3 ml Wasser gelöst, mit der gleichen Menge Benedict-Reagenz versetzt und zum Sieden erhitzt.

Beobachtung:

Beim Erhitzen von Lactose mit Benedict-Reagenz bildet sich ein orangefarbener Niederschlag, während die Saccharose-Probe unverändert bleibt.

Auswertung:

Lactose ist ein Disaccharid vom Maltose-Typ, Saccharose vom Trehalose-Typ. Beim Maltose-Typ sind das erste und das vierte Kohlenstoffatom durch glycosidische Bindung miteinander verknüpft, beim Trehalose-Typ die ersten beiden Kohlenstoffatome, Die reduzierenden Gruppen(Glycosid-Gruppen) befinden sich am ersten Kohlenstoffatom. Lactose zeigt Reduktionswirkung , weil eine freie Glycosid-Gruppe vorhanden ist. Bei der Saccharose ist keine Reduktionswirkung erkennbar, weil beide glycosidische Gruppen blockiert sind.

4.3.2. Inversion von Saccharose mit Säuren

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Glasstab, Saccharose, Salzsäure 1 mol/l, Natronlauge 1 mol/l, Universalindikator-Papier, Benedict-Reagenz

Durchführung:

Einen Spatel Saccharose in 3 ml Salzsäure lösen und 3 min kochen. Danach lässt man abkühlen und versetzt mit Natronlauge bis zur alkalischen Reaktion (Kontrolle mit

Indikatorpapier). Von dieser Lösung werden 2 ml mit der gleichen Menge Benedict-Reagenz versetzt und erwärmt bis zum Sieden

Beobachtung:

Es tritt eine Farbveränderung auf, es bildet sich ein orangefarbener Niederschlag.

Auswertung:

Die Rückreaktion der Disaccharid-Bildung nennt man Inversion. Hier wird ein Disaccharid unter Wassereinlagerung mittels Salzsäure als Katalysators in seine Bausteine zerlegt. Die Inversion von Disacchariden hat auch technische Bedeutung, beispielsweise ist Kunstthong ein Invertzucker

4.3.3. Inversion von Saccharose mit Saccharidase (Bäckerhefe)

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Saccharose-Lösung 2 %, Benedict- Reagenz, Bäckerhefe

Durchführung:

Eine erbsengroße Menge Bäckerhefe wird in 10 ml Leitungswasser suspendiert und danach auf 3 Reagenzgläser aufgeteilt. (Hefeextrakt)

RG 1: Hefeextrakt und 2 ml Wasser

RG 2: Hefeextrakt und 2 ml Saccharose-Lösung

RG 3: Hefeextrakt aufkochen und 2 ml Saccharose-Lösung

Die Reagenzgläser für 3 min in die Hand nehmen oder für 5 min in ein Wasserbad von 40 °C stellen, danach mit der gleichen Menge Benedict-Reagenz versetzen und zum Sieden erhitzen

Beobachtung:

Reagenzglas 1 und 3 unverändert, während sich im Reagenzglas 2 ein orangeroter Niederschlag gebildet hat.

Auswertung:

Die Inversion der Saccharose kann nicht nur durch Erhitzen mit Säuren, sondern auch mit Hilfe von Enzymen erfolgen. Das Enzym, welches Saccharose in seine Monosaccharide zerlegt, heißt Saccharidase. Enzyme wirken selbst nicht reduzierend, deshalb fiel die Benedict-Probe im ersten Reagenzglas negativ aus. Auch durch Erhitzen werden Enzyme zerstört, deshalb ist die Benedict-Probe im 3. Reagenzglas negativ.

4.3.4. Lactose-Nachweis mittels Probe nach Wöhlk

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Laktose, Ammoniak-Lösung 25 %, Kalilauge 20 %

Durchführung:

Eine Spatelspitze Laktose wird in 5 ml Wasser gelöst, mit 2-3 ml Ammoniak-Lösung und 5 Tropfen Kalilauge versetzt und zum Sieden erhitzt.

Beobachtung:

Es erfolgt Farbumschlag nach lachsrot.

Auswertung:

Laktose bildet mit Ammoniak und Kalilauge beim Erwärmen einen roten Farbstoff. Die Wöhlk-Probe lässt sich zum Laktose-Nachweis im Harn anwenden. Bei Schwangeren und Wöchnerinnen wird im Harn Laktose ausgeschieden, verstärkt bei Milchstau. Deshalb besitzt diese Nachweisreaktion diagnostische Bedeutung.

4.3.5 Identitätsprüfung von Saccharose nach DAC 3

Verbindungen mit mehreren Hydroxylgruppen, wozu auch die Saccharose gehört, reagieren mit Kupferionen in alkalischer Lösung unter Komplexbildung. Es entstehen dunkelblaue, klare Lösungen. Wird die Probelösung mit Salzsäure erhitzt, findet einerseits ein Farbumschlag nach hellblau statt (Komplex wird zerstört), andererseits auch eine Spaltung der Saccharose in Glucose und Fructose. Nach Zugabe eines Überschusses an Natronlauge erfolgt die Reduktion des Kupfersalzes zu Kupfer(I)oxid, welches als ziegelroter Niederschlag ausfällt.

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Kupfersulfat-Lösung R, Verdünnte Natriumhydroxid-Lösung R, Verdünnte Salzsäure R 1

Durchführung:

Die Lösung von 25 mg Substanz in 5 ml Wasser wird mit 0,15 ml Kupfersulfat – Lösung R und 2 ml verdünnter Natriumhydroxid – Lösung R versetzt und zum Sieden erhitzt. Die Lösung ist klar und blau. Die noch heiße Lösung wird nach Zusatz von 4 ml verdünnter Salzsäure R 1 min zum Sieden erhitzt. Nach Zugabe von 4 ml verdünnter Natriumhydroxid – Lösung R bildet sich sofort ein orangefarbener Niederschlag.

Beobachtung:

Nach Zugabe von Kupfersulfat und Natronlauge klare, dunkelblaue Lösung, nach Zugabe der Salzsäure Farbumschlag nach hellblau, nach Erhitzen und nochmaligen Zusatz der Natronlauge orangefarbener Niederschlag

Auswertung:

Durchführung Originaltext des DAC 3, wichtig ist, dass die Konzentration der Lösungen einhalten werden, sonst klappt es nicht!

5. Polysaccharide

5.1. Allgemeine Grundlagen

Nach dem Prinzip der glycosidischen Bindung treten nicht nur zwei, sondern auch mehrere Monosaccharid-Bausteine zusammen. So entstehen Makromoleküle mit molaren Massen von mehreren Millionen.

Man unterscheidet:

Homoglucane



nur ein Monosaccharid-Baustein
(meist Aminozucker und Uronsäuren)

Heteroglucane



mehrere Saccharid-Bausteine

Die wichtigsten Homoglucane , die sich von der Glucose ableiten:

Polysaccharide	Struktur	Eigenschaft
Stärke	α Glucose	pflanzliches Reservekohlenhydrat
Zellulose	β Glucose	Gerüstsubstanz
Glycogen	α -Glucose (verzweigt)	tierisches Reservekohlenhydrat

Die Eigenschaften (Süßigkeit, Reduktionswirkung, Wasserlöslichkeit u.a.) ändern sich mit steigender Kettenlänge. Polysaccharide haben als Gerüstsubstanz (Zellulose) und als Reservekohlenhydrat außerordentliche Bedeutung. Sie lassen sich chemisch und enzymatisch zum Oligo- bzw. Monosaccharid abbauen.

5.2. Chemisches Verhalten**5.3. Experimente****5.3. 1. Nachweis von Stärke**

Heute werden in Nahrungsmitteln auch chemisch modifizierte Stärkeprodukte verwendet. Sie ergeben beim Iod-Test nicht die typisch blaue Einschlussverbindung, auch violette Färbungen sind möglich, insbesondere bei Fertiggerichten

Geräte und Chemikalien:

Uhrglasschalen, Reagenzgläser, Stärke, Iod-Kaliumiodid-Lösung nach Lugol, auf Stärke zu prüfende Nahrungsmittel

Durchführung:

Auf die zu prüfenden Nahrungsmittel wird Iod-Kaliumiodid-Lösung getropft.

Beobachtung:

Es entsteht die Blauschwarze Färbung

Auswertung:

Stärke bildet mit Iod eine blauschwarze Einschlussverbindung, welche nur bei Raumtemperatur beständig ist. Diese entsteht, indem Iod-Moleküle in die kanalartigen Hohlräume der spiraligen Amylose-Kette eingelagert werden. Die Intensität der Färbung ist natürlich auch von der Länge der Amylose-Ketten abhängig. Modifizierte Stärken, wie sie auch in der Lebensmittelindustrie verwendet werden und eine bessere Löslichkeit in Wasser haben, ergeben mit Iod-Lösung veränderte Farbtöne von violett bis braun.

5.3.2. Nachweis von Cellulose

Der Nachweis von Zellulose erfolgt mit Zinkchlorid-Iod- Lösung. Zinkchlorid in konzentrierter Lösung wirkt aufquellend auf die Struktur der Cellulose und ermöglicht so das Eindringen der Iod-Lösung. So kann der blaue Farbkomplex (Einschlussverbindung) gebildet werden.

Geräte und Chemikalien:

Uhrglasschalen, Watte, Zellstoff, Zinkchlorid-Iod-Lösung (Chlorzink-Iod-Lösung)

Durchführung:

Auf die zu prüfenden Materialien wird Zinkchlorid-Iod-Lösung getropft.

Beobachtung:

Es bilden sich blauschwarze Färbungen aus.

Auswertung:

Die 1,4 glycosidische Bindung der Cellulose bewirkt, dass die Cellulose in langen, linearen Ketten vorliegt. Sie ist mit einer fibrillären Struktur (Fasern, Bündel) verbunden. Diese reagieren nicht mit einer Iod-Lösung. Durch Zusatz von Zinkchlorid wird eine Aufquellung der mikrokristallinen Cellulose-Struktur erreicht. Dadurch können Iod-Moleküle eindringen und es entstehen die blauschwarzen Einschlussverbindungen.

5.3.3. Säurehydrolyse der Stärke

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Glasstab, Stärke-Lösung 1 %, Salzsäure 1 mol/l, Natronlauge 1 mol/l, Universalindikator-Papier, Benedict-Reagenz

Durchführung:

1 ml Stärke-Lösung werden mit der gleichen Menge Benedict – Reagenz zum Sieden erhitzt. 1 ml Stärke-Lösung wird mit der gleichen Menge Salzsäure 3 min gekocht. Danach lässt man abkühlen, neutralisiert mit Natronlauge (Kontrolle Indikatorpapier) versetzt 2 ml dieser neutralisierten Lösung werden mit der gleichen Menge Benedict-Reagenz versetzt und zum Sieden erhitzt.

Beobachtung:

Die unbehandelte Stärke-Lösung veränderte sich nicht. Die mit Salzsäure aufgekochte und neutralisierte Stärke-Lösung bildete mit Benedict-Reagenz einen roten Niederschlag.

Auswertung:

Stärke ist ein Polysaccharid, welches nicht reduzierend wirkt. Durch drastische Maßnahmen (Erhitzen mit Säuren) ist es möglich, die Polysaccharide in ihre Bausteine zu zerlegen, die durch die Benedict-Probe erfassbar sind.

5.3.4. Enzymatischer Stärkeabbau (Kohlenhydrat-Verdauung)

Geräte und Chemikalien:

Reagenzgläser, Brot, Stärke-Lösung, Benedict-Reagenz, Iod-Kaliumiodid-Lösung nach Lugol

Durchführung:

Eine Stärke-Lösung wird mit einem Tropfen Iod- Kaliumiodid-Lösung angefärbt. Nunn gibt man etwas Speichel dazu.

Auf ein kleines Stück Brot wird mit Iod-Kaliumiodid-Lösung getropft.

Ein kleines Stück Brot wird solange gekaut, bis ein süßer Geschmack auftritt.

Das gekaute Brot wird in zwei Teile geteilt. Eine Probe wird im Reagenzglas mit Benedict-Reagenz erhitzt, auf die zweite Probe wird Iod-Kaliumiodid-Lösung getropft

Beobachtung:

Die mit Speichel versetzte Stärke-Lösung entfärbt sich.

Im nicht gekauten Brot lässt sich Stärke nachweisen- Im gekauten Brot ist die Benedict-Probe positiv, die Iod-Probe negativ.

Auswertung:

Stärke ist ein Reservekohlenhydrat, aus dem der Organismus Glucose gewinnt. Dies geschieht durch enzymatische Spaltung (α - Amylase) Dieses Enzym befindet sich im Speichel und im Pancreassaft. Deshalb ist es wichtig, die Nahrung gut zu kauen, umso besser wird die Stärke

gespalten. („gut gekaut ist halb verdaut“). Bei verschiedenen Krankheiten z. B. Pancreatitis ist dieses Enzym in höheren Aktivitäten im Blut vorhanden und wird mit dem Harn ausgeschieden. Deshalb werden im klinischen Labor Amylase-Bestimmungen durchgeführt. Eine Fehlerquelle dabei ist es, Speichel in die Proben gelangen zu lassen. Deshalb die Stärke-Lösung nicht mit dem Mund pipettieren.

5.3.5. Wirkungsweise der Amylase (Amylase-Bestimmung nach Wohlgemuth)

Die Bestimmung der Aktivität der Amylase, früher Diastase genannt, diente früher zum Ausschluss einer akuten Pankreatitis (Entzündung der Bauchspeicheldrüse). Viele Erkrankungen der Verdauungsorgane gehen mit starken Bauchschmerzen einher. Bei einer Pankreatitis sind erhöhte Aktivitäten der Amylase im Serum und Urin nachweisbar. Deshalb brauchte man im Notfall-Labor eine Methode um dieses schwere Krankheitsbild erkennen zu können. Das Prinzip der Methode beruht darauf, dass eine Verdünnungsreihe von Harn – oder Serum angefertigt wird und mit einer bestimmten Menge Stärke versetzt wird. Nach einer festgelegten Inkubationszeit wird die Reaktion abgebrochen, indem die Gläser abgekühlt werden. Durch Zugabe von Iod wird geprüft, bis zu welcher Verdünnung die Stärke abgebaut wurde. Als Amylase-Quelle wird ein Pankreas-Präparat verwendet. Dieses Experiment veranschaulicht eindrucksvoll die Bestimmung der Enzymaktivität.

Geräte und Chemikalien:

Wasserbad (800 ml Becherglas hohe Form, welche in einer 1000 ml Styropor-Box steht) Thermometer, 10 Reagenzgläser, Pipetten, Becherglas mit Eiswasser, Maßkolben 100 ml Stärke-Lösung 1 % in gesättigter Natriumchlorid-Lösung, Pankreas- Präparat, gepufferte Natriumchlorid-Lösung, Natriumchlorid-Lösung 90 g/l, Iod-Kaliumiodid-Lösung nach Lugol

Durchführung:

Von dem Pankreas Präparat Verdünnungen herstellen

Herstellung der Enzym-Lösung:

Eine Kapsel Pankreas-Präparat in eine Reibschale geben und zunächst fein zerreiben. Danach 10 ml Wasser in die Reibschale geben, weiter verreiben und die Suspension in einen 100 ml Maßkolben überführen, der 10 ml Natriumchlorid-Lösung 90 g/l enthält. Danach den Kolben mit Wasser zu 100 ml auffüllen. Die Lösung ist trübe.

Herstellung der Stärke-Lösung:

10 ml Stärke-Lösung 1 % werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Herstellung der Verdünnungslösung:

25 ml gepufferte Natriumchlorid-Lösung werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Herstellung der Verdünnungsreihe:

Zehn Reagenzgläser mit 1-10 beschriftet und in einem Reagenzglasständer anordnen

In das erste Reagenzglas wird 1 ml Enzym-Lösung,
in die Gläser 2 – 9 werden je 1 ml Verdünnungslösung gegeben.

Von Reagenzglas 1 wird 0,5 ml entnommen, in Reagenzglas 2 gegeben, gut gemischt, und davon 0,5 ml in Reagenzglas 3. Dies wird bis Reagenzglas 10 wiederholt, aus Reagenzglas 10 werden 0,5 ml entnommen und verworfen.

Weiteres Vorgehen:

In alle Reagenzgläser 1 ml Stärke-Lösung geben und für 30 min in ein Wasserbad (Temperatur 40 – 45 °C) stellen, danach in ein Becherglas mit eiskaltem Wasser. In jedes Glas von 10 an beginnend 1 Tropfen Iod-Kaliumiodid-Lösung geben und gut mischen

Beobachtung:

Der Inhalt der letzten Reagenzgläser ist schwach gelb, der ersten blauschwarz, man sieht gut den kontinuierlichen Farbübergang

Auswertung:

Blaufärbung zeigt unveränderte Stärke an, rot- blau bis rotbraune Farbe = Erythrodextrin

Herstellungsvorschrift für die Reagenzien

Ammoniak-Lösung 10 %:

100 ml 25 %ige Ammoniak-Lösung werden mit Wasser zu 250 ml aufgefüllt.

Barfoed-Reagenz:

6,7 g Kupferacetat und 1 ml Eisessig werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Benedict Reagenz zum qualitativen Zuckernachweis:

17,3 g Kupfersulfat - 5 Hydrat werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt. 173 g Natriumcitrat 3 Hydrat und 200 g Natriumcarbonat - 10 Hydrat werden in 800 ml Wasser gelöst, mit der die Kupfersulfat-Lösung gemischt und mit Wasser auf 1000 ml aufgefüllt.

Benedict Reagenz zur quantitativen Zuckerbestimmung „Glycurator-Reagenz“:

18,0 g Kupfersulfat - 5 Hydrat werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt. 200 g Natriumcitrat - 3 Hydrat, 200 g Natriumcarbonat - 10 Hydrat und 125 g Kalium – thiocyanat werden jeweils getrennt in je 250 ml Wasser gelöst. Diese drei Lösungen sind zu mischen, mit 5 ml Kaliumhexacyanoferrat (II)-Lösung (5 g in 100 ml Wasser gelöst) zu versetzen, mit der Kupfersulfat-Lösung zu mischen und mit Wasser zu 1000 ml auffüllen.

Bial-Reagenz:

100 mg Orcin (5-Methylresorcin) werden in 50 ml 30 % iger Salzsäure gelöst und mit 25 Tropfen Eisen(III)chlorid-Lösung (1g $\text{FeCl}_3 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ in 100 ml Wasser gemischt)

Bismutsubnitrat- Natriumhydroxid-Verreibung:

9,9 g Natriumhydroxid werden in einer Reibschale zu einem feinen Pulver verrieben und anschließend wird 0,1 g Bismutsubnitrat (basisches Bismutnitrat BiONO_3) zugegeben und gründlich mit dem Natriumhydroxid gemischt. Diese Mischung ist äußerst hygroskopisch und daher in sehr gut verschlossenen Gefäßen aufzubewahren.

Carrez - Reagenz I:

15 g Kaliumhexacyanoferrat (II) 3 Hydrat in Wasser lösen und zu 100 ml auffüllen

Carrez - Reagenz II:

30 g Zinksulfat 7 Hydrat in Wasser lösen und zu 100 ml auffüllen

Dinatriumpentacyanonitrosylferrat RM nach AB 2 DDR DL:

0,25 g Nitroprussidnatrium (Dinatriumpentacyanonitrosylferrat), 50 g wasserfreies Natriumcarbonat und 50 g Ammoniumsulfat werden sorgfältig in einer Reibschale miteinander verrieben und in einer dichtschießenden Braunglasflasche vor Feuchtigkeit geschützt aufbewahrt.

Essigsäure 2 mol/l:

12 ml Eisessig werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Fehling I:

7 g Kupfersulfat 5 Hydrat werden in Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt.

Fehling II

10 g Natriumhydroxid und 35 g Kaliumnatriumtartrat werden in destilliertem Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt

Glucose-Lösungen für die Halbmikrotitration („Glycurator-Verfahren“):

Glucose - Stammlösung 10 %:

10 g wasserfreie Glucose werden in Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt

Glucoselösung 5 %

5 ml Stammlösung und 5 ml Wasser mischen

Glucoselösung 2,5 %

2,5 ml Stammlösung und 7,5 ml Wasser mischen

Glucoselösung 1 %

1 ml Stammlösung und 9 ml Wasser mischen

Glucoselösung 0,5 %

0,5 ml Stammlösung und 9,5 ml Wasser mischen

Hagedorn-Jensen Reagenz:

165 mg Kaliumhexacyanoferrat (III) und 1,06 g Wasserfreies Natriumcarbonat werden in Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt.

Haine-Reagenz:

2 g Kupfersulfat – 5 Hydrat werden in 90 ml Wasser gelöst. Es werden 15 ml Glycerin zugegeben und es wird gut durchgemischt. Danach werden 75 ml 2 mol/l Kalilauge zugegeben. Die Reihenfolge muss eingehalten werden, erst Glycerin, dann Kalilauge zugeben, sonst erfolgt Niederschlagsbildung. Wenn das Glycerin reduzierende Verunreinigungen enthält, kommt es kurze Zeit nach der Herstellung der Lösung zu einem Farbumschlag nach grün bis orange sowie zu einer Trübung. Diese lässt sich durch Zentrifugieren oder Filtration abtrennen. Da Papierfilter nicht beständig sind gegenüber Lauge, verwendet man Glaswolle, welche man in das Ablaufrohr des Trichters stopft. Es empfiehlt sich, diese Lösung einen Tag vor der Verwendung herzustellen. Die Aufbewahrung dieser Lösung erfolgt in einer Flasche aus Kunststoff.

Iod-Kaliumiodid-Lösung nach Lugol

1 g Iod und 2 g Kaliumiodid werden trocken gemischt, durch tropfenweises Zugeben von destilliertem Wasser in Lösung gebracht, danach ist auf ein Volumen 300 ml (Messzylinder) mit Wasser aufzufüllen

Kalilauge 20 %:

20 g Kaliumhydroxid werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt-

Kalilauge 1 mol/l:

5,6 g Kaliumhydroxid werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt-

Kupfersulfat-Lösung 1 %

1 g Kupfersulfat 5 Hydrat wird in Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt.

Kupfersulfat – Zitronensäure-Verreibung:

Ein Masseteil Kupfersulfat 5 Hydrat wird mit 2 - 3 Masseteilen Zitronen - oder Weinsäure sorgfältig miteinander in einer Reibschale verrieben.

Methylenblau-Lösung nach Löffler:

10 g Methylenblau werden mit 100 ml Ethanol (Brennspiritus) unter häufigen Umschütteln in einer Braunglasflasche stehen gelassen, diese Stammlösung ist unbegrenzt haltbar.
30 ml frisch filtrierte Methylenblau- Stammlösung werden mit 1 ml 1 %iger Kalilauge und 99 ml Wasser vermischt.

Molisch-Reagenz:

3 g 1-Naphthol werden in 100 ml Ethanol gelöst. Wichtig ist hierbei, dass nur ein hellgefärbtes Präparat geeignet ist. Durch längere Lagerung färbt sich die Substanz dunkel und ist für den Molisch-Test nicht mehr einsetzbar.

Natriumchlorid-Lösung 90 g/l:

9 g Natriumchlorid wird in destilliertem Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt.
Zur Herstellung von physiologischer Kochsalz-Lösung werden 10 ml mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Natriumchlorid-Lösung gepuffert zur Bestimmung der diastatischen Kraft nach Wohlgemuth:

10 g Natriumchlorid, 8,9 g Dinatriumhydrogenphosphat – 2 Hydrat und 2,3 g Kaliumdihydrogenphosphat werden in Wasser gelöst und zu 250 ml aufgefüllt. Von dieser Stammlösung werden bei Bedarf 25 ml mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

1 mol/l Natronlauge (Reagenz):

10 ml 33 %ige Natronlauge mit Wasser auf 100 ml auffüllen.

Nylander-Reagenz:

4 g Kaliumnatriumtartrat und 10 g Natriumhydroxid werden in 90 ml destillierten Wasser gelöst. Nach Zugabe von 2 g Bismutsubnitrat (basisches Bismutnitrat BiONO_3) wird dieses unter Schütteln gelöst und danach wird mit destilliertem Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Falls die Lösung trübe ist, durch Glaswolle filtrieren. Die Aufbewahrung erfolgt in einer Flasche aus Kunststoff.

Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu::

Dieses Reagenz sollte fertig bezogen werden, da eine Selbsterstellung in der Schulpraxis nicht in Betracht kommt. Das Reagenz wird hergestellt, indem Natriumwolframat und Natriummolybdat 10 Stunden unter Rückfluss gekocht werden müssen,

Phenylhydrazin- Natriumacetat-Gemisch:

5 g Phenylhydrazin-Hydrochlorid und 5 g wasserfreies Natriumacetat werden sorgfältig miteinander in einer Reibschale verrieben.

Pikrinsäure –RL:

2,0 g Pikrinsäure werden mit 100 ml siedenden Wasser gelöst. Man lässt die Lösung dann einen Tag bei Raumtemperatur stehen und filtriert bei Bedarf die notwendige Menge der überstehenden Lösung.

Rothenfußer-Reagenz:

20 ml einer Lösung von Diphenylamin in Ethanol (10 g/100 ml) werden mit 80 ml Eisessig und 100 ml konzentrierter Salzsäure gemischt.

1 mol/l Salzsäure (Reagenz):

8,2 ml 37 %ige Salzsäure mit Wasser zu 100 ml auffüllen.

Schiff's-Reagenz:

1 g basisches Fuchsin (Diamantfuchsin) wird in 100 ml Ethanol gelöst und filtriert. 10 ml Filtrat mit 90 ml Wasser in einem 200 ml Erlenmeyerkolben mischen, 2g Natriumsulfit oder -disulfit und 10 Tropfen konzentrierter Salz- oder Schwefelsäure zugeben und den Kolben mit einem Glasstopfen verschließen. Idealerweise müsste eine farblose Lösung entstehen, in der Praxis erhält man jedoch eine mehr oder weniger intensiv braun gefärbte Lösung. Die Braunfärbung wird durch Acridin-Verunreinigungen, welche im Farbstoff enthalten sind, hervorgerufen. Aus diesem Grunde wird die Lösung nach dem die rotviolette Färbung verschwunden ist, und die Lösung mehr oder weniger intensiv braun gefärbt ist, mit einem Spatel-Löffel gepulverter Aktivkohle versetzt, kräftig durchgeschüttelt und anschließend filtriert. Schiff's-Reagenz sollte in farblosen Enghalsflaschen mit dicht schließendem Schraubverschluss aufbewahrt werden. Die Flaschen werden zum Lichtschutz in Aluminium-Folie eingehüllt. Die Lösung ist in kleine Flasche, die möglichst vollständig gefüllt sind, aufzubewahren. Schiff's-Reagenz ist gegenüber Sauerstoff empfindlich, Deshalb sollten die Flaschen so wenig wie möglich geöffnet werden. Tritt eine violette Färbung ein, ist eine Regeneration mit Sulfit und Säure möglich. Es empfiehlt sich heute, die Lösung fertig zu kaufen, da die Substanz heute als cancerogen eingestuft ist.

Silbernitrat-Lösung 1 %:

1g Silbernitrat wird in destilliertem Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt. Die Lösung ist lichtempfindlich und daher in einer Flasche aus Braunglas aufzubewahren.

Stärke-Lösung 1 % in gesättigter Natriumchlorid-Lösung:

1 g lösliche Stärke wird in 20 ml gesättigter Natriumchlorid-Lösung ohne Klumpen eingerührt, wie Puddingpulver. 70 ml gesättigte Natriumchlorid-Lösung werden zum Sieden erhitzt und in die siedende Lösung wird die Stärke-Aufschlammung portionsweise unter Rühren eingetragen. Man lässt kurz aufkochen, kühlt ab und füllt mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung auf 100 ml auf. Diese Lösung ist bei Raumtemperatur haltbar.

Thymol-Lösung:

5 g Thymol werden in Ethanol (Brennspiritus) gelöst und mit Ethanol zu 100 ml aufgefüllt. Diese Lösung hat gegenüber der Naphthol-Lösung nach Molisch den Vorteil, unbegrenzt haltbar zu sein. Allerdings erfolgt der Farbumschlag nicht nach rotviolett sondern nach lachsrot.

Zinkchlorid-Iod-Lösung = Chlorzinkiod-Lösung

6,5 g Kaliumiodid und 0,5 g Iod miteinander mischen. 10,5 ml destilliertes Wasser abmessen, davon tropfenweise zugeben auf das feste Iod-Kaliumiodid-Gemisch geben bis eine Lösung eingetreten ist. 20 g wasserfreies Zinkchlorid werden im restlichen Wasser gelöst, und danach werden beide Lösungen vereinigt. Diese Lösung wird am besten in einer Braunglasflasche mit dicht schließendem Schraubverschluss aufbewahrt.

Zinksulfat-Lösung 0,1 mol/l:

27,8 g Zinksulfat-7Hydrat werden in Wasser gelöst und zu 1000 ml aufgefüllt.

Literaturverzeichnis

Aebi, H.

Einführung in die praktische Biochemie
1965, Basel, New York, S. Karger Verlag

Ahrens, G.

Die Urinanalyse
1966, Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag

Arbeitsvorschriften für das Pulfrich-Photometer

Sammlung I Photometrische Bestimmungen in klinischen und physiologischen Laboratorien
1956, Jena, in Kommission beim VEB Gustav Fischer Verlag

Autorenkollektiv

Versuche mit Lebensmitteln im Unterricht
1969, Leipzig, VEB Fachbuch Verlag

Buschendorf, J.

Zum Glucose-Nachweis im Biologieunterricht unter besonderer Berücksichtigung der
Glycurator-Methode
In Biologie in der Schule 23 (1974) Hweft 1 Seite 18 - 20

Draeger, M., Konrad, J.

Praktikum für Med. -Techn. Assistentinnen
1961, Berlin (Ost) VEB Verlag Volk und Gesundheit

Goetze, E.

Einrichtung und Methoden des klinischen Laboratoriums
1963, Jena, VEB Gustav Fischer Verlag

Grabener, E.

Praxislaboratorium
1966, Stuttgart, Georg Thieme Verlag

Hallmann, L.

Klinische Chemie und Mikroskopie
1950, Leipzig, Georg Thieme Verlag

Hertfeld, E.

Eine einfache Apparatur zur quantitativen Bestimmung des Zuckers im Urin
In Deutsche medizinische Wochenschrift Jg 58 (1932), S.40

Just, M., Hradetzky, A.

Chemische Schulexperimente Band 4 Organische Chemie
1977, Berlin (Ost), Volk und Wissen Volkseigener Verlag

.

Merck

Medizinisch-chemische Untersuchungsmethoden
1944, Berlin, Verlag Chemie GmbH

Proske, W.

Reagenzglasversuche zur Organischen Chemie und Biochemie
Jahresarbeit Fernstudium Medizinisch-technische Laborassistenz
1980, Halle (Saale) Medizinische Fachschule der Martin Luther Universität
Rapoport, S.M., Raderecht, H-J.
Physiologisch-chemisches Praktikum
1989, Berlin (Ost) VEB Verlag Volk und Gesundheit

Rauscher, K., Engst, R., Freimuth, U.
Untersuchung von Lebensmitteln
1986, Leipzig, VEB Fachbuchverlag

Richerich, R.
Klinische Chemie Theorie und Praxis
1965, Frankfurt / Main, Akademische Verlagsgesellschaft

Skripte 1-1 TU Freiberg
Kohlenhydratchemie
Google Zellulose-Nachweis mit Zinkchlorid-Iod-Lösung

Spaeth, E., Kaiser, H.
Chemische und mikroskopische Untersuchung des Harns
1936, Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag

Spaeth, E., .
Die chemische und mikroskopische Untersuchung des Harns
1924, Leipzig, Johann Ambrosius Barth Verlag

Teichmann, W.
Untersuchung von Harn und Konkrementen
1980, Berlin (Ost) VEB Verlag Volk und Gesundheit

Thiele, H-J.
Klinische Chemie Praktikum
1984, Berlin (Ost) VEB Verlag Volk und Gesundheit