

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

frank.walter@szga.de

**So geht es auch,
erprobte Alternativen zur Substitution ausgewählter
Gefahrstoffe im Biologieunterricht**

Supplement V 11. Januar 2017

Applikationen für den Biologieunterricht

Einleitung

Einsatz von Gefahrstoffen im experimentellen Biologieunterricht

Konkrete Probleme und Lösungswege

Nachweisreaktionen von Kohlenhydraten, Proteinen und Kohlendioxid

Experimente zum Thema Enzyme

Färben mikroskopischer Präparate

Chromatographie

Ökologie

Experimentieranleitungen

Nachweisreaktionen von Kohlenhydraten, Proteinen und Kohlendioxid

Experimente zum Thema Enzyme

Herstellungsvorschriften für die Reagenzien

Literaturverzeichnis

Einleitung

Gefahrstoffe spielen auch im experimentellen Biologieunterricht eine nicht zu unterschätzende Rolle. Die Relevanz der Gefahrstoff-Problematik ist zwar nicht ganz so gravierend als im Chemieunterricht, aber sie ist trotz alledem vorhanden. Auch im Biologie-Unterricht muss die Prüfung der Substitution durch weniger problematische Stoffe und das Erstellen der Gefährdungsbeurteilung erfolgen. Die Gefährdungsbeurteilung hat sich im Biologieunterricht nicht nur auf die verwendeten Gefahrstoffe zu beschränken, hier muss vor allem geprüft werden, ob auch die Bio-Stoff-Verordnung relevant ist. In Zukunft wird für jedes Experiment eine Gefährdungsbeurteilung erstellt und dokumentiert werden müssen. So haben sich im Biologieunterricht Experimente etabliert, die heute in dieser Form nicht mehr durchgeführt werden sollte. Beispiele wären in der Mikroskopie die Farbstoffe Pikrinsäure, Kongorot, Sudan III, Kristallviolett, die Karbolfuchsin-Lösung sowie die May-Grünwald und Giemsa-Lösung, welche krebserzeugend bzw. sehr giftig sind. Ein anders Beispiel wäre die Substrat-Spezifität der Urease, wo Thioharnstoff eingesetzt wird. Diese Substanz lässt sich problemlos durch den bisher nicht eingestuften Methylharnstoff problemlos ersetzen. Aber auch die Fehling-Probe kann eine Unfallquelle darstellen, insbesondere wenn das Reagenzglas in der Brennerflamme nicht bewegt wird. Im folgenden Skript werden optimierte Experimente vorgestellt, wo problematische Stoffe durch weniger problematische Stoffe ersetzt wurden bzw. wo das Gefährdungspotenzial minimiert wurde. Diese Sammlung erhebt nicht den Anspruch auf absolute Vollständigkeit! Bei der Konzeption der Experimente ist auch darauf geachtet worden, möglichst zeit- und materialsparend zu arbeiten. Es wurden nur Chemikalien eingesetzt, die im Lehrmittelhandel zu erwerben sind, aber auch Stoffe aus dem Alltag. Auch werden Alternativen für die Tüpfelanalytik vorgestellt, die sich besonders für Schülerübungen eignen.

Einsatz von Gefahrstoffen im Biologieunterricht

Im Biologieunterricht haben sich Experimente, wo Gefahrstoffe erforderlich sind, bei folgenden Themen seit vielen Jahren etabliert:

- Nachweisreaktionen von Kohlenhydraten, Proteinen und Kohlendioxid
- Experimente zum Thema Enzyme
- Färben mikroskopischer Präparate
- Chromatographie
- Ökologie

Konkrete Probleme und Lösungswege

Nachweisreaktionen von Kohlenhydraten, Proteinen und Kohlendioxid

Kohlenhydrate Alternativen zur klassischen Fehling - Probe

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 Zitronensäure verhindern die Ausfällung von Kupferhydroxid in alkalischer Lösung. Bei der Benedict-Probe wird Natriumcarbonat statt Natriumhydroxid eingesetzt, als Komplexbildner Natriumcitrat. Das Reagenz ist jahrelang verwendbar und hat ein bedeutend geringeres Gefahrenpotenzial als das klassische Fehling-Reagenz. Dieses Reagenz ist im Handel erhältlich bzw. kann auch selbst hergestellt werden. Der Selbstbau-Fehling ist von der Sache her ähnlich, er kann mit den in der Sammlung vorhandenen Reagenzien hergestellt werden. Der Unterschied zwischen Benedict-Reagenz und „Selbstbau-Fehling“ besteht darin, das Benedict-Reagenz nach einer festgelegten Rezeptur hergestellt wird, während beim „Selbstbau-Fehling“ die Substanzen ohne konkrete Massenangabe gemischt werden.

Das Problem sind die Siedeverzüge:

Wenn der sehr stark alkalische Versuchsansatz im Reagenzglas in der offenen Flamme des Bunsenbrenners erhitzt wird, besteht die Gefahr dass das stark ätzende Reaktionsgemisch heraus spritzt und zu Verätzungen führt.

Dies ist eine unkalkulierbare Unfallquelle.

Es gibt drei Möglichkeiten zur Minimierung von Unfallquellen:

- Verfahren ohne Brenner im Reagenzglas
- die Benedict – Variante bzw. der „ Selbstbau-Fehling“ im Wasserbad
- der „Mikro – Fehling“ auf der Tüpfelplatte

Verfahren ohne Brenner im Reagenzglas

Als Reaktionsgefäß dient ein Reagenzglas (16/160 mm), welches maximal 2 cm hoch die zu prüfende Lösung gefüllt ist und in einen 100 ml Erlenmeyer-Kolben (enger Hals) gestellt wird.

Dazu wird ein Spatel Reagenz I (Kupfersulfat mit Wein – oder Zitronensäure) gegeben. Der Start erfolgt durch Zugabe von 2-3 Natrium – oder Kaliumhydroxid-Plätzchen.

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, das 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 Reaktionstemperatur wird nach Zugabe von 2 bis 3 Natriumhydroxid- Plätzchen nicht erreicht
- Reagenzglas verfehlt Wirkung als Rückflusskühler zur Verhinderung des Siedeverzuges

Ständer für das Reagenzglas

- 100 ml Erlenmeyer-Kolben, enger Hals, Schutz vor Berühren des 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: Erlenmeyer-Kolben 100 ml weiter Hals oder 300 ml, enger Hals
- wichtig, auch hier maximal 2 cm hoch die Probe einfüllen

Verfahren mit Brenner bzw. Wasserbad

Alternativen zur klassischen Fehling-Probe sind die Benedict-Probe und der „Selbstbau-Fehling“. Bei der klassischen Fehling-Probe wird Natronlauge zur Alkalisierung eingesetzt, bei den Alternativen das weniger stark ätzende Natriumcarbonat. Dies ist vor allen Dingen für Schülerexperimente interessant. Benedict Reagenz ist in einer Lösung haltbar, während Fehling Reagenz unmittelbar vor Gebrauch durch Mischen gleicher Volumina der Lösungen A und B bereitet werden muss. Benedict – Reagenz und „Selbstbau-Fehling“ sind nicht ganz so intensiv gefärbt wie das klassische Fehling-Gemisch.

Das Erwärmen sollte prinzipiell im siedenden Wasserbad erfolgen.

Beim direkten Erhitzen der alkalischen Lösung im Reagenzglas mit der Flamme des Bunsenbrenners besteht immer die Gefahr von Siedeverzügen.

„Mikro – Fehling“ auf der Tüpfelplatte

Eine weitere Methode, insbesondere für Schülerexperimente, ist der Mikro-Fehling auf der Tüpfelplatte. Als Reaktionsgefäß wird eine Zellkulturplatte mit 12 oder 24 Vertiefungen aus glasklarem Polystyrol oder eine handelsübliche Tüpfelplatte aus Kunststoff eingesetzt.

Handelsübliche Tüpfelplatten aus Porzellan eignen sich nicht!!

Zu wenigen Tropfen Probe wird eine Mikro-Spatel-Spitze Kupfersulfat – Zitronensäure-Gemisch gegeben und danach eine Mikro-Spatel-Spitze gepulvertes Natriumhydroxid. Nach kurzem Mischen setzt die Reaktion ein. Natriumhydroxid-Pulver, äußerst hygroskopisch, muss sehr dicht verschlossen aufbewahrt werden (z. B. Gefäße mit Gummistopfen. Möglicherweise ist auch Abflussreiniger geeignet, das Produkt muss ausgetestet werden!!

- Natriumhydroxid entweder frisch in der Reibschale verreiben, oder in einen sehr dicht schließendem Gefäß aufbewahren, da äußerst hygroskopisch
- Tüpfelplatte sofort reinigen, nicht stehen lassen
- evtl. unter Zusatz von verdünnter Säure Kupfer(I)Oxid-Reste lösen

Beobachtung:

Es findet ein Farbumschlag von blau nach rotbraun statt.

Nachweis von Cellulose

Der Nachweis von Zellulose erfolgt mit Zinkchlorid-Iod- Lösung, alternativ Calciumnitrat-Iod-Lösung. Zinkchlorid bzw. Calciumnitrat 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. Calciumnitrat ist brandfördernd, Zinkchlorid ist ätzend und umweltgefährlich. Die Versuchsergebnisse sind identisch.

Protein-Nachweis Prinzip Eiweißfehler von pH-Indikatoren

Im Chemie - und Biologieunterricht haben sich zum Eiweißnachweis die Biuret – Probe und die Xanthoprotein- Reaktion etabliert. Diese Verfahren sind zum Nachweis geringer Proteinkonzentrationen, wie sie beispielsweise im Urin vorkommen völlig ungeeignet. Außerdem lassen sich diese Methoden nicht auf ein Teststäbchen adaptieren. Der Vorteil ist, einen Nachweis von Eiweiß mit einem Reagenz, welches bisher nicht als Gefahrstoff eingestuft ist, durchzuführen. Diese Reaktion ist bisher noch nicht in der Schule üblich. Diese Reaktion ist Grundlage für den Protein-Nachweis im Harn mittels Teststreifen.

Prinzip Eiweißfehler von pH-Indikatoren

Der pH-Indikator Bromphenolblau liegt bei einem pH-Wert bis 3,0 als gelbe nicht dissoziierte Säure vor. Bei einem pH-Wert über 4,6 liegt das blaue dissoziierte Anion vor.

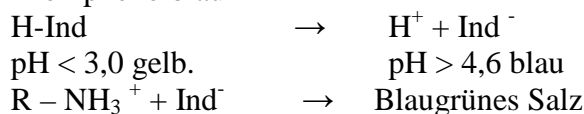
Zwischen pH 3,1 – 4,5 liegt eine grüne Mischfarbe vor.

Der Teststreifen enthält Bromphenolblau und einen Puffer von pH 3,0.

Bei einem pH- Wert von 3,0 liegen Albumine in protonisierter Form vor. Diese reagieren mit dem Anion des Bromphenolblaus, es entstehen Salze. Die Intensität der grünen Mischfarbe ist von der Proteinkonzentration abhängig. Als Protein – Lösung kann mit beispielsweise mit Kochsalzlösung verdünntes Eiklar eingesetzt werden.

Im Harn wird das Eiweiß als Albumin ausgeschieden. Die zu untersuchende Probe wird zunächst mit einer Pufferlösung von pH 3 versetzt. Bei diesem pH-Wert liegt das Albumin protonisiert vor, das heißt an die Aminogruppe ist das Hydronium-Ion (NH_3^+) gebunden.

Bromphenolblau



Modifizierte Methode nach Weichselbaum

Die Biuret-Reaktion wird auch im klinischen Labor zur Bestimmung der Gesamteiweiß-Konzentration im Serum angewendet. Diese Lösung enthält Kupfersulfat, Kaliumnatriumtartrat, Kaliumiodid und Natronlauge. Kaliumnatriumtartrat verhindert als Komplexbildner die Ausfällung von Kupferhydroxid. Der Vorteil dieser Reagenzlösung besteht darin, dass das Versuchsergebnis (Farbumschlag hellblau nach violett) sehr gut erkennbar ist. Das verdünnte Reagenz ist einige Wochen verwendbar-

Nachweis von Kohlendioxid

Der Nachweis von Kohlendioxid in der ausgeatmeten Luft kann beispielsweise durch Einleiten der ausgeatmeten Luft in Kalkwasser erfolgen, es entsteht Calciumcarbonat, welches als weißer Niederschlag ausfällt.



Wird in diese Mischung weiter Kohlendioxid eingeleitet, löst sich der Niederschlag unter Bildung von Calciumhydrogencarbonat.



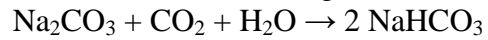
Dadurch fällt der pH-Wert ab

Kalkwasser ist auf Grund seines pH-Wertes auch als Gefahrstoff eingestuft. Es ist mit GHS 05 (Ätzwirkung), dem Signalwort Gefahr und den H-Sätzen H 318, H 315 und H 335 eingestuft.

Zur Herstellung von **haltbarem** Kalkwasser wird in eine 1000 ml Kunststoff-Flasche 2 cm hoch Calciumoxid oder Calciumhydroxid eingefüllt. Die Flasche wird mit Trinkwasser zu 9/10 aufgefüllt und kräftig geschüttelt. Nach dem Absetzen wird das Kalkwasser vor

Gebrauch unmittelbar durch Dekantieren (Abgießen) entnommen. Ist das Kalkwasser verbraucht wird erneut Trinkwasser zugegeben und gut durch geschüttelt-Kalkwasser darf nicht filtriert werden!

Eine weniger bekannter Nachweis besteht darin, das Kohlendioxid in eine stark verdünnte Natriumcarbonat-Lösung, die mit einem pH-Indikator angefärbt ist, eingeleitet wird.



Der Abfall des pH-Wertes wird durch den Indikator angezeigt.

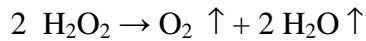
Indikator	pH- Umschlagsbereich	Farbumschlag CO₂-Nachweis
Thymolphthalein	pH 9,4 – 10,6 farblos – blau	blau - farblos
Thymolblau	pH 1,2 – 2,8 rot – gelb	
	pH 8,0 – 9,6 gelb – blau	
Kresolrot	pH 0,2 – 1,8 rot – gelb	
	pH 7,2 – 8,8 gelb – rot	
Mischindikator (Thymolblau und Kresolrot)		weinrot - gelb

Experimente zum Thema Enzyme

In der folgenden Übersicht werden Experimente mit den Enzymen Katalase, Urease und Glucose-Oxidase vorstellt.

Katalase

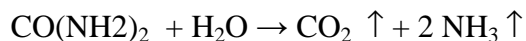
Katalase ist ein Enzym, welches in Pflanzen, menschlichen und tierischen Gewebe vorkommt. Es katalysiert die Spaltung von Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff.



Wenn eine blutige Wund mit Wasserstoffperoxid desinfiziert wird, kommt es zur Schaumbildung, verursacht durch den entstehenden Sauerstoff. Katalase ist in rohen Kartoffeln enthalten, diese werden als Katalase-Quellen im Unterricht eingesetzt. Im Experiment wird auf rohe Kartoffel, gekochte Kartoffel, rohe Kartoffel mit Kupfersulfat-Lösung und rohe Kartoffel mit Kupfersulfat-Lösung und EDTA (Chelaplex III, Idranal III, Titriplex III) verdünnte Wasserstoffperoxid-Lösung getropft. Bei roher Kartoffel kommt es zur Bildung von Schaum, bei gekochter und mit Kupfersulfat-Lösung imprägnierter Kartoffel findet keine Veränderung statt (Zerstörung durch Hitze und Schwermetall), die der mit Kupfersulfat – Lösung und EDTA behandelten Kartoffel kommt es zu einer schwachen Schaumbildung. Durch das EDTA wird das Kupfer komplex gebunden, der entstandene Kupferkomplex ist weniger toxisch. Die Katalase wird teilweise reaktiviert. Dies ist auch ein Modellversuch zur Therapie von Vergiftungen mit Schwermetallen durch Komplexbildner

Urease

Urease war das erste Enzym, welches 1926 kristallin isoliert wurde. Es katalysiert die Spaltung von Harnstoff in Ammoniak und Kohlendioxid.



Urease ist weit verbreitet im Boden, ist aber auch in Sojabohnen enthalten. Aus diesen kann kristalline Urease präparativ isoliert werden.

Urease wird mit Harnstoff-Lösung versetzt, es entsteht Ammoniak. Das gebildete Ammoniak lässt sich mit pH-Indikatoren nachweisen. Als Alternative zum Phenolphthalein wird hier der Mischindikator pH 5 eingesetzt, welcher von rotviolett nach grün umschlägt. Zum Nachweis der Substratspezifität wird anstelle von Thioharnstoff Methylharnstoff eingesetzt, der derzeit noch als toxisch unbedenklich gilt. In diesem Fall findet kein Farbumschlag statt, der Ansatz bleibt rotviolett. Eine aufgekochte Urease-Lösung wird mit Harnstoff versetzt, auch hier findet keine Veränderung statt. Es kann eine wässrige Lösung von Urease aus dem Laborhandel eingesetzt werden, es ist aber auch eine Lösung von Sojabohnenmehl in Wasser einsetzbar, eine kostengünstige Alternative. Inzwischen wurde noch eine neue Experimentier-Anleitung erstellt (Reagenzglas- Variante). Die Enzym-Lösung wird mit einem Indikator angefärbt, und das Substrat bzw. der Inhibitor wird zugesetzt

Glucose-Oxidase

Dieses Enzym wird eingesetzt, um Glucose spezifisch nachzuweisen. Viele reduzierende Stoffe ergeben eine positive Fehling-Reaktion. Aber mittels Teststreifen lässt sich nachweisen, ob es sich wirklich um Glucose handelt.

1. Nachweis von Glucose mit Teststreifen

Auf dem Teststreifen erfolgt der enzymatische Nachweis. Glucose wird durch das Enzym Glucose-Oxidase zu Gluconsäure und Wasserstoffperoxid oxidiert. Dar Wasserstoffperoxid

reagiert mit einem Farentwickler (Chromogen). Es entsteht eine gefärbte Verbindung, die Farbintensität ist von der Glucose-Konzentration abhängig.

2. Störung des Nachweises von Glucose mit Teststreifen durch Ascorbinsäure

Ascorbinsäure ist ein Reduktionsmittel, das in der Lage ist, das Enzym Glucose-Oxidase zu inaktivieren. Dies ist ein Beispiel für ein Katalysatorgift.

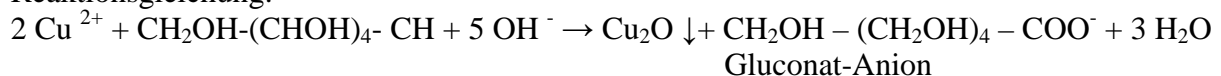
Zur Diagnostik des Diabetes mellitus ist ein zweifelsfreier Nachweis der Glucose im Harn Bedingung. Durch die Ernährung zu viel aufgenommene Ascorbinsäure wird über den Urin wieder ausgeschieden. Die Anwesenheit von Vitamin C bewirkt ein falsch negatives Resultat, das heißt Glucose ist anwesend, ist aber nicht nachweisbar. So kann ein Diabetes mellitus übersehen werden. Deshalb ist ein Warn-Feld für Ascorbinsäure in den Teststreifen integriert.

3. Spezifität des enzymatischen Nachweises von Glucose

Viele Stoffe wirken als Reduktionsmittel, beispielsweise Fructose. Beide Stoffe geben eine positive Fehling-Probe. Man spricht hier von einer unspezifischen Reaktion, da viele Stoffe mit Fehling-Reagenz eine positive Reaktion ergeben. Für die Diagnostik des Diabetes mellitus benötigt man eine Methode, die nur Glucose, keine anderen Stoffe, anzeigt. Im ersten Teil des Experimentes untersuchen Sie mehrere Kohlenhydrate mittels Fehling-Probe. Danach führen Sie die Untersuchung der Kohlenhydrat-Lösungen mit den Teststreifen zum Nachweis von Glucose durch. Man spricht von einer spezifischen Reaktion, wenn nur ein Stoff, (kein anderer) diese Reaktion gibt. Das ist beim enzymatischen Nachweis der Glucose der Fall:

4. Unspezifität von Reduktionsproben (Fehling-Probe)

Verschiedene Kohlenhydrate und Ascorbinsäure werden mittels Fehling- Probe untersucht
Reaktionsgleichung:



Färben mikroskopischer Präparate

Das Anfärben von Zellen und die mikroskopische Betrachtung ist wichtiger Baustein im Biologieunterricht. Gefahrstoffrechtlich völlig unproblematisch ist das Färben von Zellplasma mit Eosin gelblich und des Zellkernes mit Methylenblau, wenn die Farbstoffe in wässriger Lösung vorliegen. Es ist empfehlenswert, die Farblösung unmittelbar vor Gebrauch zu filtrieren. In meiner MTA-Zeit wurde prinzipiell die Farblösung über einen Trichter mit Filter auf das Präparat getropft. Bei Farblösungen fällt oft etwas Farbstoff aus, was makroskopisch nicht immer erkennbar ist. Farbniederschläge können die mikroskopische Auswertung extrem stören. Farbstoff-Flecke lassen sich von der Haut und Kleidung mit Salzsäure-Alkohol (10 ml Salzsäure 37 % und 90 ml Brennspiritus) entfernen, am besten sofort, nach dem sie bemerkt worden sind. Sind diese erst eingetrocknet, ist die Entfernung bedeutend mühsamer. Anschließend immer mit sehr viel Wasser spülen.

Chromatographie

Die Auftrennung von Blattfarbstoffen mittels Papier- und Dünnschichtchromatografie ist ein wichtiges Experiment in der Botanik. Um reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, ist es wichtig immer das gleiche Papier bzw. Dünnschichtfolien zu verwenden und dass die Versuchsbedingungen konstant gehalten werden. Reste des Blattauszuges mit Ethanol (Brennspiritus) oder Aceton können in Reagenzglasröhrchen über den Abguss entsorgt werden. Das benzinhaltige Laufmittel darf niemals über den Abguss entsorgt werden, da hier die Gefahr besteht, dass sich explosive Lösungsmittel-Luft-Gemische in den Abwasserkanälen bilden können. Entweder lässt man das Gemisch unter dem Abzug verdunsten oder gibt es in den Sonderabfallkanister für organische Versuchsreste.

Ökologie

Im Stoffgebiet Ökologie werden Untersuchungen von Wasser- und Bodenproben auf verschiedenen Parameter durchgeführt. Es ist üblich, dass hier meist handelsübliche Testsätze verwendet werden. Diese sind in den Lieferprogrammen von etablierten Lehrmittelhändlern gelistet. Die in den heute üblichen Testsätzen enthaltenen Reagenzien sind in Bezug von Gefährdungspotenzialen optimiert. Die Reagenzien sind nicht unbegrenzt haltbar, nach längerer Lagerung ist eine Kontrolle der Funktion empfehlenswert.

Empfehlenswerte Produkte zur Wasseruntersuchung:

- Ecolab-Box (Windaus Labortechnik Clausthal-Zellerfeld)
- Aquanal- Ökotest
- Visocolor Scool-Lab (Machery-Nagel)

Empfehlenswerte Produkte zur Bodenuntersuchung

- Ecolab-Box (Windaus-Labortechnik Clausthal-Zellerfeld)
- Visocolor Bodenanalysenset (Macherey-Nagel)
- Agroquant-Bodenlabor (Merck)

Diese Auswahl erhebt nicht den Anspruch auf Vollständigkeit!

Experimentieranleitungen

Nachweise von Kohlenhydraten, Proteinen und Kohlendioxid

Modifizierte Fehling-Proben zum Nachweis reduzierender Stoffe

Verfahren ohne Brenner im Reagenzglas

erforderliche Hilfsmittel:

Reagenzglas 16 x 160 mm, Erlenmeyer Kolben 100 ml enger Hals
Kupfersulfat – Zitronensäure – Gemisch, Natriumhydroxid - Plätzchen, Glucose

Durchführung:

- im Reagenzglas ein Spatel Glucose in 1 -2 ml Wasser lösen
- mit einer reichlichen Spatel-Spitze Kupfersulfat-Zitronensäure-Gemisch versetzen und mischen
- Reagenzglas in Erlenmeyer - Kolben stellen
- 2 -3 Plätzchen Natriumhydroxid zugeben und leicht umschwenken
- nach wenigen Minuten setzt Reaktion ein

Verfahren mit Brenner bzw. Wasserbad

Benedict-Variante bzw. Selbstbau-Fehling im Wasserbad

erforderliche Hilfsmittel:

Reagenzgläser, Wasserbad (400 ml Becherglas auf einer Heizplatte), Tropfpipette, Erlenmeyer-Kolben 500 ml, Chemikalienflasche, Spritze 5 ml, Folienschreiber
Benedict-Reagenz, Natriumcarbonat- 10 Hydrat (Soda), Zitronensäure, Kupfersulfat-5 Hydrat
Cola classic, Cola light, Glucose, Zwiebel

Durchführung:

Herstellung von „Selbstbau – Fehling“

- in den Erlenmeyer-Kolben 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

Glucose - Nachweis mit Benedict-Reagenz bzw. „Selbstbau-Fehling“

- Wasser im Becherglas zum Kochen bringen
- fünf Reagenzgläser mit Nummer mittels Folienschreiber beschriften
- in fünf Reagenzgläser je 2,5 ml Benedict-Reagenz oder „Selbstbau – Fehling“ mit Spritze einfüllen
 - Reagenzglas 1: 4 Tropfen Wasser zugeben
 - Reagenzglas 2: 4 Tropfen Cola classic zugeben
 - Reagenzglas 3: 4 Tropfen Cola light zugeben
 - Reagenzglas 4: eine Spatel-Spitze Glucose
 - Reagenzglas 5: ein erbsengroßes Stück Zwiebel
- Reagenzgläser 5 min in das siedende Wasserbad geben

Hinweis:

Die Kupfer(I)Oxid -Reste in den Reagenzgläsern lassen sich mit wenigen Tropfen verdünnter Salz – , Essig – , oder Schwefelsäure mühelos entfernen, Säure kurz einwirken lassen!

„Mikro – Fehling“ auf der Tüpfelplatte

erforderliche Hilfsmittel:

Tüpfelplatte aus Kunststoff oder Zellkulturplatte, kein Tüpfelraster!!!
Glucose-Lösung 5 %, frisch gepulvertes Natriumhydroxid,
Kupfersulfat- Zitronensäure –Gemisch

Durchführung:

Tüpfelplatte, kein Tüpfelraster!!!, weiß oder Zellkulturplatte

- 3 – 5 Tropfen Glucose-Lösung
- 3 - 5 Tropfen Wasser (Blindprobe)
- 1 Spatel-Spitze Kupfersulfat-Zitronensäure-Gemisch
- mischen
- 1 Spatel-Spitze frisch gepulvertes Natriumhydroxid
- mischen

Hinweise zum Arbeitsschutz:

- **alternative Fehling-Probe niemals auf dem Tüpfelraster!**
- **nur in Tüpfelplatte aus Kunststoff oder in einer Zellkulturplatte (12 Vertiefungen)**
- **Schutzbrille tragen!**
- **Natriumhydroxid entweder frisch in der Reibschale verreiben, oder in einen sehr dicht schließendem Gefäß aufbewahren, da äußerst hygroskopisch**
- **Tüpfelplatte sofort reinigen, nicht stehen lassen**
- **evtl. unter Zusatz von verdünnter Säure Kupfer(I)Oxid-Reste lösen**

Beobachtung:

Es findet ein Farbumschlag von blau nach rotbraun statt.

Nachweis von Cellulose

erforderliche Hilfsmittel:

Uhrglasschale oder Tüpfelraster, Watte, Zellstoff, Calciumnitrat-Iod-Lösung,

Durchführung:

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

Beobachtung:

Es bilden sich blauschwarze Färbungen aus.

Protein-Nachweis Prinzip Eiweißfehler von pH-Indikatoren

erforderliche Hilfsmittel:

Tüpfelraster oder Tüpfelplatte, Reagenzgläser, Maßkolben 100 ml, Pipette 10 ml
Bromphenolblau-Lösung 0,1 %, Puffer pH 3, Milch, Joghurt, Quark, Gelatine

Durchführung:

Herstellung der Reagenzlösung:

- in einen 100 ml Maßkolben 10 ml Puffer pH 3 geben
- tropfenweise Bromphenolblau-Lösung bis zur kräftigen Gelbfärbung zugeben
- mit Wasser zu 100 ml auffüllen

Eiweiß-Nachweis:

- 5 ml Reagenzlösung in ein Reagenzglas geben
- zu untersuchende Lebensmittel zugeben

Beobachtung

Farbumschlag von gelb nach blau

Diese Reaktion kann auch in Tüpfeltechnik durchgeführt werden

weiße Unterlage

1 Tropfen Reagenzlösung

1 Tropfen Probe oder eine streichholzkopfgroße Menge Quark oder Joghurt
(Farbumschlag von gelb nach blau)

Protein-Nachweis Prinzip Biuret- Methode nach Weichselbaum

erforderliche Hilfsmittel:

Tüpfelraster oder Tüpfelplatte, Reagenzgläser, Maßkolben 100 ml, Pipette 10 ml
Biuret RL, Kaliumiodid RL, Milch, Joghurt, Quark, Gelatine

Durchführung:

Herstellung der Reagenzlösung:

- 20 ml Biuret RL werden mit Kaliumiodid RL zu 100 ml aufgefüllt
- für Tüpfelanalytik werden 5 ml Biuret RL mit 20 ml Kaliumiodid- RL gemischt

Eiweiß-Nachweis:

- 5 ml Reagenzlösung in ein Reagenzglas geben
- zu untersuchende Lebensmittel zugeben

Beobachtung

Farbumschlag von hellblau nach violett

Diese Reaktion kann auch in Tüpfeltechnik durchgeführt werden

weiße Unterlage

1 Tropfen Reagenzlösung

1 Tropfen Probe oder eine streichholzkopfgroße Menge Quark oder Joghurt
(Farbumschlag von hellblau nach violett)

Nachweisreaktionen für Kohlendioxid

erforderliche Hilfsmittel:

Reagenzgläser, Strohhalm, Tropfpipetten mit ganz feiner Spitze (Pasteur-Pipetten), Maßkolben 50 ml, Messpipetten 2 und 5 ml, Erlenmeyer-Kolben 100 ml, Thymolblau-Lösung 0,1 %, Kresolrot-Lösung 0,1 %, Thymolphthalein-Lösung 0,1 %, Natriumcarbonat-Lösung (Soda-Lösung) 100 g /l.

Durchführung:

Herstellung der Thymolphthalein-Soda-Lösung:

- in einen 100 ml Erlenmeyer-Kolben 50 ml Trinkwasser geben
- 20 Tropfen Thymolphthalein-Lösung zugeben
- tropfenweise unter Umschütteln Natriumcarbonat-Lösung bis zur kräftigen Blaufärbung zugeben

Herstellung der Mischindikator-Soda-Lösung:

- in einen 50 ml Maßkolben 50 ml Wasser geben
- 4 ml Thymolblau-Lösung und 2 ml Kresolrot-Lösung zugeben, gut mischen
- tropfenweise unter Umschütteln Natriumcarbonat-Lösung bis zur weinroten Färbung zugeben

Kohlendioxid-Nachweis in der ausgeatmeten Luft:

- in Reagenzglaser 2 cm hoch Thymolphthalein-Soda bzw. Mischindikator-Soda-Lösung einfüllen
- mit einem Strohhalm ausgeatmete Luft in die Lösungen bis zum Farbumschlag einblasen

Beobachtung:

Farbumschlag bei Thymolphthalein-Soda-Lösung: blau – farblos

Farbumschlag bei Mischindikator-Soda-Lösung: rot - gelb

Experimente zum Thema Enzyme

Nachweis und Verhalten von Katalase in Kartoffeln

erforderliche Hilfsmittel:

Tüpfelraster oder Tüpfelplatte, Kartoffel roh und gekocht, Kupfersulfat-Lösung (Fehling I), Natriumedetat (Chelaplex III, Idranal III, Titriplex III), Wasserstoffperoxid-Lösung 3 %

Durchführung: schwarze Unterlage

Versuch I Hauptversuch

1 Scheibe Kartoffel, roh

Versuch II Hemmung durch Hitzedenaturierung

1 Scheibe Kartoffel, gekocht

Versuch III Hemmung durch Schwermetall-Denaturierung

1 Scheibe Kartoffel, roh, 1 Tropfen Kupfersulfat-Lösung

Versuch IV Aufhebung der Hemmung durch Komplexbildner

1 Scheibe rohe Kartoffel, 1 Tropfen Kupfersulfat-Lösung, 1 Spatel Natriumedetat

- auf alle Ansätze einige Tropfen Wasserstoffperoxid geben

Beobachtung:

Versuch I → starke Schaumbildung

Versuch II → keine Schaumbildung

Versuch III → keine Schaumbildung

Versuch IV → schwache Schaumbildung

Wirkung und Verhalten von Urease

erforderliche Hilfsmittel:

Tüpfelraster oder Tüpfelplatte

Harnstoff-Lösung, Methylharnstoff-Lösung, Urease, Sojabohnenmehl, Mischindikator 5, wässrig, Salzsäure 0,01 mol/l, Kupfersulfat-Lösung (Fehling I)

vorbereitende Arbeiten:

Herstellung der Substrat – Indikator-Lösung:

10 ml Harnstoff – Lösung werden mit 2 Tropfen Salzsäure gemischt und tropfenweise mit Mischindikator versetzt, bis eine sehr kräftig rotviolette Lösung entsteht.

Herstellung der Inhibitor – Indikator-Lösung:

10 ml Methylharnstoff – Lösung werden mit 2 Tropfen Salzsäure gemischt und tropfenweise mit Mischindikator versetzt, bis eine sehr kräftig rotviolette Lösung entsteht.

Herstellung der Urease-Lösung:

100 mg Urease wird mit 20 ml Wasser versetzt, Lösung ist nicht ganz klar

Herstellung von Urease-Lösung aus Sojabohnen-Mehl:

Sojabohnen in einer Schlagmühle mahlen, 5 g Sojabohnen-Mehl in einen 100 ml Erlenmeyer-Kolben mit NS 29 einwiegen, mit 50 ml Wasser versetzen 60 min unter häufigen Umschütteln bei Raumtemperatur stehen lassen, Ungelöste Anteile absetzen lassen und die obere fast klare Lösung einsetzen

Durchführung: weiße Unterlage

Versuch I Hauptversuch

1 Tropfen Substrat-Indikator-Lösung

1 Tropfen Urease – Lösung → Farbumschlag von rotviolett nach grün

Versuch II Substratspezifität

1 Tropfen Inhibitor-Indikator-Lösung

1 Tropfen Urease - Lösung → kein Farbumschlag

Versuch III Hitzedenaturierung

1 Tropfen Substrat-Indikator-Lösung

1 Tropfen gekochte Urease-Lösung → kein Farbumschlag

Versuch IV Schwermetalldenaturierung

1 Tropfen Substrat-Indikator-Lösung

1 Tropfen Kupfersulfat-Lösung

1 Tropfen Urease-Lösung → kein Farbumschlag

Hinweise:

Dieses Experiment eignet sich ganz besonders als Schülerexperiment, da hier keine eingestuft gefährlichen Stoffe erforderlich sind

Wirkung und Verhalten von Urease

Reagenzglas-Variante

erforderliche Hilfsmittel:

Reagenzgläser, Reagenzglas-Ständer
Harnstoff-Lösung, Methylharnstoff-Lösung, Urease, Sojabohnenmehl, Mischindikator 5, wässrig, Salzsäure **1 mol/l**, Kupfersulfat-Lösung (Fehling I)

vorbereitende Arbeiten:

Herstellung von Urease-Lösung aus Sojabohnen-Mehl:

Sojabohnen in einer Schlagmühle mahlen, 5 g Sojabohnen-Mehl in einen 100 ml Erlenmeyer-Kolben mit NS 29 einwiegen, mit 50 ml Wasser versetzen 60 min unter häufigen Umschütteln bei Raumtemperatur stehen lassen, Ungelöste Anteile absetzen lassen und die obere fast klare Lösung einsetzen. Die obere Lösung abgießen.

Native Enzym-Indikator-Lösung:

10 ml der abgegossenen Lösung werden mit einigen Tropfen Mischindikator bis zur kräftigen Grünfärbung versetzt, danach wird tropfenweise unter Umschütteln Salzsäure bis zur violetten Färbung zugegeben.

Hitzeinaktivierte („gekochte“) Enzym-Indikator-Lösung:

2 ml der abgegossenen Lösung werden 5 min im Reagenzglas im Sieden gehalten, anschließend mit 1 -2 Tropfen Mischindikator bis zur kräftigen Grünfärbung versetzt, und tropfenweise wird unter Umschütteln Salzsäure bis zur violetten Färbung zugegeben.

Durchführung:

<u>Reagenzglas</u>	<u>Beschriftung</u>	<u>Bedeutung</u>
1	S	Substrat = Hauptversuch
2	I	Inhibitor = Substrat-Spezifität
3	D	Denaturierung durch Hitze
4	S	Denaturierung durch Schwermetall

RG einfüllen

1	2 ml native Enzym-Indikator-Lösung, 5 Tropfen Harnstoff-Lösung
2	2 ml native Enzym-Indikator-Lösung, 5 Tropfen Methylharnstoff-Lösung
3	2 ml gekochte Enzym-Indikator-Lösung, 5 Tropfen Harnstoff-Lösung
4	2 ml native Enzym-Indikator-Lösung, 2 Tr. Fehling I, 5 Tropfen Harnstoff-Lösung

Ergebnisse:

<u>Reagenzglas</u>	<u>Farbe des Inhaltes</u>
1	grün
2	violett (keine Veränderung)
3	violett (keine Veränderung)
4	violett (keine Veränderung)

Glucose-Oxidase

erforderliche Hilfsmittel:

Tüpfelraster oder Tüpfelplatte, für Fehling-Test: Tüpfelplatte aus Kunststoff oder Zellkulturplatte aus Polystyrol, **kein Tüpfelraster!!!**

Glucose-Lösung 5 %, Glucose-Teststreifen, Ascorbinsäure-Lösung 5 % frisch herstellen, Fructose-Lösung 5 %, Maltose-Lösung 5 %, Kupfersulfat- Zitronensäure –Gemisch, Natriumhydroxid gepulvert

Durchführung: weiße Unterlage

Versuch I: Nachweis von Glucose mit Teststreifen

1 Tropfen Glucose-Lösung auf Glucose-Teststreifen tropfen, oder eintauchen

Versuch II: Störung des Nachweises von Glucose mit Teststreifen durch Ascorbinsäure

1 Tropfen Glucose-Lösung mit 1 Tropfen Ascorbinsäure-Lösung mischen auf Glucose-Teststreifen tropfen, oder eintauchen

Versuch III: Spezifität des enzymatischen Nachweises von Glucose

- 1 Tropfen Glucose-Lösung
 - 1 Tropfen Fructose-Lösung
 - 1 Tropfen Maltose-Lösung
- auf Glucose-Teststreifen tropfen, oder eintauchen

Versuch IV: Un-Spezifität von Reduktionsproben (Fehling-Probe)

Tüpfelplatte, kein Tüpfelraster!!!, weiß, besser Zellkulturplatte aus Polystyrol

- 3 – 5 Tropfen Glucose-Lösung
- 3 - 5 Tropfen Fructose-Lösung
- 3 - 5 Tropfen Maltose-Lösung
- 3 - 5 Tropfen Wasser (Blindprobe)
- 1 Spatel-Spitze Kupfersulfat-Zitronensäure-Gemisch
- mischen
- 1 Spatel-Spitze frisch gepulvertes Natriumhydroxid
- mischen

Hinweise zum Arbeitsschutz:

Die alternative Fehling-Probe nur in der Tüpfelplatte, Schutzbrille tragen Natriumhydroxid frisch in der Reibschale verreiben, äußerst hygroskopisch
Tüpfelplatte sofort reinigen, nicht stehen lassen evtl. unter Zusatz von Säure Reste lösen

Hinweis zum Umgang mit Glucose-Teststäbchen:;

Dose nach Entnahme der Teststreifen sofort verschließen, keine Feuchtigkeit an die Teststreifen in der Dose kommen lassen, Teststreifen werden durch Feuchtigkeit unbrauchbar!

Herstellungsvorschriften für die Reagenzien

Ascorbinsäure-Lösung 5 %:

5 g Ascorbinsäure werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt. Diese Lösung ist nur beschränkt haltbar und muss bei gelber Färbung verworfen werden!

Benedict-Reagenz:

27 g Natriumcarbonat -10 Hydrat oder 10 g wasserfreies Natriumcarbonat und 17,3 g Natriumcitrat werden in 60 ml destilliertem Wasser gelöst und evtl. leicht erwärmt. 1,73 g Kupfersulfat – 5 Hydrat wird in 20 ml Wasser gelöst. Nach vollständiger Lösung werden beide Lösungen vereinigt und mit destilliertem Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Biuret RL:

Stammlösung:

In einem 100 ml Maßkolben werden 20 ml Natronlauge 1 mol/l und 50 ml Wasser vorgelegt. 4,5 g Kaliumnatriumtartrat werden darin gelöst. Unter ständigem Schwenken werden darin 1,5 g Kupfersulfat 5 Hydrat, danach 0,5 g Kaliumiodid gelöst. Anschließend wird mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Gebrauchslösung:

20 ml Biuret RL werden mit Kaliumiodid-RL zu 100 ml aufgefüllt. Für die Tüpfelanalytik werden 5 ml Biuret RL mit 20 ml Kaliumiodid-RL gemischt.

Bromphenolblau-Lösung 0,1 %:

100 mg Bromphenolblau werden in Ethanol (Brennspiritus) gelöst und mit Ethanol zu 100 ml aufgefüllt.

Calciumnitrat-Iod-Lösung (Seeligers Reagenz zum Nachweis von Cellulose:

0,1 g Iod und 0,5 g Kaliumiodid werden trocken gemischt und tropfenweise mit wenig Wasser in Lösung gebracht. 30 g Calciumnitrat – 4 - Hydrat werden in 25 ml Wasser gelöst, evtl. leicht erwärmen. Anschließend beide Lösungen mischen.

Cresolrot-Lösung 0,1 %:

100 mg Cresolrot werden in Ethanol (Brennspiritus) gelöst und mit Ethanol zu 100 ml aufgefüllt.

Glucose-Lösung 5 %:

5 g Glucose werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Fructose -Lösung 5 %:

5 g Fructose werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Harnstoff-Lösung:

2,5 g Harnstoff werden in Wasser gelöst und zu 50 ml aufgefüllt.

Kaliumiodid RL:

2,5 g Kaliumiodid und 100 ml Natronlauge 1 mol/l werden mit Wasser zu 500 ml aufgefüllt.

Kupfersulfat – Lösung (Fehling I):

7,0 g Kupfersulfat-5 Hydrat werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Maltose-Lösung 5 %:

5 g Maltose werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Methylharnstoff-Lösung:

2,5 g Methylharnstoff werden in Wasser gelöst und zu 50 ml aufgefüllt.

Mischindikator pH 5, wässrig:

A 0,2 g Methylrot-Natriumsalz werden in Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt.

B 0,1 g Methylenblau werden in Wasser gelöst und zu 100 ml aufgefüllt.

Bei Bedarf gleiche Volumina A und B mischen, Tropfflasche aus Braunglas

Natriumcarbonat-Lösung 100 g/l:

100 g Natriumcarbonat- 10 Hydrat (Soda) werden in Wasser gelöst und mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Puffer pH 3:

8,47 g Zitronensäure-Monohydrat, 3,49 g Natriumchlorid und 20,6 ml 0,1 mol/l Natronlauge werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt

Salzsäure 1 mol/l:

8,5 ml Salzsäure 37 % werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt.

Salzsäure 0,01 mol/l:

1 ml Salzsäure 1 mol/l wird mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt, frisch herstellen

Thymolblau-Lösung 0,1 %:

100 mg Thymolblau werden in Ethanol (Brennspiritus) gelöst und mit Ethanol zu 100 ml aufgefüllt.

Thymolphthalein-Lösung 0,1 %:

100 mg Thymolphthalein werden in Ethanol (Brennspiritus) gelöst und mit Ethanol zu 100 ml aufgefüllt.

Wasserstoffperoxid-Lösung 3 %:

10 ml Wasserstoffperoxid-Lösung 30 % werden mit Wasser zu 100 ml aufgefüllt, diese Lösung sollte am besten immer frisch hergestellt werden.

Literaturverzeichnis

Akademie für Lehrerfortbildung und Personalplanung
Akademiebericht 475
Chemie? – aber sicher! Experimente kennen und können!
2013, Dillingen, Akademie für Lehrerfortbildung und Personalführung

Arnold, W. (Herausgeber)
Versuche mit Lebensmitteln im Unterricht
1969, Leipzig, VEB Fachbuch Verlag

Baer, H-W.
Biologische Schulexperimente
1983, Berlin (Ost), Volk und Wissen Volkseigener Verlag

Brauner, L., Bukatsch, F.
Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum
1980, Jena, VEB Gustav Fischer Verlag

Große, E., Weissmantel, Chr.
Chemie selbst erlebt
1982, Leipzig, Jena, Berlin, Urania Verlag

Karlson, P.
Kurzes Lehrbuch der Biochemie
1977, Stuttgart, Georg Thieme Verlag

Phillip, E., Starke, A., Verbeek, B., Wellinghorst, R.
Materialien S II Biologie Ökologie
2005, Braunschweig, Bildungshaus Schulbuchverlage

Projekt Experimentierset Chemie
HEG Handels-GmbH 33595 Bielefeld (Made in China)

Proske, W., Franke, A., Haubold, P.
Ausgewählte Methoden für die Umweltanalytik
2005, Clausthal-Zellerfeld, Windaus Labortechnik

Sapper, N., Widhalm, H.
Einfache biologische Experimente
1999, Wien, öbv& hpt Verlags-GmbH

Vierteljahreszeitschrift für praktische Pharmazie
Jahrgang 1922, Seite 30

