peDOCS
Open Access Erziehungswissenschaften

DIPF

Kussler, Manfred W.; Ruppersberg, Klaus

Über die rote Farbe bei Zuckernachweisen. Nachweisreaktionen für 1,4-verknüpfte Disaccharide

formal überarbeitete Version der Originalveröffentlichung in:
formally revised edition of the original source in:
Nachrichten aus der Chemie 71 (2023) 4, S. 68-73

Bitte verwenden Sie in der Quellenangabe folgende URN oder DOI /
Please use the following URN or DOI for reference:
urn:nbn:de:0111-pedocs-288550
10.25656/01:28855

https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-pedocs-288550
https://doi.org/10.25656/01:28855

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

Mitglied der Leibniz-Gemeinschaft

Über die rote Farbe bei Zuckernachweisen

Nachweisreaktionen für 1,4-verknüpfte Disaccharide

Klaus Ruppersberg, Manfred W. Kussler

Zusammenfassung: 1,4-verknüpfte Disaccharide reagieren mit Ammoniak und ausgewählten Aminen zu einem roten Farbstoff. Diese nasschemischen Nachweise sind aussagekräftiger als die Fehling-Reaktion oder die Schiff'sche Probe und eignen sich daher besser für Schule und Ausbildung. Der Farbstoff ist allerdings instabil, zu Struktur und Reaktionsmechanismus gab es bisher nur Hypothesen, nun gibt es Fortschritte.

Abstract: 1,4-linked disaccharides react with ammonia and selected amines to form a red dye. These wet-chemical detection reactions are more conclusive than the Fehling reaction or Schiff's test and is therefore better suited for school and training purposes. However, the dye is unstable, and until now there have only been hypotheses about its structure and reaction mechanism. But now progress is being made.

1 Einführung

Obwohl die Nachweisreaktionen auf Lactose und Maltose mit Ammoniak nach Wöhlk[1)] und mit Methylamin nach Fearon[2)] aus den Jahren 1904 beziehungsweise 1942 stammen, war die Struktur der dabei entstehenden roten Farbstoffe bisher unbekannt. Kaum jemand interessierte sich für einen fragilen Farbstoff und eine Nachweisreaktion, die Nachweismethoden mit HPLC, MS, Diodenarray-Detektor (DAD) und Elektrospray-Ionisation (ESI) unterlegen ist.

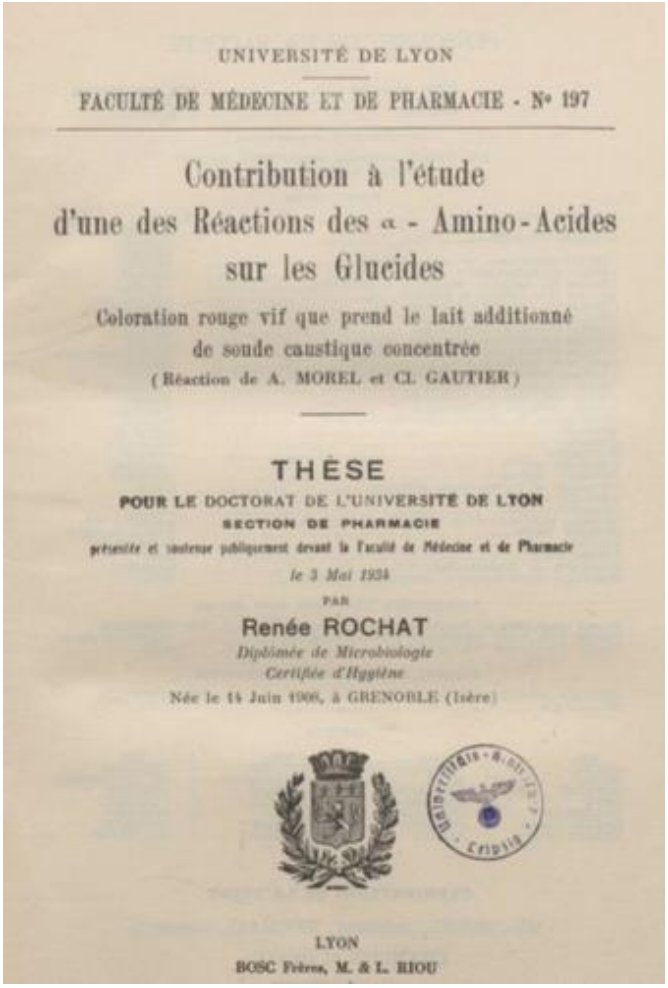
Allerdings finden die modernen Methoden allesamt in einer Blackbox statt. Ausbildung und Schule greifen daher auf die nasschemischen Nachweise aus den Anfängen der naturwissenschaftlichen Forschung zurück, um das Verständnis zu fördern. Ein Beispiel ist die Fehlingprobe aus dem Jahr 1848. Deren Aussagekraft übertreffen allerdings die Wöhlkprobe und deren Weiterentwicklungen.[2,3)] Darüber hinaus könnte die Reaktion interessant sein zur preiswerten Herstellung von Heterocyclen aus Lactose, die die chemisch-pharmazeutische Industrie als Grundstoffe braucht.

Der rote Farbstoff ist allerdings so fragil, dass er sich zunächst weder extrahieren noch analysieren lässt. Die Frage nach seiner Struktur blieb unbeantwortet. Inzwischen wurde eine Konstitution gefunden, die alle experimentellen Ergebnisse hinreichend und zufriedenstellend erklärt.

Wie Wöhlk im Jahr 1904 herausfand,[1)] bildet sich bei Einwirkung von Ammoniak auf Milch nach einiger Zeit ein lachsroter Farbstoff (λ_{max} = 527 nm), der charakteristisch für Lactose und Maltose ist. Im Jahr 1942 berichtete Fearon[2)] ebenfalls über einen lactosespezifischen Farbtest, für den er anstatt Ammoniak Methylamin verwendete. Dabei entsteht ein kirschroter Farbstoff (λ_{max} = 541 nm).

Wie Krüger[4)] sowie Gautier und Morel[5)] unabhängig voneinander zeigten, reagieren auch Aminosäuren mit Lactose zu einem roten Stoff (λ_{max} = 555 nm), wenn starke Alkalibasen auf Milch einwirken. Hier geht die Farbreaktion auf Glycin und Lysin aus dem Casein der Milch mit Lactose und deren Maillard-Produkten zurück. Die anderen im Casein enthaltenen Aminosäuren bilden keinen roten Farbstoff.

Diese Gautier-Morel-Reaktion untersuchte Rochat[6)] nochmals (Abb. 1). Renée Rochat (1909 – 1982) fand in ihrer nicht weiter zitierten Arbeit heraus: Nicht nur Lactose und Maltose, sondern auch ein weiteres 1,4-verknüpftes Disaccharid, die Cellobiose, ergeben mit bestimmten Aminen den roten Farbstoff. Cellobiose entsteht im Magen von Wiederkäuern beim Celluloseabbau.



UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 197

Contribution à l'étude
d'une des Réactions des α - Amino-Acides
sur les Glucides

Coloration rouge vif que prend le lait additionné
de soude caustique concentrée
(Réaction de A. MOREL et CL. GAUTIER)

THÈSE
POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON
SECTION DE PHARMACIE
présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie
le 3 Mai 1934
PAR
Renée ROCHAT
Diplômée de Microbiologie
Certifiée d'Hygiène
Née le 14 Juin 1906, à GRENOBLE (Isère)

LYON
BOSC Frères, M. & L. RIOU

Abb. 1: Dissertation von Renée Rochat aus dem Jahr 1934.

2 Hoher pH-Wert

Alle Arbeiten enthalten bereits Kriterien für die Bildung der roten Farbstoffe. Trotzdem blieben Struktur und Mechanismus zu deren Entstehung unbekannt. Mit ein Grund dafür ist, dass sie nur im alkalischen Milieu hinreichend stabil sind und sich beim Ansäuern zersetzen. Sie lassen sich auch nicht mit Benzol, Ether oder Chloroform ausschütteln und zerfallen auf mit ammoniak- oder amin-imprägnierten SiO_2- und Al_2O_3-Schichten, eignen sich also nicht für die Dünnschichtchromatographie. Die niedrige Ausbeute, die wir durch Auswertung der Farbbanden auf unter ein Prozent schätzen, könnte ebenfalls ein Faktor sein (Abb. 2).

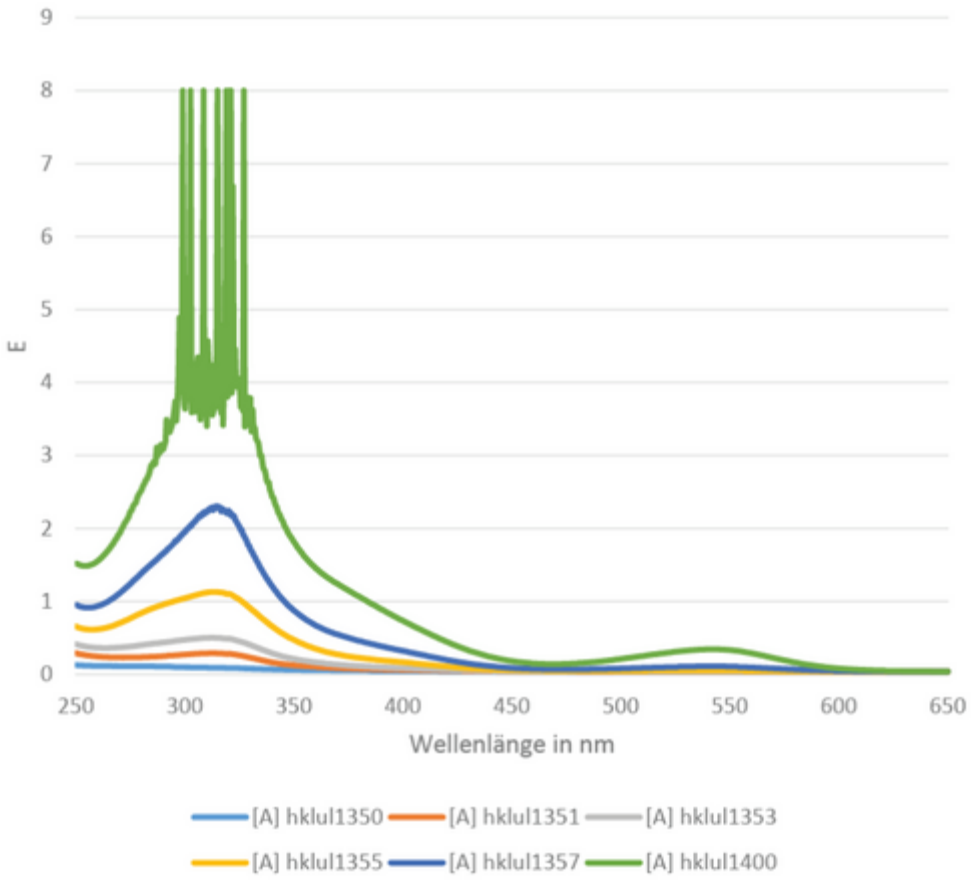


Abb. 2: Erst wenn die Werte im UV-Bereich verrauscht sind, ist im Sichtbaren Absorption zu beobachten: Experiment in Heizküvette (hk) mit Lactulose (lul) und Methylamin zu angegebenen Uhrzeiten bei 65 °C.

Obwohl die Farbe beim Wöhlktest später erscheint als bei der Fearonprobe, sind die Farbstoffausbeuten nahezu gleich, je nach verwendetem Amin teilweise höher. Dies gilt auch für die Reaktion mit Zuckern, die in der Reihenfolge Alkylidenglucose > Ketose > Aldose unterschiedlich schnell zum Farbstoff führen. Auch hier sind die Ausbeuten ähnlich (Tab. 1). Es muss also ein stabiles Chromogen als Zwischenprodukt entstehen, aus dem dann der Farbstoff resultiert.

Tab. 1. Farbeintritt, Farbreifung und Intensität des Wöhlk- und des Fearonfarbstoffs.

Beschreibung Wöhlktest	Menge [mg]	Farbeintritt nach Minute	Farbreifung nach Minute	Farbe	Intensität bei λ_{527}
4,6-O-Ethylidenglucose	4	5	6	lachsrot	+
4,6-O-Benzylidenglucose	4	5	6	lachsrot	++
Lactose	8	9	12	lachsrot	++
Lactulose	8	6	7	lachsrot	+++
Beschreibung Fearontest	**Menge [mg]**	**Farbeintritt nach Minute**	**Farbreifung nach Minute**	**Farbe**	**Intensität bei λ_{541}**
4,6-O-Ethylidenglucose	4	2	3	kirschrot	++
4,6-O-Benzylidenglucose	4	2	3	kirschrot	+++
Lactose	8	4	5	kirschrot	++
Lactulose	8	2	3	kirschrot	++

3 Wann es rot wird

Als Zucker, die bei der Reaktion mit Aminoverbindungen einen roten Farbstoff bilden, kommen bisher nur 4-O-substituierte Glucosen und 4,6-O-Alkylidenglucosen in Frage. Eine Farbreaktion ergeben:[3)]

1. 1,4-verknüpfte Aldosen wie Lactose, Maltose und Cellobiose sowie Maltotriose,
2. die dazu korrespondierenden Ketosen Lactulose und Maltulose,
3. 4,6-O-geschützte Zucker wie 4,6-O-Benzyliden- und 4,6-O-Ethylidenglucose.

Sie reagieren mit Ammoniak (Wöhlktest) und einigen primären aliphatischen Aminen und Aminosäuren (Fearontest und Variationen) zum roten Farbstoff. Die Amine und Aminosäuren müssen folgende Kriterien erfüllen:

1. Zwischen dem Stickstoffatom und dem restlichen Substituenten muss sich eine Methylengruppe als Spacer befinden.
2. Aliphatische Diamine müssen mindestens fünf Methylengruppen zwischen beiden Stickstoffatomen aufweisen.

Zudem sind Temperatur und pH-Wert entscheidend: Das Temperaturoptimum liegt bei 65 °C; bei höheren Temperaturen entsteht störendes Melanoid, bei geringeren Temperaturen ist die Reaktion zu langsam: Was bei 65 °C in zehn Minuten erreicht ist, dauert bei 55 °C fast eine halbe Stunde. Eine Ausnahme ist die Kombination von Lactulose und 1,6-Diaminohexan, diese führt bereits bei Raumtemperatur zum roten Farbstoff.[3)] Gemäß Nickersons Protokoll[7)] und eigenen Experimenten liegt der optimale pH-Wert bei 12,8 ± 0,1 (Abb. 3)).

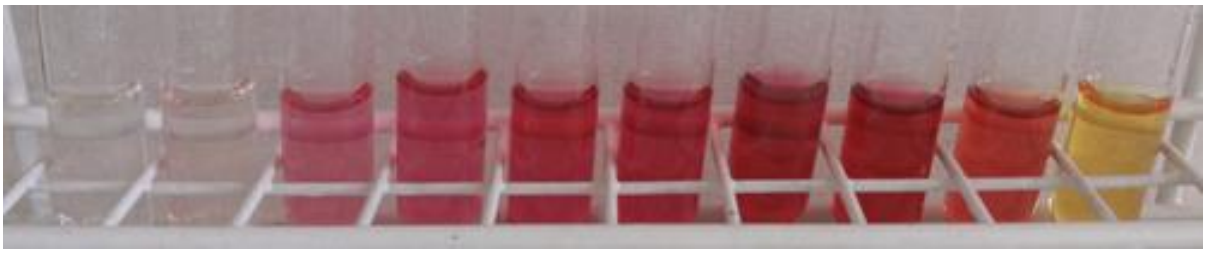


Abb. 3: Die zehn Proben aus dem Nickerson-Experiment mit pH 11,7 (ganz links), bis pH 13,29 (ganz rechts). Der optimale pH-Wert liegt bei 12,8 (fünfte Probe von links).

4 Nickersons Experiment

Um Klarheit zu finden, haben wir das Experiment von Nickerson aus dem Jahr 1976 an der Universität Flensburg mit zehn Proben wiederholt (Abb. 4).

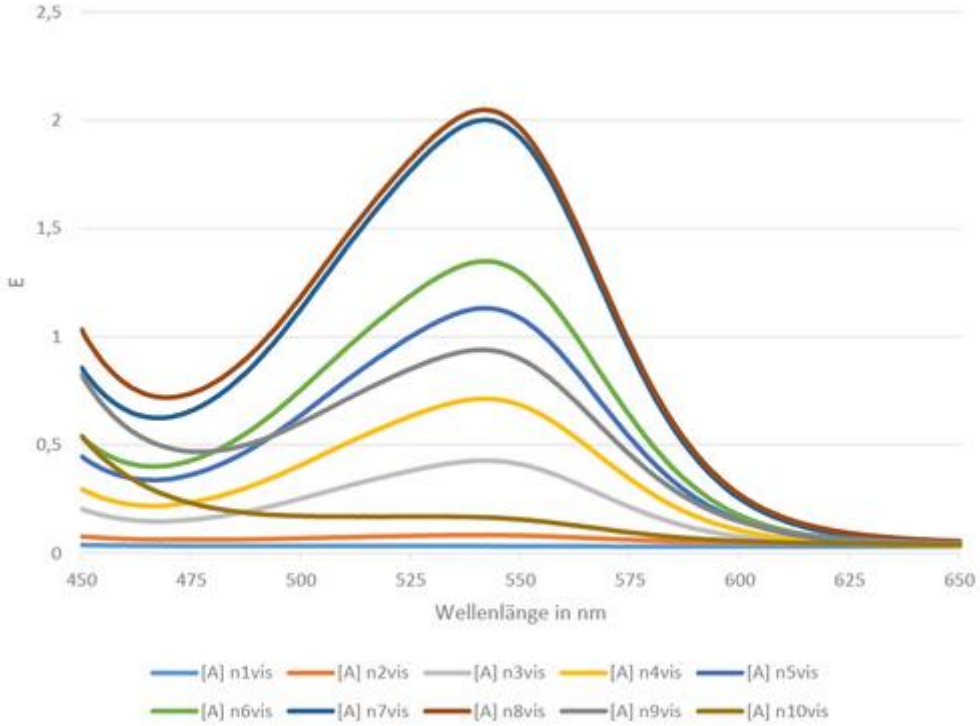


Abb. 4: Absorption der Proben 1 bis 10 im Vis-Bereich.

Probe 6 wurde aus Standardlösungen zubereitet, für stärker saure Lösungen wurde Salzsäure ($c = 0{,}5\ mol \cdot L^{-1}$) hinzugetropft, für stärker alkalische Natronlauge ($c = 4\ mol \cdot L^{-1}$).

Nach einer Farbreifung von 20 Minuten im Wasserbad bei 65 °C wurden alle Proben mit jeweils zirka 30 mg Natriumsulfit versetzt, um die Farbe zu stabilisieren.

Erst ab Probe 3 (pH 12,50) zeigt sich im UV-Vis-Spektrum ein Maximum bei 541 nm. Dieses Maximum vergrößert sich bis zu Probe 8 (pH 13,15) und sinkt wieder bei den Proben 9 und 10 (pH 13,25 beziehungsweise 13,29).

Für die Herstellung und Nutzung von Fertiglösungen bedeutet dies: Der pH-Wert der Lösung ist mit einem kalibrierten pH-Meter zu prüfen.

Um die Korrelation von Maxima im UV-Bereich zu zeigen, wurde die Absorption zwischen 250 und 650 nm gemessen. Im UV-Bereich liegt diese weit über eins, sodass die Proben mit Natronlauge verdünnt werden mussten ($c = 0{,}1\ mol \cdot L^{-1}$, Verdünnung 1:3), um diesen Bereich zu messen.

Die orangerote Mischfarbe bei pH 12,5 deutet darauf hin, dass sich ab diesem Wert Farbstoff bildet. Doch warum ist ein so stark alkalisches Milieu dafür notwendig? Nach Pischetsrieder[8)] führt die Umsetzung von Maltose bei pH 5 über 3-Desoxyglucoson zu sauerstoff- und stickstoffhaltigen Heterocyclen, in denen das zweite Zuckermolekül noch als Ether gebunden vorhanden ist. Die Reaktion bei pH 7 und pH 9 verläuft hingegen über 1-Desoxyglucoson und ergibt ungefähr die gleiche Produktverteilung sowie ein Produkt ohne Zuckerrest. Bei pH > 9 verläuft die Reaktion gemäß Schoetter[9)] hauptsächlich über 4-Desoxyglucoson (4-DG). Nur bei diesem pH-Wert bilden sich Zwischenprodukte, die sich als Donormolekül für ein Chromophor eignen.

Nach Nickerson[7)] soll die Temperatur zwischen 60 und 70 °C liegen, denn unterhalb 60 °C bildet sich der Farbstoff langsamer, und es können durch Umlagerungen und Fragmentierung Nebenprodukte entstehen. Oberhalb 70 °C hingegen färbt sich die Lösung infolge Melanoidbildung braun.[3)]

5 Zwischenstufen auf dem Weg zum Farbstoff

Wenn starke Basen auf Saccharide einwirken, bilden sich bereits bei 25 °C reaktive 1-, 2-, 3– und 4-Desoxyglucosone, die zu isomeren Saccharinsäuren reagieren, wenn nicht weitere Nukleophile zugegen sind. 4-O-substituierte Glucosen reagieren hier ausschließlich über 4-DG zu Isosaccharinsäure.[10,11)] Da allein diese Zucker die roten Farbstoffe ergeben, ist 4-DG vermutlich die erste Zwischenstufe bei der Farbstoffbildung.

Aus dem Amin wird durch Strecker-Abbau Ammoniak gebildet, der dann mit einem Zwischenprodukt zum Farbstoff reagiert. Wie Harding[12)] zeigt, werden bei der Umsetzung von Alloxan mit Aminoverbindungen zu Murexid sowie von Ninhydrin zu Ruhemanns Purpur nur Amine mit einer Methylenspacergruppe oxidativ abgebaut.[12)] Dabei wird ein Aldehyd eliminiert, und ein Farbstoff entsteht.

Bei der Umsetzung von Ethyluramil mit Alloxan zu Murexid wies Möhlau[13)] einen reduktiven Strecker-Abbau nach, bei dem die Ethylgruppe als Ethanol eliminiert wird. Die Abspaltung von Alkoholen anstatt eines Aldehyds wurde mehrfach bei der Reaktion primärer Amine mit Ninhydrin zu Ruhemanns Purpur nachgewiesen.

Die UV-Vis-Spektren von Murexid und einem aus Dehydroascorbinsäure und Aminen entstandenen roten Pigment[14,15)] sind nahezu identisch mit dem Spektrum des Wöhlkfarbstoffs.[16)] Ansäuern und Neutralisieren zersetzen auch diese Farbstoffe.

5.1 Wie die Farbstoffe entstehen: Der Wöhlkfarbstoff

Die 4-O-substituierten Aldosen kondensieren vermutlich zunächst mit Ammoniak oder einem primären Amin zum entsprechenden Aldimin, das sich spontan in das korrespondierende Amadoriprodukt umlagert (Abb. 5).

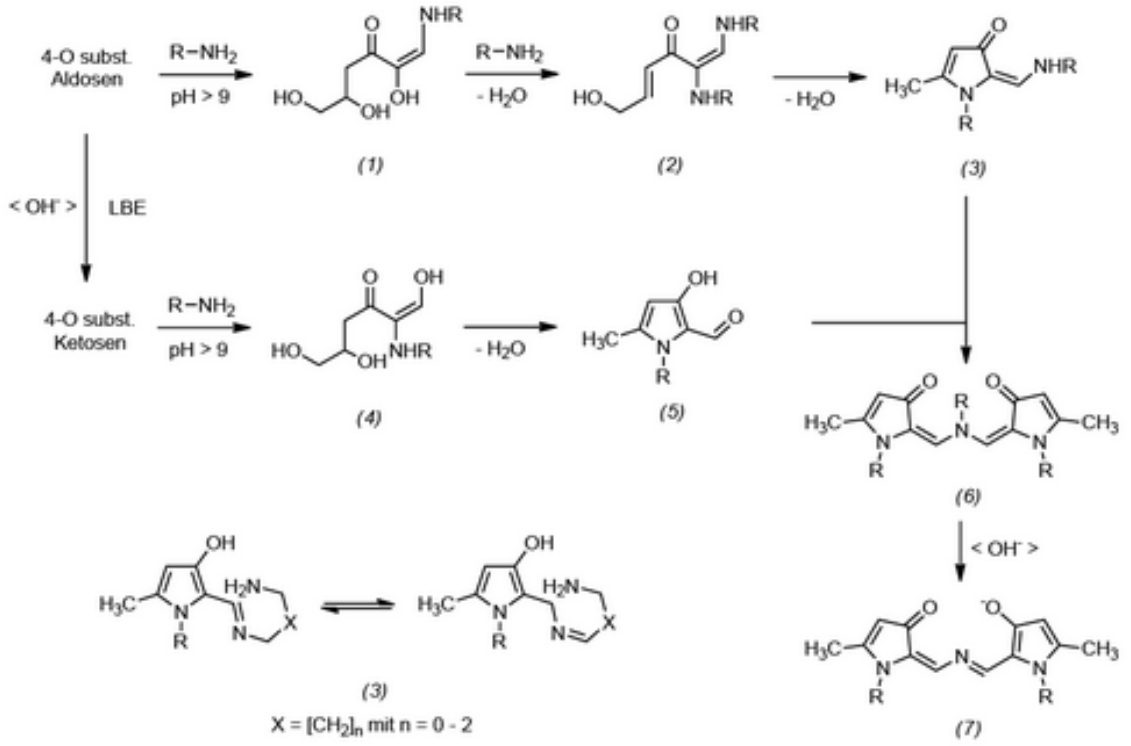


Abb. 5: Entstehung der fragilen roten Farbstoffe; LBE: Lobry-De-Bruyn-Van-Ekenstein-Umlagerung, Wöhlkfarbstoff: R=H, Fearonfarbstoff: R= Alkyl.

Die basenkatalysierte Eliminierung des zweiten Zuckermoleküls oder der Schutzgruppe führt zu Aminoredukton (*1*). Die Kondensation mit einem weiteren Molekül Ammoniak oder Amin und die anschließende Wasserabspaltung über die 4,5-Position führen zum reaktiven Dienon *(2)*. In einer Michael-Addition greift der Aminostickstoff in der 2-Positon nukleophil an der C-C-Doppelbindung an und ergibt nach nochmaliger Wasserabspaltung Enaminoketon *(3)*.

Der nukleophile Angriff des Aminostickstoffs aus der 1-Position an der C-C-Doppelbindung könnte zwar zu einem Sechsring führen, würde aber kein Chromogen erzeugen.

Analog verläuft die Reaktion der aus Aldosen infolge einer Lobry-De-Bruyn-Van-Ekenstein-Umlagerung resultierenden Ketosen über 2-Aminoredukton *(4)* zu Hydroxyaldehyd *(5)*. Die Kondensation von *(3)* mit *(5)* oder von zwei Molekülen *(5)* mit einem Amin oder Ammoniak führt zu Bisenaminoketon *(6)*. Über derartige Kondensationen mit Ammoniak hatten bereits Claisen und Benary berichtet, aber erst Ollinger[17)] erkannte die leichte Deprotonierbarkeit und die Indikatoreigenschaften der daraus resultierenden Verbindungen. Diese absorbieren je

nach Donorstärke zwischen 460 und 538 nm. Die ε_{max}-Werte sind dabei teilweise recht niedrig: zwischen 40 700 und 64 500 L· mol^{-1} · cm^{-1}

Beim Wöhlkfarbstoff (R=H) hat das Bisenaminoketon *(6)* in der *meso*-Position einen sekundären Aminostickstoff, der leicht zu einem Chromophor deprotonierbar ist. Der Wöhlkfarbstoff hat demzufolge die Konstitution *(7)* mit R=H.

5.2 Der Fearonfarbstoff

Anders als beim Wöhlkfarbstoff ist beim Fearonfarbstoff der *meso*-Aminostickstoff tertiär und lässt sich nicht deprotonieren. Die Alkylgruppe wird hier möglicherweise als Alkohol abgespalten, wie dies auch in anderen Fällen zu beobachten ist. Der Mechanismus dafür ist bisher unbekannt.

Fearonfarbstoffe hätten somit ebenfalls die Struktur *(7)* mit R=Alkyl (Abbildung 5, S. 70). Dass die Fearonreaktion mit primären Aminen ohne Methylenspacergruppe keinen Farbstoff ergibt, lässt sich mit dem vorgeschlagenen Mechanismus ebenfalls verstehen. Denn ist der Rest R in Enaminoketon *(3)* eine verzweigte Alkylgruppe ohne Methylenspacer, so dürfte aufgrund sterischer Hinderung keine Reaktion mit *(5)* zum tertiären Amin *(6)* stattfinden. Sollte sich das tertiäre Amin dennoch bilden, wäre die Abspaltung der verzweigten Alkylgruppe aufgrund sterischer Faktoren zumindest erschwert.

Mit Diaminen, die weniger als fünf Methylengruppen zwischen beiden Stickstoffatomen aufweisen, entstehen keine Farbstoffe. Dies ist dadurch erklärbar, dass die Zwischenprodukte *(3)* infolge des nukleophilen Angriffs der zweiten Aminogruppe an der C-N-Doppelbindung bevorzugt mit sich selbst zu fünf-, sechs- und siebengliedrigen vollständig hydrierten Heterocyclen reagieren. Diamine mit fünf Methylengruppen wie Cadaverin sowie mit sechs Methylengruppen zwischen beiden Stickstoffatomen wie Hexamethylendiamin und Lysin würden bei gleichem Reaktionsverlauf zu noch größeren Ringsystemen führen, was weniger wahrscheinlich ist. Bei diesen Diaminen ist daher wieder die kirschrote Farbe zu beobachten.

Da die Analyse der stark basischen Farbstofflösungen mit RP-HPLC-DAD-MS/MS gerätebedingt nicht möglich ist, wird sie mit neutralisierten Proben durchgeführt. Dabei hydrolysieren die Farbstoffe jedoch. Im Chromatogramm mit UV-Detektion (280 nm) zeigt sich bei allen Testreaktionen nur ein Hauptpeak mit Maxima bei 333 und 267 nm. Das Hydrolyseprodukt des Fearonfarbstoffs mit R=CH_3 zeigt im Massenspektrum den Molekülpeak $[M+1]^+$ mit der Massenzahl m/z 140,1. Das entspricht der Summenformel $C_6H_6O_2(NCH_3)$. In Frage kommen die Verbindungen in Abb. 6.

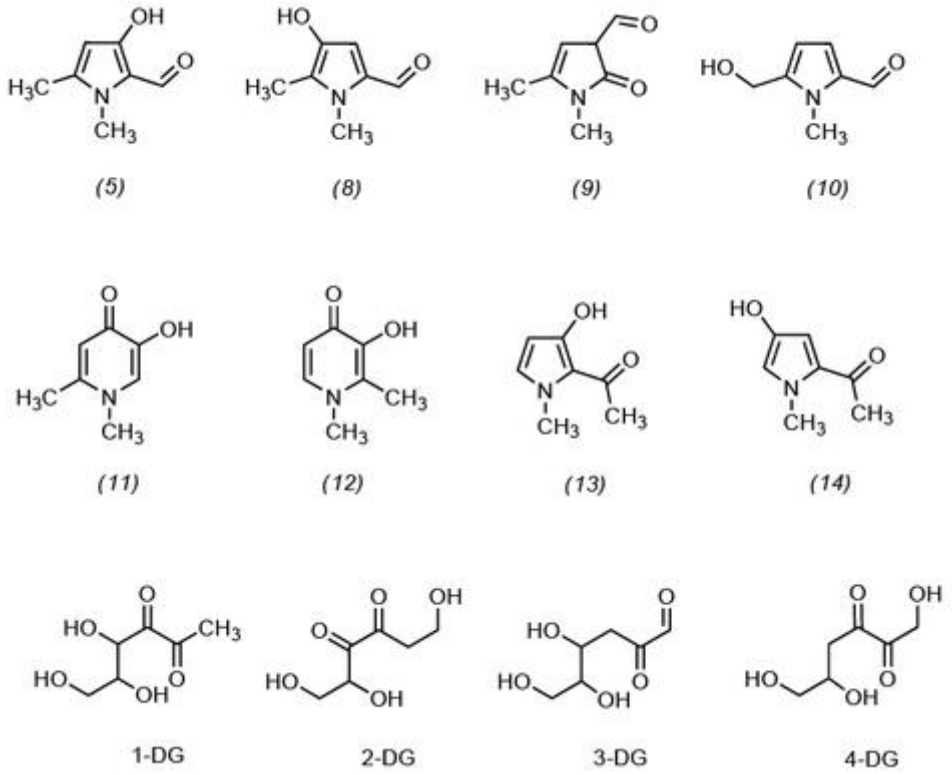


Abb. 6: Oben: Hydrolyseprodukte, die bei der Neutralisation der Lösung des Fearonfarbstoffs entstehen könnten. Unten: Desoxyglucosone: 1-Desoxyglucoson (1-DG), bis 4-Desoxygluscoson (4-DG).

6 Weitere Überlegungen zur Struktur

Der erste Fragmentpeak im Produktionenscan weist auf die Abspaltung von CO hin. Da weder die Pyridone *(11)* und *(12)* noch die Acetylpyrrole *(13)* und *(14)* diesen M-CO-Peak zeigen, verbleiben als Molekülkandidaten die Aldehyde *(5)* und *(8)* bis *(10)* (Abbildung 6). Da die von Jurch[18)] im Massenspektrum von Hydroxymethylpyrrolaldehyd (*10*) gefundene Fragmentierung nicht mit den Daten des Hydrolyseprodukts übereinstimmt, scheidet diese Verbindung aus.

Hingegen ist das Massenspektrum von 4-Hydroxypyrrol-2-carbaldehyd *(8)*, der von Wieland[19)] aus Methylglyoxal und Methylamin synthetisiert wurde, nahezu identisch mit dem des Hydrolyseprodukts. Verbindung *(8)* kann jedoch hier erst gar nicht entstehen, da reaktionsbedingt aus 4-O-substituierten Glucosen keine am C4-Kohlenstoffatom substituierten Produkte entstehen können.

Das aus Isosaccharinsäurelactam formal zugängliche 2-Oxopyrrol-3-carbaldehyd *(9)* scheidet als mögliche Struktur ebenfalls aus, wie das folgende Experiment gezeigt hat: Auf eine wässrige Lösung von Lactulose wird Natronlauge (pH 13) bei 60 °C einwirken gelassen, dann werden im Fünf-Minuten-Takt Proben entnommen und jeweils mit Methylamin-Hydrochloridlösung versetzt. Die Farbe ändert sich bei der nach fünf Minuten entnommenen

Probe erst eine Minute nach der Methylaminzugabe von gelb nach rot (Abb. 7). Hingegen bildet sich der Farbstoff bei der nach zehn Minuten entnommenen und mit Methylamin-Hydrochlorid-Lösung versetzten Probe spontan.

Abb. 7: Farben nach Einwirkung von NaOH auf Lactulose bei 60 °C und nachträgliche Zugabe von Methylamin zu entnommenen Proben im Fünfminutentakt (von links nach rechts, ganz rechts drei Proben ohne Methylaminzugabe). Fotos: Ruppersberg

Nach 15 Minuten entsteht bereits deutlich weniger Farbstoff (erkennbar an der orangeroten Mischfarbe), und nach 20 Minuten ist er fast nicht mehr nachweisbar. Obwohl mit zunehmender Einwirkzeit von NaOH auf Lactulose eigentlich immer mehr Isosaccharinsäurederivate entstehen,[10,11] sinkt die Ausbeute an Farbstoff. Die Farbstoffbildung erfolgt demzufolge nicht über Isosaccharinsäure und das daraus formal resultierende Chromogen *(9)*. Somit könnte Aldehyd *(5)* tatsächlich mit dem bei der Neutralisation des Fearonfarbstoffs entstandenen Hydrolyseprodukt identisch sein.

Literatur

1) A. Wöhlk, Fresenius J. Anal. Chem. 1904, 43, 670–679
2) W. R. Fearon, Analyst 1942, 67, 130–132
3) K. Ruppersberg, Nachweis von Lactose (und Maltose) im Kontext Schule, Dissertation, EUF Flensburg 2021, DOI 10.25656/01:28446
4) F. Krüger, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. 1907, 50, 293–302
5) C. Gautier, A. Morel, C. R. Biol. 1906, LX, 376
6) R. Rochat, Contribution à l'étude d'une des Réactions des α-Amino-Acides sur les Glucides – Coloration rouge vif que prend le lait additioné de soude caustique concentrée (Réaction de A. Morel et Cl. Gautier), Dissertation, Université de Lyon, 1934
7) T. A. Nickerson, I. F. Vujicic, A. Y. Lin, J. Dairy Sci. 1976, 59, 386–390
8) M. Pischetsrieder, Die Maillard Reaktion von Disacchariden und Polysacchariden und Reaktionen von Glucose in konzentrierten Lösungen, Dissertation, LMU München 1994
9) C. Schoetter, Isolierung und Strukturaufklärung von Aminoreduktonen – Ein Beitrag zur Maillard-Reaktion, Dissertation, LMU München 1996

10) W. M. Corbett, J. Kenner, J. Chem. Soc. 1954, 1789–1791
11) W. M. Corbett, J. Kenner, G. N. Richards, J. Chem. Soc. 1955, 1709–1711
12) V. J. Harding, R. M. MacLean, J. Biol. Chem. 1916, 25, 337–350
13) R. Möhlau, H. Litter, J. prakt. Chem. 1906, 73, 449–472
14) T. Kurata, M. Fujimaki, Y. Sakurai, J. Agric. Food Chem. 1973, 21, 676–680
15) T. Kurata, M. Fujimaki, Y. Sakurai, Agric. Biol. Chem. 1973, 37, 1471–1477
16) K. Ruppersberg, J. Hain, P. Mischnik, ChemKon 2017, 24, 302–324
17) P. Ollinger, W. Remp, H. Junek, Monatsh. Chem. 1974, 105, 346–353
18) R. Jurch, J. H. Tatum, Carbohydr. Res. 1970, 15, 233–239
19) T. Wieland, Untersuchung des Kondensationsmechanismus von Osonen anhand der Modellverbindungen Methylglyoxal und 2,3-Butandion zur Kenntnis der Maillard-Reaktion, Dissertation, LMU München 1972

Hinweis und Dank: Die RP-HPLC-DAD-MS/MS Messungen hat M. Hellwig (TU Dresden, jetzt TU Braunschweig) durchgeführt.

Die Autoren

Manfred W. Kussler ist Mitglied der Seniorexperten Chemie der GDCh und hat sich in seinem Berufsleben mit Hochleistungs-technologiefarbstoffen befasst. Durch einen Artikel in den Nachrichten aus der Chemie stieß er im Juni 2018 auf den Farbstoff aus der Wöhlkprobe, für dessen Strukturaufklärung er sich seitdem engagiert.

Klaus Ruppersberg ist seit 2019 wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe von Maike Busker an der Europa-Universität Flensburg. Nach 24 Jahren im Schuldienst wurde er von 2014 bis 2021 an das Leibniz-Institut für die Pädagogik der Naturwissenschaften (IPN Kiel) abgeordnet. Im Jahr 2021 hat er seine Promotion über Lactose- und Maltosenachweise abgeschlossen.