

Ruppersberg, Klaus; Hain, Julia; Mischnick, Petra
**Auf der Spur der roten Farbe. Ein historischer Lactose-Nachweis
wiederentdeckt**

formal überarbeitete Version der Originalveröffentlichung in:

formally revised edition of the original source in:

Chemie konkret : CHEMKON 24 (2017) 4, S. 302-324

Dokument 2 von 2



Bitte verwenden Sie in der Quellenangabe folgende URN oder DOI /

Please use the following URN or DOI for reference:

urn:nbn:de:0111-pedocs-173785

10.25656/01:17378

<https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-pedocs-173785>

<https://doi.org/10.25656/01:17378>

Nutzungsbedingungen

Gewährt wird ein nicht exklusives, nicht übertragbares, persönliches und beschränktes Recht auf Nutzung dieses Dokuments. Dieses Dokument ist ausschließlich für den persönlichen, nicht-kommerziellen Gebrauch bestimmt. Die Nutzung stellt keine Übertragung des Eigentumsrechts an diesem Dokument dar und gilt vorbehaltlich der folgenden Einschränkungen: Auf sämtlichen Kopien dieses Dokuments müssen alle Urheberrechtshinweise und sonstigen Hinweise auf gesetzlichen Schutz beibehalten werden. Sie dürfen dieses Dokument nicht in irgendeiner Weise abändern, noch dürfen Sie dieses Dokument für öffentliche oder kommerzielle Zwecke vervielfältigen, öffentlich ausstellen, aufführen, vertreiben oder anderweitig nutzen.

Mit der Verwendung dieses Dokuments erkennen Sie die Nutzungsbedingungen an.

Terms of use

We grant a non-exclusive, non-transferable, individual and limited right to using this document.

This document is solely intended for your personal, non-commercial use. Use of this document does not include any transfer of property rights and it is conditional to the following limitations: All of the copies of this documents must retain all copyright information and other information regarding legal protection. You are not allowed to alter this document in any way, to copy it for public or commercial purposes, to exhibit the document in public, to perform, distribute or otherwise use the document in public.

By using this particular document, you accept the above-stated conditions of use.

Kontakt / Contact:

peDOCS
DIPF | Leibniz-Institut für Bildungsforschung und Bildungsinformation
Informationszentrum (IZ) Bildung
E-Mail: pedocs@dipf.de
Internet: www.pedocs.de

Musterlösungen für die Arbeitsblätter

hinter „Auf der Spur der roten Farbe: Ein historischer Lactose-Nachweis wiederentdeckt“

Vorbemerkung: Musterlösungen sind nur Muster; es kann auch andere sinnvolle Lösungen geben, die sich aus dem Vorwissen und dem Unterrichtsverlauf ergeben, welche aber vom Muster nicht erfasst sind.

Arbeitsblatt 1

Versuch (Sek. I/II):

Was passiert, wenn man Milchprodukte sowie verschiedene Zucker mit Ammoniak reagieren lässt?

Zeitansatz: 45 Minuten, *alternativ ca. 75 Minuten bei zweistufigem Ablauf (siehe 1.4.1)*

1.1: Gefahrenhinweise:

Ammoniaklösung („Salmiakgeist“, $\omega_{\text{NH}_3} = 10\%$; GHS05, GHS07; sollte nur im funktionierenden Abzug pipettiert werden!). Kalilauge ($c_{\text{KOH}} = 1 \text{ mol L}^{-1}$; GHS05, GHS07)

1.2: Geräte und Chemikalien (es handelt sich um einen Vorschlag; je nach Verfügbarkeit können auch andere Gefäße und/oder Zucker eingesetzt werden):

Eine Heizplatte, ein 1000 mL-Becherglas mit 300 mL demin. Wasser, ein Thermometer, das bis 100 °C misst, Wasser, ein wasserfester Stift zum Beschriften, Einmalpipetten, 12 Reagenzgläser, ein Reagenzglasständer, eine Schutzbrille, ein Smartphone oder eine Kamera für die Fotodokumentation, Ammoniaklösung ($w(\text{NH}_3) = 10\%$) („Salmiakgeist“), Kalilauge ($c(\text{KOH}) = 1 \text{ mol/L}$, verschiedene möglichst naturbelassene Milchprodukte (ohne Glucose-Fructose-Sirup und ohne Farbstoffe; ggf. könnten Milchprodukte mit Farbstoffen durch das Einlegen entfetteter Wollfäden o.a. geeignetes Adsorbens entfärbt werden), zum Beispiel: 1) Kuhmilch, 2) lactosefreie Milch, 3) Kefir, 4) Buttermilch, 5) Crème fraîche (Sauerrahm), 6) Skyr (Frischkäse), 7) Kaffeesahne, sowie zum Vergleich jeweils 50 mg der folgenden Reinstoffe: 8) Lactose, 9) Glucose, 10) Galactose, 11) Saccharose und 12) Mischung von Glucose und Galactose.

1.3: Aufbau:



Abb. A1.1: von links nach rechts: Ammoniaklösung, Kalilauge, Reagenzgläser Nr. 1-7: Milchprodukte gemäß Auflistung in 1.2, Nr. 8-12: Zuckerlösungen, Wasserbad 70 °C mit Thermometer.

1.4: Durchführung:

In einem 1000 mL-Becherglas werden 300 mL Wasser auf 70 °C erhitzt und die Temperatur konstant gehalten (Kontrolle der Temperatur mit Thermometer, das idealerweise so an einem Stativ befestigt wird, dass es die Wassertemperatur misst und nicht die Bodentemperatur).

Von den unterschiedlichen Milchprodukten werden je 2 mL mit Einmalpipetten in nummerierte Reagenzgläser pipettiert. Je nach Viskosität der Milchprodukte müssen die Spitzen der Einwegpipetten etwas gekürzt werden.

In fünf weitere Reagenzgläser werden die oben genannten Zucker gegeben und jeweils in 2 mL Wasser gelöst.

Anschließend werden jeweils 2 mL Ammoniaklösung sowie 3 Tropfen Kalilauge hinzu pipettiert. Vorsichtig, aber gründlich schütteln, damit sich alles gut durchmischt!

Dann werden die Reagenzgläser in das heiße Wasserbad gestellt und für mindestens 15 Minuten dort belassen, bis die Farben der Proben sich gut entwickelt haben. Nach jeweils 5 Minuten erfolgt eine Sichtkontrolle mit Fotodokumentation mit der Smartphone-Kamera.



Abb. A1.2: Reaktionsprodukte der Referenzsucker, **Abb. A1.3:** Farbreifung der Milchprodukte.

1.4.1 Didaktisch-methodischer Hinweis zur Durchführung: Bei größerem Zeiteinsatz kann das Experiment auch in zwei Stufen durchgeführt werden: Erst werden die Zuckerlösungen getestet und die Ergebnisse protokolliert, dann werden im zweiten Schritt die Milchprodukte getestet; die Ergebnisse werden dann mit den Ergebnissen der Zuckerlösungen verglichen.

1.5: Dokumentieren und protokollieren des Versuchsverlaufs:

Fertige während der Wartezeit eine Fotodokumentation des Versuchsverlaufs an (Smartphone-Kamera o.a.) und protokolliere, zu welchem Zeitpunkt welche Farbänderung zu beobachten ist!

Bei der Beobachtung des Reaktionsverlaufs ist im Falle der 1,4-verknüpften Disaccharide wie Lactose und Maltose zunächst eine gelbliche, dann rötliche Färbung zu sehen, die im Verlauf von 15-30 Minuten ausreift. Einfachzucker (Glucose, Fructose, Galactose, ...) ergeben nur Gelbtöne in verschiedenen Nuancen. Nicht-reduzierende Zucker (z.B. Saccharose) zeigen keine Verfärbung.

Da die Wöhlk-Probe ein halbquantitativer Nachweis ist, lässt sich üblicherweise etwa folgende abnehmende Reihenfolge bzgl. des Lactosegehalts erkennen: Kaffeesahne – Saure Sahne – Vollmilch – Kefir – Lactosefreie Milch (Nachweis negativ). Bei Buttermilch gibt es unterschiedliche Ergebnisse: Die Säuerung wird hier durch Milchsäurebakterien erzielt, die ähnlich wie bei Kefir die Lactose abbauen. Daher sollte Buttermilch ebenso wie Kefir weniger Lactose enthalten als Vollmilch. Es gibt aber auch Buttermilchsorten, die nachträglich wieder mit Lactose angereichert wurden.

Bei der Auswahl der Lebensmittel ist darauf zu achten, dass möglichst keine Farbstoffe hinzugefügt wurden. Viele Milchprodukte sind mit Fructose-Glucose-Sirup gesüßt. Auch dies stört den Nachweis. Ein interessanter pädagogischer Nebeneffekt ist daher, dass die SchülerInnen bei dieser Aufgabe mit der komplexen Zusammensetzung mancher Lebensmittel konfrontiert werden und dass sich ggf. eine Diskussion über Sinn und Unsinn von Lebensmittelfärbungen und Zuckerzugaben entwickelt.

Arbeitsblatt 2: Chemiegeschichte (Sek. II)

Aufgabe 2.1: Bildet Arbeitsgruppen und bearbeitet die Texte in „Material zu Arbeitsblatt 2“ in den jeweiligen Kleingruppen.

Aufgabe 2.2: Berichtet euch gegenseitig und fasst zusammen: Welche(r) Forscher(in) hat welchen Forschungsbeitrag gegeben?

Jahr	Name, Ort	Forschungsbeitrag (in Stichworten)
1894	van Leent , Den Haag/ Basel	Rote Farbe bei Reaktion von Lactose und Ammoniak beobachtet
1896	Umikoff St. Petersburg	Rote Farbe bei der Reaktion von Muttermilch mit Ammoniak beobachtet, Korrelation von Stärke der Färbung und Laktationsdauer festgestellt , was mit dem (noch nicht erkannten) Lactosegehalt der Muttermilch zu tun hat.
1897	Marchetti , Florenz	Stellt richtig, dass die Färbung auf der Reaktion mit Milchzucker (Lactose) beruht.
1900	Sieber alias Ziber-Shumova , St. Petersburg	Ersetzt Ammoniak durch verschiedene Amine und beschreibt deren Reaktion mit Lactose. Sie beobachtet Rotfärbungen u.a. auch mit Methylamin, Ethylamin, Anilin, Benzylamin; kann aber noch nicht erkennen, dass die rotfärbenden Komponenten sämtlich elektronenschiebende primäre Amine sind.
1904	Wöhlk , Kopenhagen	Arbeitet an der Reaktion von Zuckern mit Alkalien, kommt dabei auf Ammoniaklösung und findet, weil er zufällig einen zunächst farblosen Ansatz nach einer halben Stunde erneut beobachtet, die nach ihm benannte Wöhlk-Reaktion: Zucker wie Lactose und Maltose ergeben einen „krapproten“ (heute würde man eher sagen: lachsroten) Farbton (Absorptionsmaximum bei 527 nm), während reduzierende Einfachzucker (Glucose, Fructose, Galactose,) Gelbtöne in verschiedenen Nuancen ergeben. Nicht-reduzierende Zucker (Saccharose, ...) ergeben keine Färbung.
1905	Malfatti , Innsbruck	Liest die Veröffentlichung von Wöhlk, wendet sie auf sein Fachgebiet an (Urologie) und verbessert sie durch die Zugabe von Kalilauge.
1942	Fearon , Dublin	Liest die Veröffentlichungen von Wöhlk und Sieber, findet die Reaktion mit Ammoniak unzuverlässig und ersetzt Ammoniak durch Methylamin (Zugabe in Form von Methylammoniumchlorid).

Aufgabe 2.3: In welchen unterschiedlichen Fachbereichen arbeiteten die beteiligten Forscher?

Verbinde die Namen aus B) und folgende Fachbereiche durch farbige Linien zu: Biochemie, Kinderklinik, Urologie, Pharmazie, Organische Chemie, Lebensmittelchemie

Es sollten sich folgenden Kombinationen ergeben:

Van Leent: Lebensmittelchemie, Umikoff: Kinderklinik, Marchetti: Lebensmittelchemie, Sieber: Organische Chemie, Wöhlk: Pharmazie, Malfatti: Urologie, Fearon: Biochemie

Aufgabe 2.4: Warum bekamen die Findelkinder in St. Petersburg Ammenmilch und keine Fläschchen mit Milupa®- oder Alete®-Produkten?

Zwar entwickelten Justus von Liebig im Jahre 1865, Henri Nestlé 1868 sowie die Firma Milupa 1932 Vorläufer von Babynahrung, diese Produkte waren aber zu damaliger Zeit für die Ernährung von Neugeborenen ungeeignet und zu teuer. In St. Petersburg herrschte um 1900 eine so große Armut, dass verzweifelte Mütter ihre Neugeborenen direkt nach der Entbindung aussetzten. Derart früh ausgesetzte Kinder konnte man nur mit Ammenmilch ernähren. Nach einem kommerziellen Boom von Flaschennahrung für Babys, der auch in Entwicklungsländern zu spüren war, setzten ab den 1970er Jahren eine kritische Betrachtung der Flaschennahrung und eine medizinisch begründete Rückbesinnung auf die Gabe von Muttermilch ein (vgl. u.a. „Babynahrung“ in Wikipedia).

Aufgabe 2.5: Vergleicht die Sesselkonfigurationen von Lactose, Maltose und Glucose (s.u.). Erläutert, was die Formeln gemeinsam haben und was sie unterscheidet. In welche Richtung (axial, äquatorial) zeigen die OH-Gruppen?

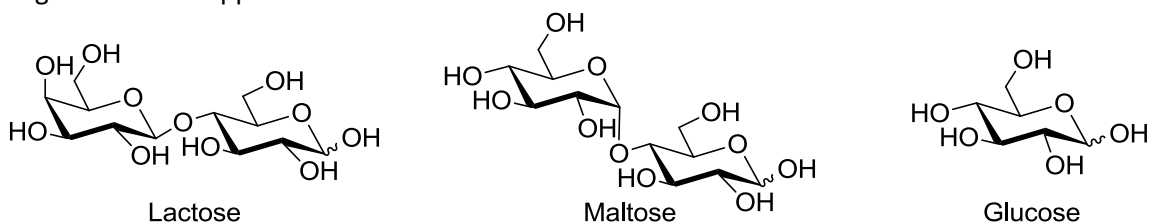


Abb. A2.1: Sesselkonfigurationen von Lactose, Maltose und Glucose.

Maltose und Lactose bestehen aus **zwei** „Sesseln“, Glucose nur aus **einem**. Maltose besteht aus zwei Glucose-„Sesseln“, erkennbar an der Stellung der OH-Gruppen, die sämtlich **äquatorial** stehen (bis auf die OH-Gruppe am reduzierenden Ende, die durch ständige Ringöffnungen und Ringschließungen ein Gleichgewicht beider Orientierungen ausbildet). Bei Lactose sieht man in der Zeichnung oben links eine **axiale** OH-Gruppe, dieser „Sessel“ besteht aus Galactose.

Material zur Arbeitsblatt 2:

Frederik Hendrik van Leent (1894): Einige Untersuchungen über Milchzucker, Galactose und Maltose und ihre Ammoniakverbindungen

Der in Den Haag, Niederlande, geborene Frederik Hendrik van Leent (1866-1935) arbeitete an der Universität Amsterdam zusammen mit zwei Chemikern, die vor allem durch die Keto-Enol-Tautomerie von Zuckern im Alkalischen bekannt wurden, nämlich Cornelis Adriaan Lobry van Troostenburg de Bruyn und Willem Alberda van Ekenstein. Berücksichtigt man die tatsächliche Länge ihrer Namen, so kommt einem „Lobry-de-Bruyn-van-Ekenstein-Umlagerung“ noch gemäÙigt vor.

Seine Dissertation publizierte der Niederländer Frederik Hendrik van Leent im Jahre 1894 an der schweizerischen Universität Basel unter dem Titel „Einige Untersuchungen über Milchzucker, Galactose und Maltose und ihre Ammoniakverbindungen“; darin schreibt er über den Milchzucker: „In konzentriertem wässerigen Ammoniak geht die spezifische Drehung in fünf Tagen von 48,3° zu 30° hinab. Die Lösung aber färbt sich rot und allmählich braun.“ Leider geht van Leent im weiteren Text nicht mehr auf die Rotfärbung ein, und bezüglich der Braunfärbung bleibt zu sagen, dass Louis Camille Maillard seine Untersuchungen mit Zuckern und Aminosäuren erst 18 Jahre nach van Leent veröffentlichte.

Umikoff (1896), Marchetti (1897) und Sieber (1900): Reaktionen von Milch mit Ammoniak und Aminen



Abb. A2.2: Nersess Sacharewitsch Umikoff, 1865-1956, Arzt im Labor des Kaiserlichen Findelhauses St.Petersburg, aus: Umikoff, N.S. in: <http://ru.hayazg.info/> Умиков Нерсес Захарьевич, zuletzt abgerufen am 27.2.2017.

Bereits 1896 hatte Prof. Nersess Umikoff (Abb. A2.1) im Labor des Kaiserlichen Findelhauses in St. Petersburg mit Ammoniak eine Art Qualitätskontrolle für die von Ammen angelieferte Muttermilch entwickelt. Dabei erfand er eine Methode, mit der man über den Lactosegehalt der Muttermilch abschätzen konnte, wie viele Wochen seit Beginn der Laktation vergangen waren: „Frauenmilch nimmt eine je nach dem Alter umso intensivere violetttröthliche Färbung an, während Kuhmilch gelb bis gelbbraun wird...“. Wie Abb. A2.2 zeigt, irrte Umikoff in diesem Punkt: Auch mit Kuhmilch ergibt sich eine Rotfärbung. Dieser Fehler wurde schon 1897 von einem in Florenz arbeitenden Wissenschaftler namens Marchetti (Vorname unbekannt) berichtet: „Die (Umikoff'sche) Reaktion findet sich nicht ausschließlich bei der Frauenmilch, auch Kuhmilch giebt dieselbe bei zwanzig Minuten langer Erwärmung auf 70 °C. Weitere Untersuchungen ergaben, dass die Reaktion auf der Gegenwart von Milchzucker beruht“.

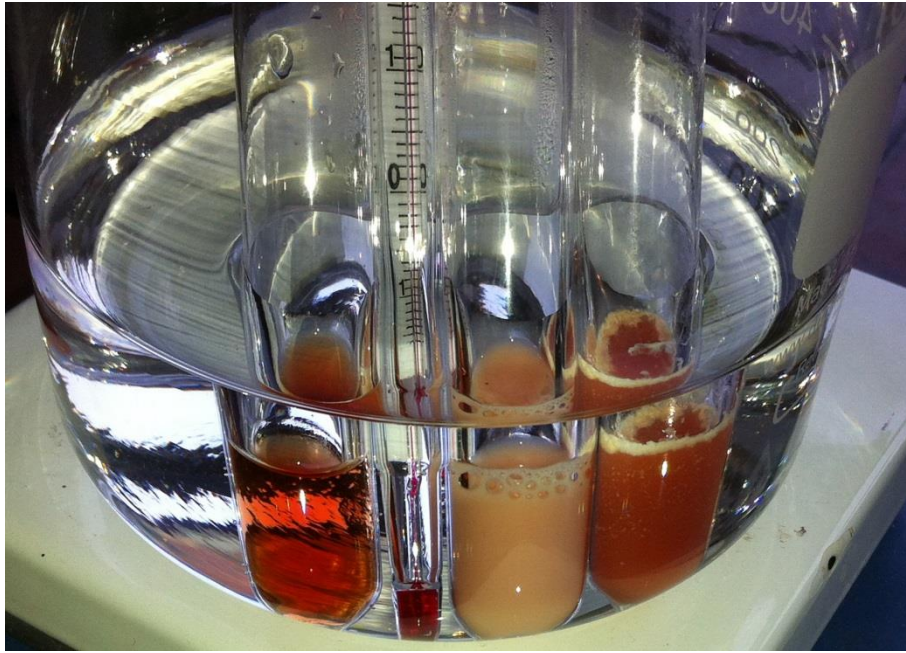


Abb. A2.3: 2,5%ige Lactoselösung (links), Kuhmilch (Mitte), Muttermilch (rechts) mit 10%iger Ammoniaklösung und 3 Tropfen 1 M KOH im 70 °C-Wasserbad.

Drei Jahre später arbeitete die in Samara geborene Nadeschda Olimpievna Ziber-Schumowa, die in Westeuropa als Nadine Sieber bekannt war, im Petersburger Nenski-Labor systematisch mit Muttermilch und verschiedenen Aminen. Dabei stellte sie unterschiedliche Farbreaktionen fest, die sich im Institut für Organische Chemie an der Universität zu Kiel wie in Abb. A2.3 nachvollziehen ließen. In Bezug auf den immer noch im Unklaren liegenden „Wöhlk-Mechanismus“ kann man aus diesen Versuchsergebnissen (die im Wesentlichen eine Bestätigung von sind) schon einmal schlussfolgern, dass zur Bildung des roten Farbstoffs außer Ammoniak auch primäre Amine geeignet sind, die einen elektronenliefernden Rest besitzen (Methylgruppe, Ethylgruppe, Benzylgruppe, ...)

Der Lebenslauf von Nadine Sieber alias Nadeshda Olimpievna Ziber-Shumova (**siehe Abb. A2.4**) ist auf der Homepage der Sächsischen Akademie der Wissenschaften zu finden. Wie sich beim genaueren Lesen herausstellt, handelt es sich um eine Pionierin unter den Wissenschaftlerinnen („First Ladies of the Lab“).



Abb. A2.4: Nadine Sieber alias Nadeshda Olimpievna Ziber-Shumova (Erläuterung siehe Text).












<chem>N</chem> Methylamin		<chem>CCN</chem> Ethylamin	
<chem>CN(C)C</chem> Dimethylamin		<chem>NCCN</chem> Ethylendiamin	
<chem>Nc1ccccc1</chem> Anilin		<chem>Nc1ccccc1</chem> Benzylamin	
<chem>NN</chem> Hydrazin		<chem>Nc1ccccc1NN</chem> Phenylhydrazin	
<chem>C1CCNCC1</chem> Piperidin		<chem>NCC(=O)O</chem> Glycin	
<chem>NC(=O)N</chem> Harnstoff			

Abb. A2.5: Reaktion von Lactose mit verschiedenen Aminen und stickstoffhaltigen Verbindungen (aus Ruppertsberg/Hain 2017 mit freundlicher Genehmigung des Verlags).

Wöhlk 1904: Die Reaktion verschiedener Zucker mit Salmiakgeist

Im Jahr 1904 testete der dänische Apotheker und Pharmazeut Alfred Wöhlk verschiedene Zucker mit 10%iger Ammoniaklösung im heißen Wasserbad, offensichtlich ohne von Umikoff und Sieber zu wissen. Wie er selbst schreibt, hätte er den Versuch fast schon verworfen, wenn er nicht nach einer halben Stunde noch einmal zufällig auf die Reagenzgläser geschaut und zu seinem Erstaunen „eine prachtvolle, lebhaft rote Farbe“ entdeckt hätte. Wöhlk untersuchte daraufhin weitere Zucker sowie hydrolysierte Varianten (s. Abb. A2.6).

Wöhlk: Über eine neue Reaktion auf Milchzucker (und Maltose). 675

Kohlehydrat	Farbennuance nach Erhitzen im Dampfbad während 15—20 Minuten
Reine Glukose	harn gelb.
„ Maltose	krapprot.
Hydrolysierte Maltose*)	stroh gelb.
Lösliche Stärke oder Amylodextrin . .	beinahe farblos.
Hydrolysierte Stärke*)	hell gelb.
Rohes Handelsdextrin	braun.
Hydrolysiertes Handelsdextrin*) . . .	gelbbraun.
Reine Galaktose	gelb.
Reiner Milchzucker	krapprot.
Hydrolysiertes Milchzucker	hell gelb.
Reine Fruktose	gelb.
Hydrolysiertes Rohrzucker*)	lebhaft gelb.
Hydrolysierte Raffinose*)	gelb.
Reine Sorbinose	hell gelb.
Reine Xylose	stroh gelb.
Reine Arabinose	stroh gelb.
Gummi arabicum	farblos.
Hydrolysiertes Gummi arabicum*) . .	gelb.

Abb. A2.6 aus Wöhlk 1904.

Auffällig ist, dass Wöhlk selbst die „prachtvolle rote Farbe“ als „krapprot“ bezeichnet. Krapp ein Farbstoff, der ursprünglich aus der Krapp-Pflanze (*Rubia tinctorium* L.) gewonnen wurde und seit 1869 durch das preisgünstigere Alizarin aus Steinkohleteer ersetzt wurde. Durch den Niedergang des Krapp-Anbaus ging das Wort im Sprachgebrauch nach und nach verloren.

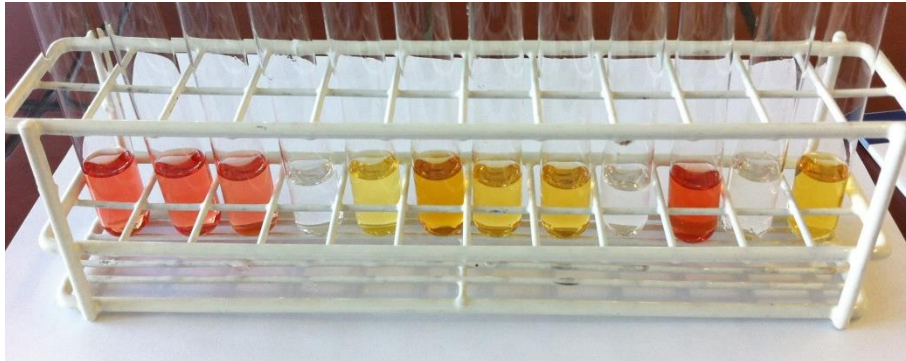


Abb. A2.7: Ergebnis der Wöhlk-Malfatti-Probe von 1%igen Lösungen verschiedener Zucker, von links nach rechts: Lachsrot (RAL 3022) bei Lactose, Maltose, Lactulose und Cellobiose (von links: RG-Nr. 1, 2, 3, 10); andere Zucker ergeben Gelbtöne in verschiedenen Nuancen (hydrolysierte Saccharose, Fructose, Glucose, Galactose, Mischung von Glucose und Galactose, RG-Nr. 5, 6, 7, 8, 12) Die nicht reduzierenden Zucker Saccharose, Trehalose und Gentianose zeigen keine Färbung (RG-Nr. 4, 9, 11).

Die erste Wöhlk-Probe wurde wie folgt durchgeführt: „0,7 bis 0,5 g Milchzucker werden in einem schmalen Reagensglas in 10 cc 10-prozentigem Ammoniak gelöst. Dieses wird danach in ein Dampfbad oder in ein Wasserbad gestellt, das eben zu kochen aufgehört hat (...).“

Malfatti 1905: Verbesserung der Wöhlk-Reaktion

Wenige Monate nach der Publikation von Wöhlk meldet sich der Urologe Hans Malfatti aus Innsbruck mit einer kleinen, aber entscheidenden Verbesserung (siehe Abb. A2.7): Der Zusatz von fünf Tropfen 1-molarer Kalilauge verbessert und beschleunigt die Reaktion, die fortan in unzähligen Arzt- und Krankenhauslabors Anwendung findet, um z.B. eine Schwangerschaftsdiabetes von einer Lactosurie (Milchstau) zu unterscheiden. Die Zugabe von Kalilauge hat folgende Funktionen: Erstens braucht die Wöhlk-Reaktion streng alkalische Bedingungen ($\text{pH} > 11!$) und kann durch sauren Urin oder darin vorhandene puffernde Substanzen (z.B. Phosphate) gefährdet werden, zweitens verkürzt sich dadurch auch der zeitliche Ablauf; dies ist für ein profitabel arbeitendes Labor von Wichtigkeit.

Über den Nachweis von Milchzucker im Harn.

Von

Dr. Hans Malfatti.

Gar nicht selten tritt an den Harnanalytiker die Frage heran, ob eine reduzierende Substanz im Harn Milchzucker oder Traubenzucker sei, oder mit anderen Worten: ob sich im konkreten Falle im Verlaufe der Schwangerschaft Diabetes entwickelt habe, oder ob nur ein harmloser Fall von Laktosurie vorliegt. Im wohleingerichteten Laboratorium ist die Beantwortung dieser Frage gerade keine schwere Aufgabe; die Reindarstellung des Kohlehydrates, das Verhalten im Polarisationsapparat, die Nichtvergärbarkeit mit Apiculatus-Hefe, die Bildung charakteristischer Laktosazone und der Schleimsäure geben Anhaltspunkte genug. Aber schnell und leicht ausführbare und dabei doch zuverlässige klinische Reaktionen auf Milchzucker gibt es bis jetzt nicht. In der Praxis begnügte man sich gewöhnlich mit Anstellung der Gärungsprobe, wobei Milchzucker mit guter Hefe oft mehr als einen Tag lang im warmen Zimmer der Vergärung widersteht. Manche unreine Hefen des Handels aber greifen auch Milchzucker ziemlich rasch an, und wenn neben dem Milchzucker auch etwas Dextrose sich findet, so wird der Nachweis des Milchzuckers oft sehr schwierig. Da nun nach den Untersuchungen von Ch. Porcher und Commandeur¹⁾ vor der Entbindung häufig eine Glykosurie sich findet, die dann allmählich in die Laktosurie nach der Entbindung übergeht, so ist ein solches Vorkommen nicht allzu selten zu erwarten.

In jüngster Zeit hat nun Alfred Woehlk²⁾ eine neue, sehr interessante Reaktion auf Milchzucker angegeben, die darauf beruht,

¹⁾ Compt. r. d. l'Acad. des Sciences 138, pag. 862.

²⁾ Zeitschr. f. analyt. Chemie, Bd. 43, S. 670.

Abb. A2.8: Faksimile Malfatti (Erläuterung siehe Text).

Fearon 1942

Eine verwandte Nachweisreaktion ist der Fearon-Test aus dem Jahr 1942 (benannt nach William Robert Fearon, 1882-1959, Universität Dublin), der sich in Irland, Großbritannien und USA großer Beliebtheit erfreute (s.u.); hier wird allerdings Methylamin anstelle von Ammoniak verwendet. Deswegen wird er auch in Lehrbüchern „Fearons Methylamine Test“ genannt. Bezüglich des Reaktionsmechanismus vertrat Fearon die Ansicht, dass Tests mit Ammoniumhydroxidlösungen „erratic and untrustworthy“ seien, da die Bildung des Farbstoffs wahrscheinlich davon abhängig sei, dass sich aus Ammoniak und Aldehyd erst ein Amin bilde, welches dann in einem zweiten Schritt mit dem Kohlenhydrat reagiere. Fearon hingegen setzt sofort ein primäres Amin ein (statt Methylamin probierte er auch Ethylamin und Hydroxyethylamin mit positivem Ergebnis).

Literatur:

Beyer, H., Walter, W. (1984). Lehrbuch der Organischen Chemie, Hirzel-Verlag, Stuttgart, 668.

Curry, A. (2013). The milk revolution. *Nature* **500**, 20 – 22.

Denisenko, T. V., Golikov, Y. P. (2013). Nadezhda O. Ziber-Shumova: the first Russian woman-Professor of biochemistry. *FEBS Journal* **280**/1, 618.

Fearon, W.R. (1942). The detection of lactose and maltose by means of methylamine, *The Analyst*, **67**, 130 – 132.

Slaby, P. (2016). Gefährdungsbeurteilung zum Experiment: WÖHLK-Probe. www.experimentas.de/experiments/view/1429 (zuletzt abgerufen am 28.06.2016).

Höffeler, F. (2009). Geschichte und Evolution der Lactose(in)toleranz. *Biol. Unserer Zeit* **39**/6, 378 – 387.

Hough, L., Jones, J., Richards, E. (1953). The reaction of amino-compounds with sugars. Part II. The action of ammonia on glucose, maltose, and lactose, *J. Chem. Soc.* **27**/1, 2005 – 2009.

- Malfatti, H. (1905). Über den Nachweis von Milchzucker im Harn. Centralblatt für die Krankheiten der Harn- und Sexualorgane. Georg Thieme Verlag Leipzig, 68 – 71.
- Marchetti (1897). Ueber den praktischen Werth der Umikoff'schen Reaktion und das Wesen derselben. In: Richard Maly's Jahresbericht über die Fortschritte der Thier Chemie, 266 – 267.
- Ochei, J., Kolhatkar, A. (2000). Medical Laboratory Science, Tata McGraw Publishing Company Ltd., New Delhi.
- Ruppersberg, K. (2016). Dem Milchzucker auf der Spur – eine europäische Detektivgeschichte. PdN-ChiS, **65/8**, 30 – 33.
- Ruppersberg, K. (2016). Stärkeverdauung durch Speichel - was kommt eigentlich dabei heraus? Ein einfacher Maltose-Nachweise am Ende der enzymatischen Hydrolyse von Amylose und die überraschende Anwesenheit von Glucose, MNU **69/5**, 325 – 328.
- Ruppersberg, K., Hain, J. (2016). Das Experiment: Wie kann der Lactosegehalt von Milchprodukten im Schulexperiment sichtbar gemacht werden? CHEMKON **23/2**, 90 – 92.
- Ruppersberg, K., Hain, J. (2016). Die Wiederentdeckung der Wöhlk-Probe. Der geheimnisvolle lachsrote Farbstoff. Chem. Unserer Zeit **51/2**. 106 – 111.
- Sieber, N. (1900). Ueber die Umikoff'sche Reaction in der Frauenmilch. Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie, Berlin, **30/1,2**, 101 – 106.
- Fischer, M. (2013). Lebendige Verbindungen. Biobibliographisches Lexikon der Biochemiker zwischen Deutschland und Russland im 19. Jahrhundert. Shaker Verlag, Aachen (Relationes 12), 212 – 216 (online verfügbar unter <http://drw.saw-leipzig.de/31165>, letzter Zugriff am 01.06.2017).
- Siegfried GmbH (Hrsg., 1962). Das Labor des Arztes, Säckingen, 30.
- Struckmeier, S. (2003), Naturfarbstoffe: Farben mit Geschichte. Chem. Unserer Zeit **37/6**, 402 – 409.
- Umikoff, N. (1896). Zur differentiellen Reaction der Frauen- und Kuhmilch und über die Bestimmung der Lactationsdauer in der Frauenbrust. Aus dem chemischen Laboratorium des kaiserlichen Findelhauses in St. Petersburg, Leipzig, Jahrbuch für Kinderheilkunde, S.356 – 359.
- van Leent, F. H. (1894). Einige Untersuchungen über Milchzucker, Galactose und Maltose und ihre Ammoniakverbindungen. Dissertation, Universität Basel, Verlag Mouton & Co., Haag.
- Wöhlk, A. (1904). Über eine neue Reaktion auf Milchzucker (und Maltose). Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, **43/11**, 670 – 679.

Arbeitsblatt 3: Stereochemischer Zugang zur Zuckerchemie (Sek. II)

Aufgabe 3.1: Arbeit mit dem Molekülbaukasten: Bildet eine Gruppe von idealerweise acht Personen und organisiert euch acht Molekülbaukästen (siehe Abbildung A3.1).

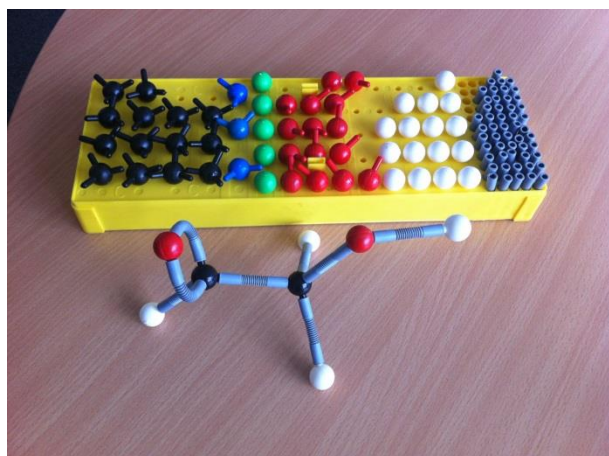


Abb. A3.1: Molekülbaukasten und Modell von Glykolaldehyd.

Aufgabe 3.2: Erstellung der acht D-Aldohexosen (Kettenform)

Sicherlich gibt es viele Möglichkeiten, die acht D-Aldohexosen als Molekülmodelle nachzubauen. Versucht es einmal mit dieser:

Zunächst baut jeder von euch das Modell von Glycolaldehyd (siehe Abbildung). Bei der Doppelbindung ist etwas Geschick erforderlich, die Bindungen müssen vorsichtig gebogen werden und dann erst wird das Sauerstoffatom eingepasst.

Dann trennt ihr die Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung und baut vier weitere C-Atome dazwischen.

Die Kohlenstoffkette wird so ausgerichtet, dass ein C senkrecht unter dem anderen steht. Dabei entsteht eine Rundung, die nach hinten zeigen muss (Fischer-Projektion).

Nun wird die fehlenden Bindungen ergänzt: Zunächst erhält jedes C-Atom eine OH-Gruppe, und zwar nach folgendem Schema:

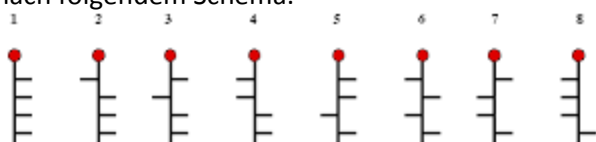


Abb. A3.2: Die acht D-Aldohexosen als Schema.

Die restlichen freien Bindungen werden mit Wasserstoffatomen abgesättigt.

Wenn ihr alles richtig gemacht habt, habt ihr nun die acht D-Aldohexosen in folgender Reihenfolge: Allose, Altrose, Glucose, Mannose, Gulose, Idose, Galactose, Talose.

Mathematiker unter euch werden sicherlich bemerkt haben, dass die Reihenfolge dem Dualsystem folgt: 0000, 0001, 0010, 0011, ...

Die Namen der Aldohexosen kann man sich mit dem Merksatz „Alle alten Glucken möchten gern im Garten tanzen“ merken.

Die C-Atome werden nun neu nummeriert; das am höchsten oxidierte (Doppelbindung O) bekommt die Nummer 1.

(Zur Vollständigkeit: Für das fünfte C-Atom gibt es auch noch die Möglichkeit, dass die OH-Gruppe nach links zeigt. Dann ergeben sich die namentlich entsprechenden acht L-Zucker.)

Aufgabe 3.3: Bildung der Ringform (Halbacetal)

Drehe das kettenförmige Glucosemolekül nun so, dass sich die OH-Gruppe von C-5 an die Aldehydgruppe annähert. Bei der Addition an C-1 gibt es zwei Möglichkeiten: a) von oben, b) von unten. Durch den Wegfall der C=O-Doppelbindung ergibt sich ein neues Asymmetriezentrum, wodurch die beiden Anomeren α -D-Glucose und β -D-Glucose entstehen.

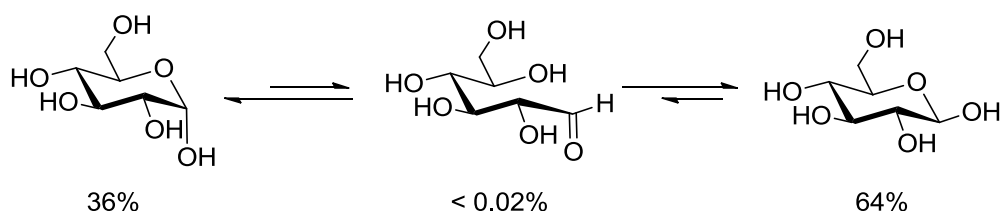


Abb. A3.3: Die offenkettige Glucose-Formel (Mitte, kommt in neutraler wässriger Lösung zu 0,02% vor) geht zu 36% in die α -D-Glucose (links mit OH-Gruppe in axialer Position) und zu 64% in β -D-Glucose (rechts mit OH-Gruppe in äquatorialer Position über (Mutarotation)).

Aufgabe 3.4: Dokumentiert eure Ergebnisse mit einem Smartphone, gestaltet mit den Ausdrucken der Fotos ein Poster und räumt bitte die Molekülbaukästen wieder ordentlich ein! ;-)

Bei den Aufgaben auf diesem Arbeitsblatt geht es darum, handwerkliche Geschicklichkeit im Umgang mit dem Molekülbaukasten zu erlernen und sich mit dem Sachverhalt eingehender zu beschäftigen. Es gibt daher keine Musterlösungen auf kognitiver Ebene, sondern „nur“ haptische Erkenntnisse, die per Fotodokumentation untereinander verglichen werden sollen.

Arbeitsblatt 4: Zuckerlabor (Sek. I)

Mit welchen verschiedenen Zuckern haben wir es im Alltag zu tun?

Wenn du in deiner direkten Umgebung nach *chemisch verschiedenen* Zuckern (Würfelzucker und Zuckerhut sind chemisch identisch) suchst, wirst du schnell fündig: In der Zuckerdose findest du Rübenzucker, in Früchten und Süßigkeiten findest du Frucht- und Traubenzucker, in Milchprodukten findest du Milchzucker, und in Malzbonbons ist Malzzucker.

Ordne den deutschen Worten die Fachworte zu. Vervollständige dann den Rest der Tabelle mit Hilfe des Internets / Chemiebuchs:

Nr.	Deutsches Wort	Fachwort	Summenformel	Fünf-/Sechseckformel
1	Traubenzucker	Glucose (Dextrose)	$C_6H_{12}O_6$	Ein Sechsring
2	Fruchtzucker	Fructose (Lävulose)	$C_6H_{12}O_6$	Ein Fünfring
3	Rübenzucker, Rohrzucker	Saccharose (Sucrose)	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Ein Sechsring, ein Fünfring
4	Malzzucker	Maltose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Zwei Sechsringe
5	Milchzucker	Lactose	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Zwei Sechsringe

Überblick über die Systematik der Zucker

Wenn ein Wissensgebiet sehr umfangreich wird, dann ist es besonders wichtig, eine gute Systematik zu finden. Bestimmt hast du schon gemerkt, dass alle Zucker die Endung –ose haben. Je nachdem, wieviele Fünf- oder Sechsecke zusammen hängen, spricht man von Mono-, Di- oder Polysacchariden. Eine gute Übersicht findest du unter

https://de.wikibooks.org/wiki/Organische_Chemie_für_Schüler/_Kohlenhydrate.

Sammlung wichtiger Nachweisreaktionen:

Obwohl alle Zucker sehr viele Ähnlichkeiten miteinander haben, reagieren sie unterschiedlich. Dadurch kann man sie nachweisen und unterscheiden. Versuche, mit Hilfe des Chemiebuchs oder des Internets etwas über folgende Nachweisreaktionen herauszufinden!

Nr.	Name:	Nachweis für:	Literatur:
1	Urinteststreifen (Apotheke)	Urinteststreifen (Apotheke)	Diabetes, Glucose im Urin
2	Benedict-Reaktion	Benedict-Reaktion	Reduzierende Zucker
3	Lugol'sche Lösung	Lugol'sche Lösung	Stärke
4	Wöhlk-Probe	Wöhlk-Probe	Lactose, Maltose, ...
5	Seliwanow-Probe	Seliwanow-Probe (auch Selivanov, Seliwanoff, wegen Селиванов)	Fructose, Ketohexosen

Vielleicht kannst du in Absprache mit deiner Chemielehrkraft den einen oder anderen Test durchführen. Bitte achte auf Schutzkleidung (Labormantel) und das Tragen der Schutzbrille!

Arbeitsblatt 5: Einführung in die Fotometrie (Sek. I/II)
(In Anlehnung an eine Anleitung aus dem Agnes-Pockels-SchülerInnenlabor)

Mit einem Fotometer kann man die Absorption von bestimmten Wellenlängen des Lichts messen. Wird das Licht einer bestimmten Wellenlänge absorbiert, so wird die Komplementärfarbe sichtbar. In der folgenden Tabelle ist dieser Zusammenhang aufgeführt:

Absorbiertes Licht			Nach Absorption sichtbare Komplementärfarbe
Wellenlänge in nm	Energie in $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$	Farbe	
UV	> 297.5	-	-
400 - 440	297.5 - 270.5	violett	gelbgrün
440 - 480	270.5 - 246.9	blau	gelb
480 - 490	247.9 - 242.8	grünblau	orange
490 - 500	242.8 - 238.0	blaugrün	rot
500 - 560	238.0 - 212.5	grün	purpur
560 - 580	212.5 - 205.2	gelbgrün	violett
580 - 595	205.2 - 200.0	gelb	blau
595 - 605	200.0 - 196.7	orange	grünblau
605 - 800	196.7 - 148.8	rot	blaugrün
IR	> 148.8	-	-

Chemikalien: **Farbige** Lösungen, z.B. Reagenzgläser 8-12 aus Arbeitsblatt 1

Geräte: Fotometer, Küvetten

Info: Informiere dich vor Versuchsbeginn beim **Assistenten** über die Handhabung eines **Fotometers**.

Versuchsdurchführung: *Miss jeweils das gesamte Spektrum von 400 - 600 nm in Abständen von 20 nm und notiere die Messwerte in der Tabelle (s.u.).*

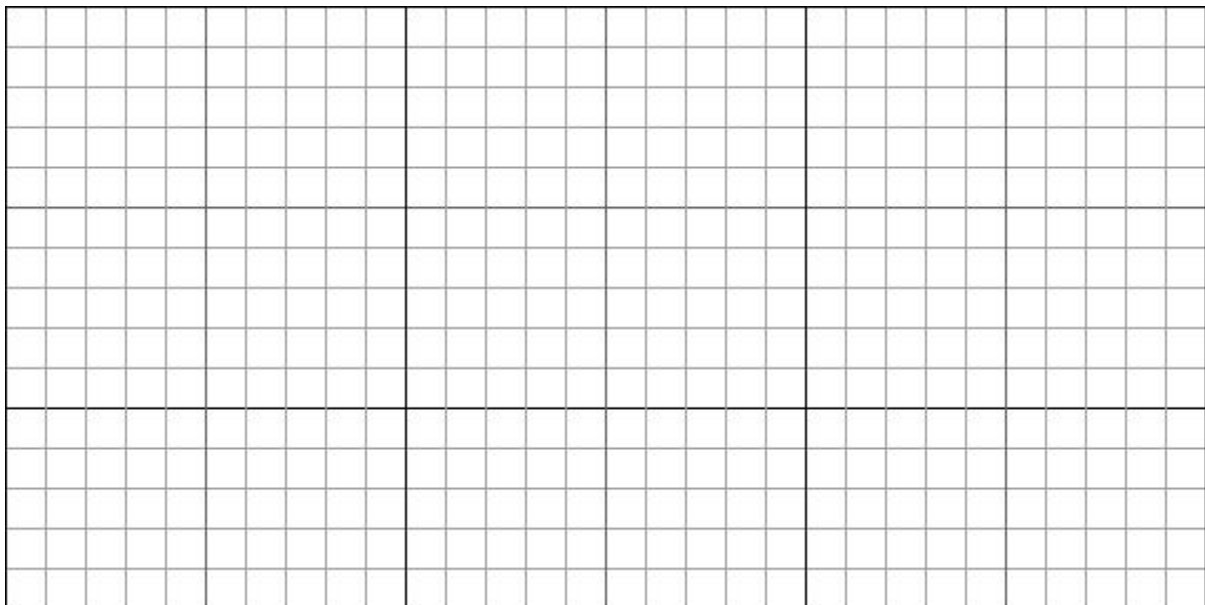
Messwerte:

Substanz: _____

λ [nm]										
A [%]										

Auswertungsaufgaben:

1. Erstelle mit deinen Messwerten einen Graphen (A vs. λ) und deute den Kurvenverlauf!



Musterlösungen siehe im Text des Artikels: Abbildungen 3a, 3b, 8, 9.

Arbeitsblatt 6: Warum können einige Menschen Milchzucker vertragen, andere hingegen nicht? (Sek. I/II)

Aufgabe 6.1: a) Finde anhand von Abbildung A6.1 heraus, an welchen vier geografischen Bereichen es Populationen gibt, in denen mehr als 90% der Menschen auch nach dem Kleinkindalter noch Lactose vertragen! b) Nicht abgebildet sind Nord- und Südamerika. Welche Verteilung würdest du hier erwarten und warum?

a) Europa, Westafrika, Saudi-Arabien/ Ostafrika, Mittlerer Osten.

b) Da Nord- und Südamerika mehrheitlich von Einwanderern aus Europa bevölkert werden und die Ureinwohner nur eine geringe Rolle spielen, ist eine ähnliche Lactoseverträglichkeit wie in Europa zu erwarten.

Aufgabe 6.2: a) Menschen, die nach dem Kleinkindalter noch Milch vertragen, nennt man lactasepersistent. Versuche, mit Hilfe einer Lehrkraft für Latein oder mit einem Nachschlagewerk herauszufinden, was das Fremdwort bedeutet! b) Warum ist lactasepersistent eine genauere Bezeichnung als lactoseintolerant?

persistere = andauern. Bis vor ca. 7500 Jahren konnten nur Neugeborene und Kleinkinder Milch vertragen; das Lactase-Gen wurde gegen Ende des Kleinkindalters abgeschaltet. Durch Genmutationen in der Jungsteinzeit dauert die Lactaseproduktion bei einigen Menschen an, anstatt aufzuhören. Daher ist lactasepersistent eine zutreffendere Unterscheidung als lactoseintolerant. Lactoseintolerant im engeren Sinne sind Säuglinge, die durch eine andere Mutation von Geburt an keine Milch vertragen.

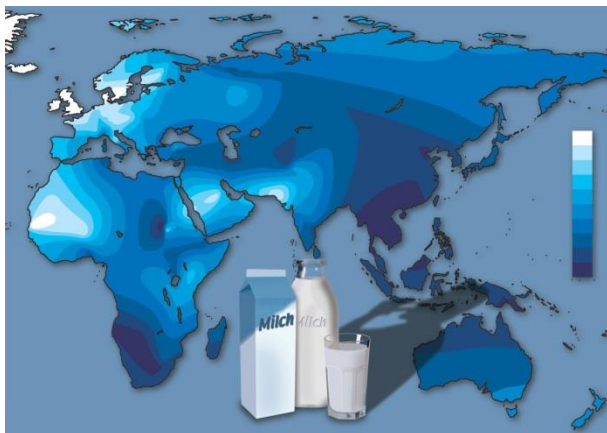


Abb. A6.1: Prozentsatz erwachsener Menschen, die Milch vertragen können (aus: Höffeler, F., Abbildung mit freundlicher Genehmigung des Verlages)

Warum haben Menschen Milchwirtschaft betrieben, wenn gar nicht alle die Milch vertrugen?

Für die nach Norden ziehenden Jungsteinzeitmenschen war jede Nahrungsquelle wichtig. Im nordeuropäischen Winter gab es kaum Nahrungsmittel außer dem mitgeführten Milchvieh, das sich Heu ernähren konnte und eine vitaminreiche und nahrhafte Milch produzierte -also ein ganz klarer Vorteil für eine lactasepersistente Population! Zusätzlich haben sie einen Trick angewendet: sie haben die Milch so weiterverarbeitet, dass sie auch für den nicht-lactasepersistenten Bevölkerungsanteil verträglich wurde, z.B. in Form von Käse. Dass vor 7500 Jahren schon Käse in Mittel-Osteuropa hergestellt wurde, beweist der Fund eines neolithischen Käsesiebes auf einem Ausgrabungsfeld in Südostpolen, der zwar schon 1970 stattfand, aber erst im Jahre 2011 von der Geochemikerin Mélanie Roffet-Salque an der Universität Bristol ausgewertet wurde: Sie fand nämlich massenhaft Spuren von Milchfett auf der neolithischen Tonscherbe (Abb. A6.2)!



Abb. A6.2: Neolithische Tonscherbe, die Teil eines Käsesiebes war. Abbildung mit freundlicher Genehmigung von Mélanie Roffet-Salque, University of Bristol (Erläuterungen siehe Text).

Aufgabe 6.3: Vergleiche den Lactosegehalt dieser „klassischen“ Käsesorten und versuche, eine Regel aufzustellen, nach der man den Lactosegehalt vorhersagen kann!

Produkt	Lactosegehalt in g / 100 mL
Doppelrahmfrischkäse, 60% Fett	2,5
Emmentaler, 45% Fett	< 0,1
Friskkäse, Doppelrahm 60-85% Fett	2,6
Friskkäse, Rahm, 50% Fett	3,4
Mittelalter Gouda, 45%	< 0,1
Harzer Käse	< 0,1
Hüttenkäse	3,3
Kochkäse, 0-45% Fett	3,3-3,9
Parmesan	< 0,1
Schmelzkäse	2,8 – 6,5

Tabelle nach: <http://jucknix.de/laktosegehalt-von-kaeseprodukten/>

Einige Käsesorten enthalten herstellungsbedingt auffällig viel Lactose, das sind z.B. Harzer Käse und Schmelzkäse. Weiterhin fällt auf, dass der Lactosegehalt offensichtlich mit dem Alter des Käses zusammenhängt: Frischkäse enthält mehr Lactose als alter, gereifter Käse (z.B. Parmesan). Dies lässt sich durch mikrobielle Prozesse erklären, durch die die Lactose im Laufe der Zeit abgebaut wird.

Aufgabe 6.4: Neuerdings gibt es auch lactosefreie Käsesorten, in denen aber Galactose auftaucht. Erkläre anhand des Reaktionsschemas in Abb. A6.3, warum Galactose auftaucht und warum das für Menschen mit Galaktosämie gefährlich ist (<https://de.wikipedia.org/wiki/Galaktosämie>).

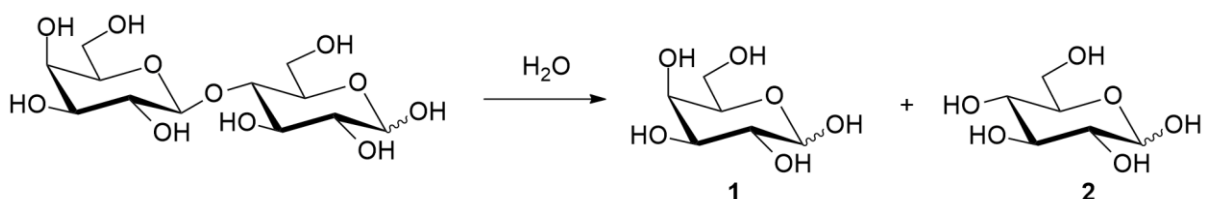


Abb. A6.3: Hydrolytische Spaltung von Lactose (links) in Galactose (Mitte) und Glucose (rechts).

Wie der Reaktionsgleichung und dem Bildtext zu entnehmen ist, wird ein Molekül Lactose in jeweils ein Molekül Galactose und Glucose gespalten. Eine Vollmilch, die z.B. ursprünglich 2,5% (w/w) Lactose enthalten hat, besitzt dann als (zu Recht süßer empfundene) lactosefreie Milch 1,32% (w/w) Glucose und 1,32% (w/w) Galactose. (Der Zuwachs in Gewichtsprozent ergibt sich aus der Anlagerung von Wasser bei der Hydrolyse.) Galactose kann bei Menschen mit Galactosämie zu schwerwiegenden Folgen führen, z.B. irreversible Schädigung innerer Organe und des Nervensystems. Das würde auch bei Einnahme von lactosehaltiger Milch geschehen, vor der die Kranken aber gewarnt sind; jedoch durch den verschleiern den Begriff „lactosefrei“ könnte es zu gefährlichen Missverständnissen kommen. Für Menschen mit Galactosämie wäre es daher wichtig, wenn die Kennzeichnung so erfolgen würde: „Lactosefrei – enthält Galactose“.

Literatur:

Curry, A. (2012). The milk revolution. In: Nature **500**, 20 – 22; Karte: Leonardi, M. et al. (2013). The evolution of lactase persistence in Europe. In: International Dairy Journal **22**, 88 – 97.

Höffeler, F. (2009). Geschichte und Evolution der Lactose(in)toleranz. Biol. Unserer Zeit **39/6**, 378 – 387

Lomer, M. C. E., Parkes, G. C., Sanderson, J. D. (2008). Review article: lactose intolerance in clinical practice – myths and realities. Alimentary Pharmacology & Therapeutics **27/2**, 99.

Salque, M., Bogucki, P. I., Pyzel, J., Sobkowiak-Tabaka, I., Grygiel, R., Szmyt, M., Evershed, R. P. (2012). Earliest evidence for cheese making in the sixth millennium BC in northern Europe. Nature **493/7433**, 522 – 525.