

Nachweis von organischen Verbindungen in Lebensmitteln

1. Nachweis von Fett mit Sudan III

Geräte:

2 Reagenzgläser im Ständer, Pipette

Chemikalien:

Sudan III 0,1 %-ige Lösung in Ethanol, Milch, pflanzliches Öl

Durchführung:

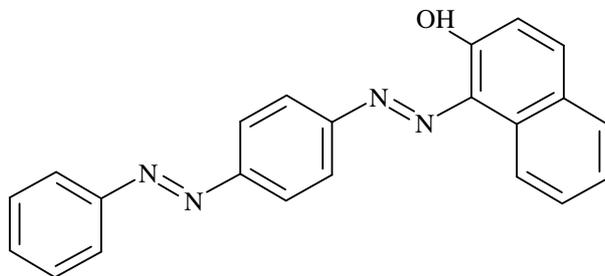
Die beiden Reagenzgläser werden wie folgt befüllt:

RG 1: 2 ml Wasser, 2 ml Öl und wenige Tropfen Sudan-III-Lösung

RG 2: 4 ml Milch und wenige Tropfen Sudan-III-Lösung

Erklärung:

Sudan III ist ein ausgeprägt unpolarer (also lipophiler und hydrophober) Farbstoff, der sich in Wasser überhaupt nicht und in Fett sehr gut löst. Polare Phasen bleiben farblos, unpolare Phasen werden gefärbt. Eigentlich handelt es sich nur um einen Indikator für unpolare Stoffe, der nicht nur Fette sondern z-B. auch Mineralöl oder Halogenkohlenwasserstoffe anfärbt:



2. Nachweis von Traubenzucker (Glucose) mit GOD-Teststäbchen

Geräte:

4 Reagenzgläser mit Ständer, Spatel, Messer, Küchenbrett, Reibschale mit Pistill, Filter mit Trichter

Chemikalien:

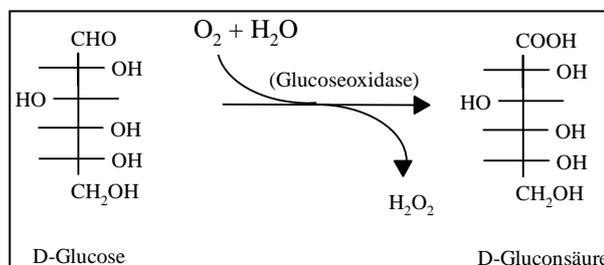
D-Fructose, D-Glucose, Paprika, Zwiebel, Seesand, GOD-Teststäbchen

Durchführung:

Man schneidet wenige kleine Stücke von der zu untersuchenden Frucht ab, verreibt sie mit Seesand, gibt etwas Wasser dazu und filtriert direkt in das Reagenzglas. Jeweils ein frisches Teststäbchen kurz in die zu untersuchende Lösung halten und die Färbung mit der Gebrauchsanleitung vergleichen.

Erklärung:

Die Teststreifen enthalten die Enzyme Glucoseoxidase und Peroxidase sowie o-Toluidin (2-Methyl-Aminobenzol). Durch die Glucoseoxidase wird die Oxidation der Glucose mit Luftsauerstoff O_2 zu Gluconsäure katalysiert. Dabei wird H_2O_2 gebildet, welches seinerseits das o-Toluidin zu einem blauen Farbstoff oxidiert, der auf den gelben Teststreifen eine grüne Mischfarbe ergibt.



3. Nachweis von Fructozucker (Fructose) mit Seliwanoff-Reagenz

Geräte:

Reagenzgläser mit Ständer, Becherglas, Dreibein mit Drahtnetz und Brenner, Spatel.

Chemikalien:

D-Fructose, D-Glucose, Paprika- und Zwiebelextrakt aus 2.2, Seliwanoff-Reagenz (¼ Spatelspitze Resorcin in 2 ml konz HCl und 2 ml Wasser)

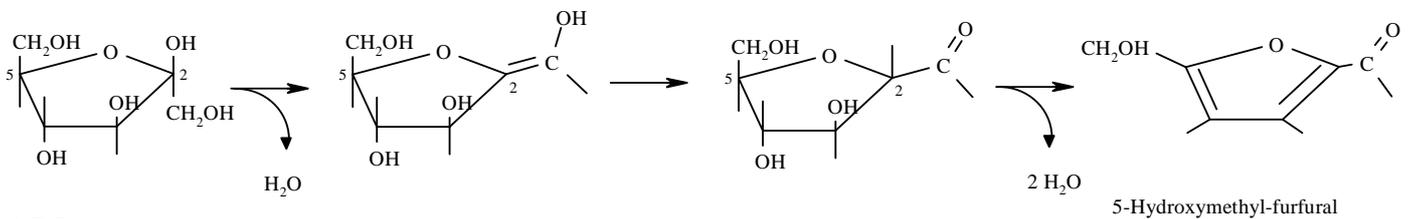
Durchführung:

1 ml Seliwanoff-Reagenz mit 2 ml Lösung 5 - 10 min im siedenden Wasserbad erhitzen. Schutzbrille!

Erklärung:

Ketohexosen wie z.B. Fructose eliminieren mit verdünnten Säuren drei Wassermoleküle aus der Ringform und bilden 5-Hydroxymethyl-furfural, das mit Resorcin (1,3-Dihydroxybenzol) einen roten Farbstoff bildet.

1. Eliminierung der Hydroxylgruppe an C₂ und des H-Atoms an C₁ unter Bildung eines Enols
2. Bildung des entsprechenden Aldehyds durch Tautomerie.
3. Eliminierung der Hydroxylgruppe an C₃ und des H-Atoms an C₂.
4. Eliminierung der Hydroxylgruppe an C₄ und des H-Atoms an C₅.



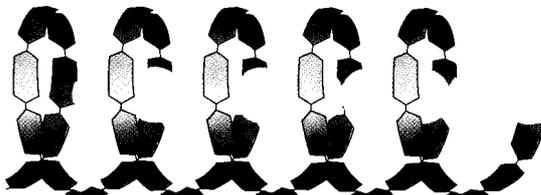
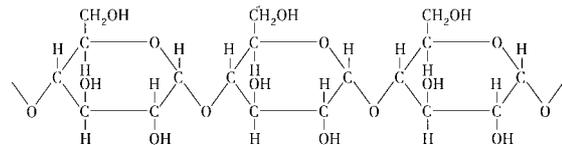
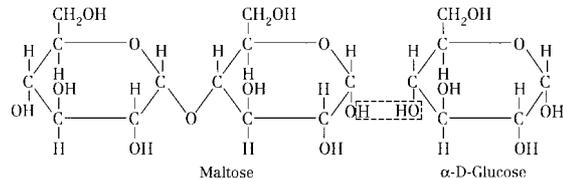
4. Nachweis von Stärke mit Iod

Durchführung:

Eine feste oder flüssige Probe des zu untersuchenden Stoffes wird mit einem Tropfen Iod-Kaliumiodid-Lösung (Lugolsche Lösung) versetzt. Bei Anwesenheit von Stärke entsteht eine tiefblaue Farbe.

Erklärung:

Stärke ist ein Makromolekül, das aus mehr als 100 verketteten Glucoseringen besteht. Die Kette windet sich in Lösung schraubenförmig zu einer Helix. Die zunächst rötlich gefärbten I₃⁻, I₅⁻, I₇⁻, usw. -Moleküle der Lugolschen Lösung schieben sich in die Helix und erzeugen dadurch die blaue Farbe.



Oben: Kondensation von Glucoseringen zu Stärke
Links: Iodteilchen schieben sich in die Stärkehelix

5. Nachweis von Glucose als Einzelbaustein der Stärke

Durchführung

Ein stärkehaltiges Lebensmittel wird einige Minuten lang in verdünnter Salzsäure (= Magensäure) gekocht und dann mit GOD-Stäbchen untersucht.

Erklärung

Durch die Säure wird die Stärke wieder in ihre Glucosebausteine gespalten (Hydrolyse = Umkehrung der Kondensation, siehe oben)

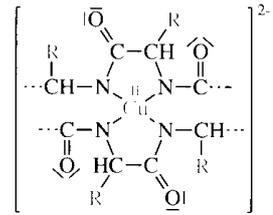
6. Nachweis von Protein mit Biuret

Durchführung:

2 ml Eiklarlösung bzw. Milch wird mit 1 ml NaOH und **wenigen Tropfen verdünnter** CuSO₄-Lösung versehen. Evtl. vorsichtig (Schutzbrille!) erwärmt.

Erklärung:

Mit Cu²⁺-Ionen in stark basischer Lösung bilden **deprotonierte** Peptid-Bindungen den violetten **Biuret-Komplex** (siehe rechts)



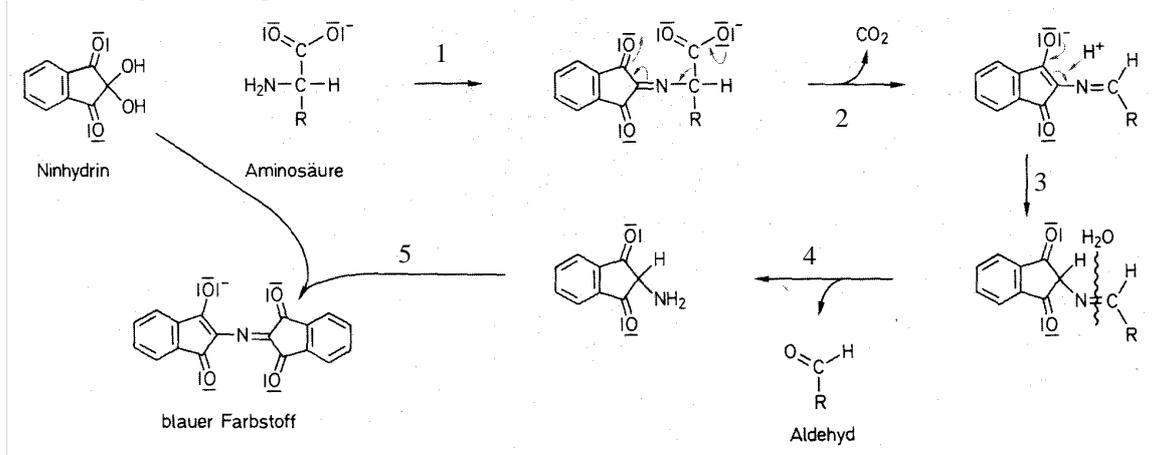
7. Nachweis von Protein mit Ninhydrin

Durchführung:

Etwas Eiklarlösung bzw. Milch wird mit wenig Ninhydrin versehen und vorsichtig (!) erwärmt.

Erklärung:

Ninhydrin reagiert mit Peptiden zu einem blauen **Indigo-Farbstoff**:



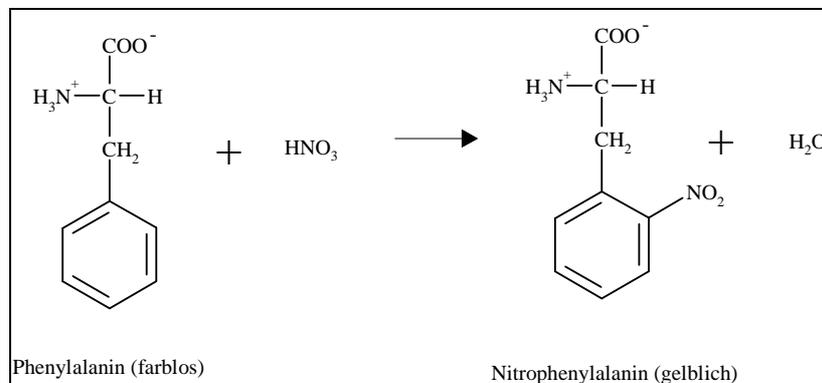
8. Nachweis von Protein mit Salpetersäure (Xanthoprotein-Reaktion)

Durchführung

Eiweißlösung bzw. Milch wird mit konz Salpetersäure HNO₃ (aq) versetzt.

Erklärung

Mit konz Salpetersäure färben sich Proteine gelblich. Die Färbung kommt durch der **Nitrierung der aromatischen Reste** von Phenylalanin, Tyrosin und Tryptophan zustande und zeigt eigentlich nicht die Peptidbindung, sondern **Aromaten** an:



9. Chromatografie eines AS-Gemisches

Geräte:

Tüpfelplatte, Dünnschichtplatten (Kieselgel 60 auf Plastikfolie) mit passendem Becherglas mit passendem Uhrglas, 5 Glaskapillaren, 2 Pipetten., Fön, 20 ml-Messzylinder

Chemikalien:

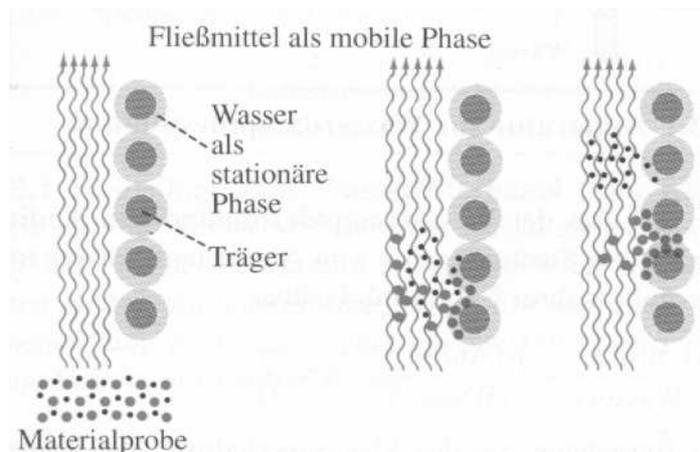
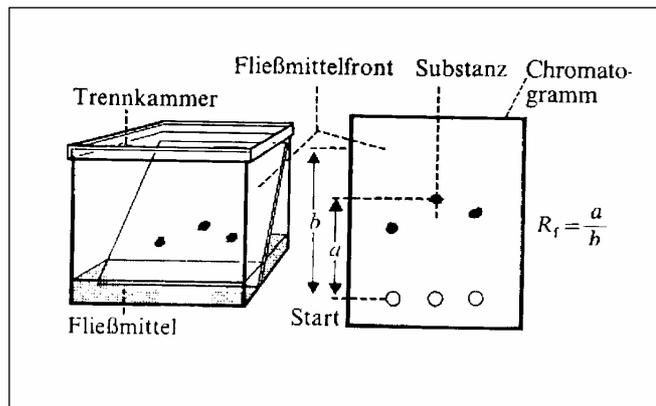
Vier Aminosäuren, z.B. L-Lysin, L-Alanin, L-Valin, L-Leucin, Butan-1-ol, Ethanol, konz. Ethansäure, Wasser, Ninhydrin-Sprühreagenz (0,3 g Ninhydrin in 100 ml Butan-1-ol und 3 ml Ethansäure gelöst),

Durchführung:

1. In insgesamt 5 Mulden der Tüpfelplatte werden jeweils wenige Kristalle der einzelnen AS (Nr. 1 - 4) bzw. ein Gemisch aller vier AS (Nr. 5) in jeweils 1 Tropfen Wasser und 1 Tropfen Ethanol gelöst.
2. In einem Messzylinder wird das **Laufmittel** aus 8 ml Butan-1-ol, 2 ml Ethansäure und 2 ml Wasser
3. Auf der DC-Platte wird in 1 cm Höhe mit dünnem Bleistiftstrich eine **Startlinie** aufgezeichnet. Die 5 **Lösungen** werden mittels einer **Kapillaren** nebeneinander auf die Startlinie aufgetragen.
4. Die DC-Platte wird in das Becherglas gestellt, das ca. 0,5 cm hoch mit Laufmittel gefüllt ist. Das Becherglas wird mit einem Uhrglas bedeckt.
5. Wenn das Laufmittel bis etwa 1 cm an den oberen Rand des Papierstreifens aufgestiegen ist, wird die DC-Platte aus dem Becherglas entfernt und die **Laufstrecke h** mit Bleistift markiert und aufgeschrieben.
6. Die DC-Platte wird kurz mit dem Fön getrocknet, mit Ninhydrin besprüht und dann bei 100 °C im Trockenschrank oder wieder mit dem Fön getrocknet
7. Die 5 Flecken werden mit dünnem Bleistiftstrich umrandet und ihre Farben und **Laufstrecken a** notiert.

Erklärung

Stellt man saugfähiges Papier (Cellulose) oder eine mit einer dünnen saugfähigen Schicht (Aluminiumoxid, Siliziumdioxid oder Cellulose) beschichtete Glasplatte einige Millimeter tief in ein Fließmittel (meist Mischungen aus Wasser, Säuren und verschiedenen organischen Lösungsmitteln), so wandert das Fließmittel aufgrund der **Kapillarwirkung** des Materials langsam nach oben. Befindet sich auf dem Papier oder der Schicht an einer Stelle nahe dem unteren Rand ein Stoffgemisch, z. B. mehrere Farbstoffe, so werden seine Komponenten im allgemeinen durch das Fließmittel unterschiedlich schnell mitgeführt, so dass sie - im Vergleich zur Fließmittelfront - verschieden schnell wandern. Es erfolgt eine **Auftrennung** des Stoffgemisches. Das Verfahren heißt **Chromatographie** (von griech. chroma, Farbe; graphein, schreiben), da es erstmals zur Trennung von Blattfarbstoffen angewandt wurde.



Bei der Papier- und der Dünnschichtchromatographie wird also eine **stark polare stationäre Phase (Papier, Dünnschichtplatte)** von einer **weniger polaren mobilen Phase (Fließmittel)** durchwandert. Dabei werden die einzelnen Komponenten eines Stoffgemisches, das auf der stationären Phase aufgebracht ist, je nach Polarität verschieden weit transportiert und damit getrennt. Je polarer eine Komponente ist, desto stärker **haftet** sie an der stationären Phase und desto langsamer wird sie transportiert.

(**Adsorptionschromatographie**).