pedocs
Open Access Erziehungswissenschaften

DIPF

Rautenstrauch, Hanne; Rebenstorff, Anne; Gudenschwager, Steffen; Ruppersberg, Klaus

Ein sicherer Kohlenhydrat-Nachweis. Die neue Molisch-Probe für den Unterricht

formal überarbeitete Version der Originalveröffentlichung in:
formally revised edition of the original source in:
Chemie in unserer Zeit 57 (2023) 3, S. 172-179

Bitte verwenden Sie in der Quellenangabe folgende URN oder DOI /
Please use the following URN or DOI for reference:
urn:nbn:de:0111-pedocs-301029
10.25656/01:30102

https://nbn-resolving.org/urn:nbn:de:0111-pedocs-301029
https://doi.org/10.25656/01:30102

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

Ein sicherer Kohlenhydrat-Nachweis:

Die neue Molisch-Probe für den Unterricht

Hanne Rautenstrauch, Anne Rebenstorff, Steffen Gudenschwager, Klaus Ruppersberg
Europa-Universität Flensburg, Institut für Chemie und ihre Didaktik

Zusammenfassung

Die Molisch-Probe aus dem Jahre 1886 ist ein schön anzusehender Kohlenhydratnachweis, welcher die Besonderheit aufweist, dass er geringste Spuren von Pentosen, Hexosen und Desoxyzuckern farblich unterscheiden kann. Der Einsatz von α-Naphthol als Feststoff wird jedoch heutzutage als bedenklich angesehen. Der vorliegende Artikel liefert gleich mehrere Lösungen: Durch einen verringerten Chemikalieneinsatz kann das Gefahrenpotential des Experiments vermindert werden. Für den Einsatz im Unterricht kann festes α-Naphthol durch eine ethanolische Fertiglösung substituiert werden (Ersatzverfahren). Die Substanz α-Naphthol kann durch den Naturstoff Carvacrol ersetzt werden. Unter Beachtung dieser Modifikationen ist die ‚neue' Molisch-Reaktion (Carvacrol-Reaktion) ein aussagekräftiger Schülerversuch, welcher mit einfachen Materialien umgesetzt werden kann.

Abstract

The Molisch test from 1886 is a nice-looking detection reaction for carbohydrates, which has the special feature that it can distinguish the slightest traces of pentoses, hexoses and deoxy sugars by colour. However, the use of α-naphthol as a solid is now considered questionable. This article provides several solutions: By reducing the amount of chemicals, the potential danger of the experiment can be minimised. For use in the classroom, solid α-naphthol can be substituted with an ethanolic ready-to-use solution (substitute method). The substance α-naphthol can be replaced by the natural substance carvacrol. Taking these modifications into account, the 'new' Molisch reaction (carvacrol reaction) is a meaningful student experiment that can be realised with simple materials.

Schlagwörter

Kohlenhydrate, Nachweisreaktionen, Pentose, Hexose, Naphthol, Molisch

Keywords

Carbohydrates, detection reaction, pentose, hexose, naphtol, Molisch

1. Einführung in den Sachverhalt

Der österreichische Botaniker Hans Molisch (1856-1937) stellte im Jahr 1886 zwei neue Nachweisreaktionen für Kohlenhydrate vor, bei denen α-Naphthol beziehungsweise Thymol (Abbildung 1) als Reagenzien benutzt wurden [1].

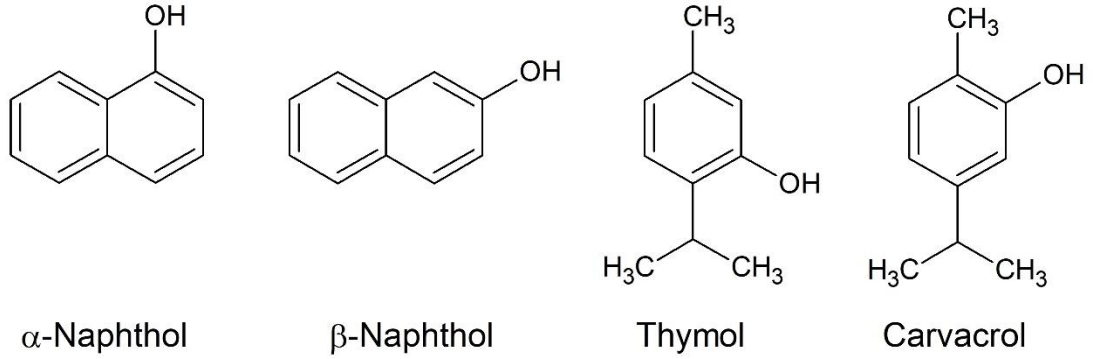


Abb. 1: Strukturformeln von α-Naphthol und Ersatzstoffen

Die Reaktion von α-Naphthol und Schwefelsäure als allgemeiner Kohlenhydratnachweis ist heute unter dem Namen Molisch-Probe [2, S. 6/10] bekannt: Wird eine Zuckerlösung mit in Ethanol gelöstem α-Naphthol versetzt und anschließend mit konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet, so bildet sich an der Grenzfläche ein violetter Ring, bei Thymol ein karminroter Ring (Abbildung 2) [1, 2].

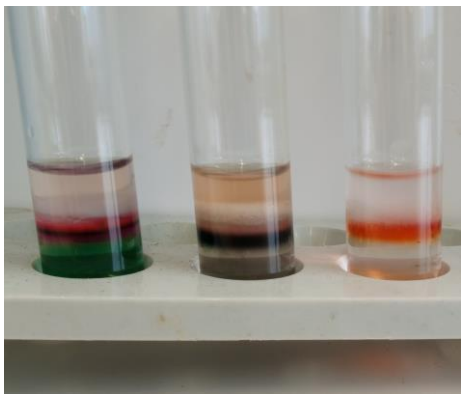


Abb. 2: Schwefelsaure Glucoselösung mit ethanolischer α-Naphthol-Lösung (links), β-Naphthol-Lösung (mittig) und Thymol-Lösung (rechts)

Molisch erhielt diese violette Färbung mit einer ganzen Reihe von Kohlenhydraten wie Maltose, Lactose oder Fructose. Beim Versetzen von Stärke mit α-Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure ist nach einiger Zeit ebenfalls eine Rotviolettfärbung zu erkennen, welche durch die Oligo- und Monosaccharide hervorgerufen wird, die durch die Hydrolyse der Stärke in der schwefelsauren Lösung entstehen. Es findet also ein indirekter Nachweis statt. Diese Reaktion ist sehr sensitiv, laut Molisch deutlich sensitiver als die Proben von Fehling oder Trommer [1].

Aufgrund dieser hohen Sensitivität und der Eigenschaft, als allgemeiner Kohlenhydratnachweis zu wirken, konnten mit Hilfe der Molisch-Probe beispielsweise Kohlenhydrate in einem Alltagsprodukt (Badekugel aus einem Drogeriemarkt) nachgewiesen werden, bei der andere gängige Nachweisreaktionen zu keinem Ergebnis führen [3]. Auch nicht-reduzierende Zucker können nachgewiesen werden. Eine Besonderheit ist zudem, dass schulübliche Pentosen, Desoxyzucker und Hexosen mit deutlich unterschiedlichen Farben farblich nachgewiesen werden können:

- die Pentosen Arabinose (Abb. 3), Ribose und Xylose bilden bei der Reaktion mit α-Naphthol und Schwefelsäure eine dunkelviolette Färbung,
- der Desoxyzucker Rhamnose (Abb. 3) eine rote Färbung,
- die Hexosen Glucose (Abb. 3), Galactose, Mannose, Fructose, Tagatose und Sorbose ergeben eine rötlich-violette Färbung [4].

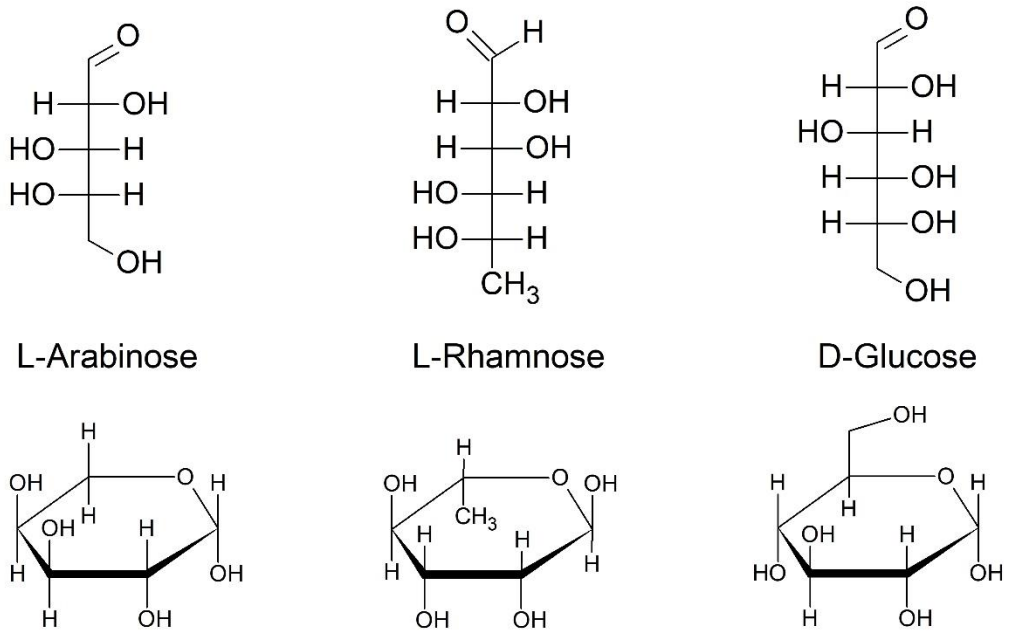


Abb. 3: Nachgewiesene Zucker, oben Fischer-Projektionsformel, unten Haworth-Projektion

Für den Mechanismus der Molisch-Probe wurden im Laufe der Geschichte mehrere Vorschläge gemacht [unter anderem 4, 5, 6, 7]. Zudem gibt es verschiedene Vorschläge zur Verbesserung der Reaktion, beispielsweise durch die Verwendung von sulfoniertem α-Naphthol [8]. Im folgenden Beitrag wird die Molisch-Reaktion unter Beachtung der heutigen Gefährdungseinstufungen der verwendeten Chemikalien für den Schulunterricht aufgearbeitet. Im Fokus des Beitrages steht die Entwicklung eines Experiments, bei dem weniger gefährliche Chemikalien und auch geringere Chemikalienmengen verwendet werden und dennoch eine deutliche farbige Unterscheidung zwischen den verschiedenen schulüblichen Pentosen (Arabinose, Ribose und Xylose), Hexosen (Glucose, Galactose, Fructose) und dem Desoxyzucker Rhamnose möglich ist.

2. Einordnung

Kohlenhydrate gehören aufgrund ihrer Beteiligung an den Stoffwechselprozessen aller Lebewesen zu einer der wichtigsten biochemischen Stoffklassen und machen als Photosyntheseprodukte ungefähr 65 % der weltweiten Biomasse aus [9]. Für uns Menschen sind sie neben den Eiweißen und Fetten eine der grundlegenden Stoffgruppen der Ernährung [10].

Die meisten Kohlenhydrate weisen in etwa die Bruttosummenformel $C_n(H_2O)_m$ auf, weswegen sie ursprünglich als hydratisierte Form von Kohlenstoffverbindungen interpretiert wurden [11]. Sie können anhand verschiedener Merkmale klassifiziert und charakterisiert werden. Ausgehend von der Anzahl an monomeren Bausteinen wird in Monosaccharide (wie Glucose, Fructose), Oligosaccharide (zwei bis sechs Monosaccharid-Einheiten, etwa Saccharose, Maltotriose) sowie Polysaccharide (wie Stärke, Cellulose) unterschieden. Eine weitere Unterteilung ergibt sich aufgrund des Vorhandenseins einer Aldehyd- beziehungsweise Ketogruppe im Monosaccharid. Man unterscheidet in Aldosen und Ketosen.

Kohlenhydrate sind ein interdisziplinäres Thema, welches sich durch eine hohe Alltagsrelevanz und zahlreiche motivierende Experimente auszeichnet. Schülerinnen und Schülern kann es im Unterricht der Fächer Biologie, Naturwissenschaften, Chemie, Ernährung oder Verbraucherbildung begegnen – im Chemieunterricht typischerweise in der Sekundarstufe II [12]. Experimente werden dabei auf der rein phänomenologischen Ebene betrachtet. Durchgeführt werden vor allem Nachweisreaktionen, wie der Stärkenachweis [13]. Die im Schulunterricht eingesetzten Kohlenhydratnachweise verfolgen das Ziel, einen Zucker zu identifizieren und manchmal auch anhand bestimmter Merkmale (reduzierend/ nicht reduzierend) zu klassifizieren. Tabelle 1 fasst die gängigsten Nachweisreaktionen im Schulunterricht zusammen.

Tabelle 1: Nachweisreaktionen für Kohlenhydrate

Nachweis-reaktion	**Nachzuweisende Kohlenhydrate**	**Reagenz**	**Indikation für positiven Nachweis**
Fehling-Probe [14]	reduzierend	Kupfer(II)-sulfat; Kaliumnatriumtartrat in Natronlauge	roter Niederschlag
Tollens-Probe [15]	reduzierend	Silbernitrat in Ammoniak	silberner Niederschlag (Silberspiegel)
Benedict-Test [16]	reduzierend	Natriumcitrat in Natriumcarbonat-Lösung; Kupfer(II)-sulfat	roter/gelber/grüner Niederschlag (konzentrationsabhängig)
Iod-Stärke-Reaktion [17]	Stärke	Lugolsche Lösung bzw. Iodlösung	blaue Färbung
Selivanov-Probe [18]	Ketohexosen	Resorcin in Ethanol; Salzsäure	(schnelle) rote Färbung
Wöhlk-Probe [19]	1,4-verknüpfte reduzierende Disaccharide	Ammoniak-Lösung, Kalilauge	lachsrote Färbung

3. Experimente

Molisch stellte in seinem Artikel von 1886 zwei neue Reaktionen von Zuckern vor: mit α-Naphthol (Abbildung 2, links) und konzentrierter Schwefelsäure und einmal mit Thymol (Abbildung 2, rechts) und konzentrierter Schwefelsäure [1]. Die erstgenannte Reaktion mit α-Naphthol ist diejenige, welche populärer und als Molisch-Probe bekannt ist. Für den Schulunterricht ist festes α-Naphthol jedoch eher ein bedenklicher Stoff, da er unter anderem giftig bei Hautkontakt ist (GHS 05, GHS 06, GHS 09). Für diesen Stoff besteht somit ein Tätigkeitsverbot bis einschließlich Klasse 4 sowie für werdende oder stillende Mütter [20]. Eine besondere Ersatzstoffprüfung ist notwendig. β-Naphthol (Abbildung 1) ist hingegen ungefährlicher und für Schülerversuche ohne Einschränkungen erlaubt. Der Naturstoff Thymol (unter anderem in Thymian enthalten) ist wesentlich ungefährlicher eingestuft als das α-Naphthol [20].

3.1 Versuch 1: Substitution von α-Naphthol durch Thymol oder β -Naphthol

In ersten Experimenten wurde daher untersucht, ob eine entsprechende Farbreaktion auch dann entsteht, wenn man α-Naphthol durch die weniger gefährlichen Ersatzstoffe Thymol oder β-Naphthol substituiert. Die genauen Versuchsbeschreibungen sind unter www.chiuz.de bei diesem Beitrag als Supporting Information abgelegt.

Durchführung: Zunächst werden ethanolische Lösungen von α-Naphthol, β-Naphthol und Thymol angesetzt. Es werden drei Reagenzgläser jeweils mit 1 mL einer Glucoselösung (ω=1%) befüllt. Anschließend werden in das erste Reagenzglas 0,4 mL der ethanolischen α-Naphthol-Lösung, in das zweite Reagenzglas 0,4 mL der ethanolischen β-Naphthol-Lösung und in das dritte 0,4 mL der ethanolischen Thymol-Lösung hinzugegeben. Der Inhalt aller drei Reagenzgläser wird nun vorsichtig mit 2 mL konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet[1]. Zusätzlich wurden zum Vergleich Blindproben (ohne Zuckerzugabe beziehungsweise ohne Zugabe der ethanolischen Aromatenlösung) durchgeführt.

Beobachtung: Bei allen drei Versuchsansätzen kann eine Ringbildung beobachtet werden. Bei α-Naphthol weist der entstehende Ring eine rot-violett-Färbung auf, bei β-Naphthol ist er dunkelbraun und bei Thymol hat er eine orangene Farbe (Abbildung 2).

Auswertung und Schlussfolgerung: Um Kohlenhydrate unspezifisch nachzuweisen, kann α-Naphthol im Schulunterricht mit dem ungefährlicheren Thymol substituiert werden. Diese Reaktion hat Hans Molisch bereits vorgestellt [1], wie sich allerdings bei eigenen Untersuchungen mit verschiedenen Zuckern herausstellte, ergeben sich mit Pentosen, Hexosen und Desoxyzuckern sehr ähnliche Farbnuancen, die schwer differenzierbar sind.

[1] Bei der Reaktion von Ethanol und Schwefelsäure kann Diethylsulfat als Nebenprodukt entstehen, welches karzinogen bzw. mutagen (Kat. 1B) ist.

β-Naphthol zeigt mit allen untersuchten Zuckern eine braune Ringreaktion. Allerdings ist fraglich, ob die Färbung durch die Bildung eines Farbstoffs zustande kommt oder lediglich auf die hygroskopische Wirkung der Schwefelsäure und somit die Verkohlung des Zuckers zurückzuführen ist.

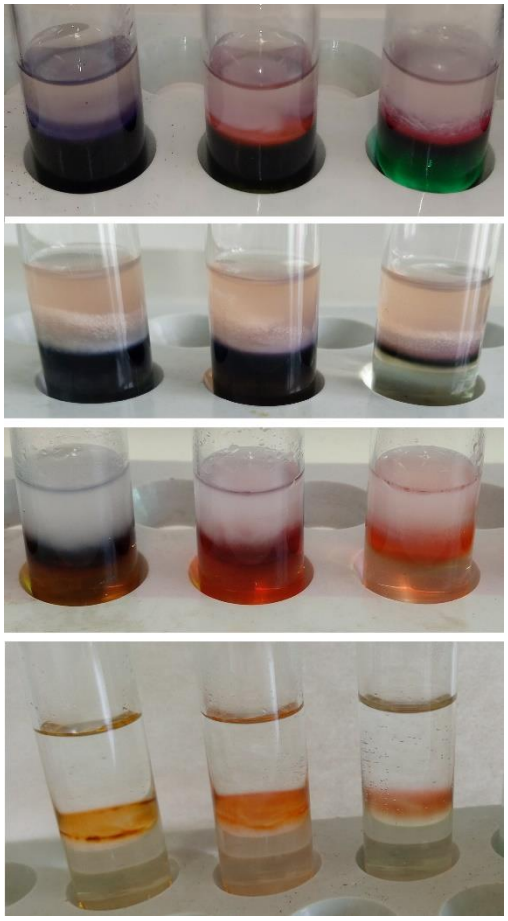


Abb. 4: Bildung von farbigen Ringen (von oben nach unten) mit α-Naphthol, β-Naphthol, Thymol, Carvacrol

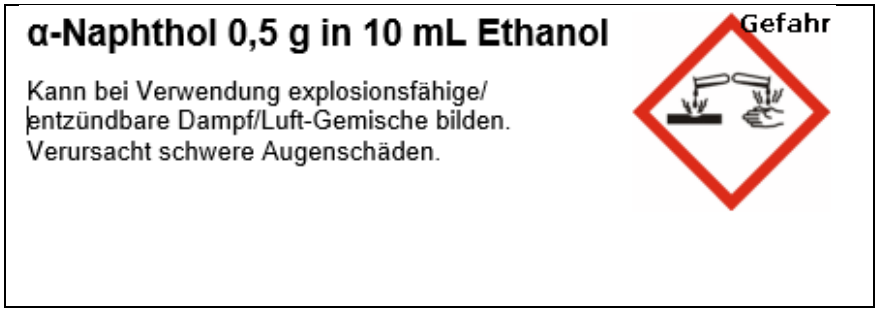


Abb. 5: Etikett gemäß GisChem-Gemischrechner [21]

3.2 Substitution von konzentrierter Schwefelsäure

Für den Schulunterricht ist die Arbeit mit konzentrierter Schwefelsäure als bedenklich einzustufen. Ein bloßer Austausch der Schwefelsäure beispielsweise durch konzentrierte Salz- oder Phosphorsäure oder weniger konzentrierte Schwefelsäure schlug fehl. Molisch selbst berichtet, dass er die Schwefelsäure auch durch konzentrierte Salzsäure ersetzen konnte. Eine Reaktion zeigte sich aber nur dann, wenn er das Reagenz anschließend erhitzte [1]. Der Austausch der Schwefelsäure durch Salzsäure mit anschließendem Erhitzen ist jedoch für den Schulunterricht nicht praktikabel und durch das zusätzliche Erhitzen einer konzentrierten Säure birgt es auch ein erhöhtes Gefahrenpotential durch Ausgasen und einen möglichen Siedeverzug. Weiterhin bestünde die Möglichkeit, Schwefelsäure durch Methansulfonsäure zu substituieren [21]. Allerdings ist die in Versuch 5 dargestellte deutliche farbige Unterscheidung der untersuchten Pentosen, Hexosen und Desoxyzucker mit Methansulfonsäure nicht in gleichem Maße möglich, wie mit konzentrierter Schwefelsäure. Zudem hat die Methansulfonsäure zwar eine geringere Gefährdungseinstufung bei der Ätzwirkung auf die Haut (Kategorie 1B, während Schwefelsäure Kategorie 1A zugeordnet wird), dafür weist sie aber weitere Gefahreneinstufungen (wie spezifische Zielorgan-Toxizität, Kat. 3) auf [22].

Somit ist die Durchführung des Experiments mit konzentrierter Schwefelsäure unumgänglich. Konzentrierte Schwefelsäure unterliegt lediglich einem Tätigkeitsverbot bis einschließlich Klassenstufe 4 [20]. Aufgrund der erhöhten Gefahr, welche von konzentrierter Schwefelsäure ausgeht, empfehlen die wir, Schülerexperimente mit konzentrierter Schwefelsäure nur in der Oberstufe durchzuführen.

3.3 Erste Schlussfolgerungen für Schulexperimente

Es konnte gezeigt werden, dass α-Naphthol im Schulunterricht mit dem ungefährlicheren Thymol und eventuell auch β-Naphthol substituiert werden kann, wenn man Kohlenhydrate unspezifisch nachweisen möchte. Ohta et al. [4] geben in ihren Arbeiten zur Molisch-Reaktion mit α-Naphthol unterschiedliche Farbigkeiten für den sich bildenden Ring bei der Reaktion mit Pentosen beziehungsweise Hexosen an. Dies ist eine Besonderheit der Molisch-Probe. Es stellt sich somit die Frage, ob bei der Substitution mit β-Naphthol oder Thymol auch verschiedene Farbigkeiten der Ringe festgestellt werden können und beispielsweise die Unterscheidung von der Pentose Arabinose und der Hexose Glucose (Abbildung 3) möglich ist.

Neben Thymol wurde bei einem weiteren Experiment auch Carvacrol (2-Methyl-5-(1-methylethyl)-phenol) als potentieller weniger gefährlicher Ersatzstoff für α-Naphthol mit untersucht. Carvacrol ist ein Strukturisomer zum Thymol und ebenfalls ein Naturstoff, welcher unter anderem in Oregano vorkommt (Abbildung 1). Neben Pentosen und Hexosen wurden die Nachweisreaktionen darüber hinaus auch mit einem Desoxy-Zucker, der Rhamnose, ausprobiert.

3.4 Versuch 2: Carvacrol als möglicher Ersatzstoff für α-Naphthol

Es werden die Zucker Arabinose (Pentose), Rhamnose (Desoxyzucker) und Glucose (Hexose) mit ethanolischen Lösungen von α-Naphthol, β-Naphthol, Thymol und Carvacrol untersucht. Die konkrete Versuchsbeschreibung befindet sich in der supporting information (S. 2).

Beobachtung: Bei der α-Naphthol-Lösung sind deutlich die unterschiedlichen Farbigkeiten der Ringe zu erkennen (Abbildung 4 oben). Bei der Pentose (Arabinose) ist der Ring dunkelviolett, beim Desoxyzucker (Rhamnose) orange-rot und bei der Hexose (Glucose) rot-violett. Bei der β-Naphthol-Lösung sind keine deutlichen Unterschiede in der Ringfarbe erkennbar, bei allen drei Proben weist der Ring eine dunkelbraune Färbung auf (Abbildung 4, 2. Reihe von oben). Bei der Thymol-Lösung (Abbildung 4, 3. Reihe von oben) sind hingegen unterschiedliche Nuancen in der Farbigkeit erkennbar. Sie sind jedoch deutlich weniger kontrastreich als bei α-Naphthol. Bei der Carvacrol-Lösung (Abbildung 4, untere Reihe) ist der Farbunterschied ebenfalls vorhanden, aber wenig kontrastreich.

Auswertung: Die Unterscheidung von den untersuchten Pentosen, Hexosen und dem Desoxy-Zucker ist nur bei der Versuchsdurchführung mit α-Naphthol, Thymol beziehungsweise Carvacrol möglich. Beim β-Naphthol entsteht jeweils ein dunkelbrauner Ring, dessen Bildung vermutlich auf die hygroskopische Wirkung der Schwefelsäure und die dadurch bedingte unspezifische Verkohlung des Zuckers zurückzuführen ist.

Am eindeutigsten sind die unterschiedlichen Farbreaktionen bei der Durchführung des Experiments mit α-Naphthol. Um diese genauer zu untersuchen, wurde eine ausgeweitete Reaktionsreihe mit verschiedenen Pentosen, Hexosen, einem Desoxyzucker sowie Disacchariden durchgeführt.

Wird den Schülerinnen und Schülern das α-Naphthol als ethanolische Lösung zur Verfügung gestellt, ergibt sich nach Anwendung des GisChem-Gemischrechners die in Abbildung 5 gezeigte Gefährdungseinstufung [23]. Gemäß Ersatz-Verfahrensprüfung sollte daher die Fertiglösung, nicht aber die feste Reinsubstanz α-Naphthol zur Verfügung gestellt werden.

Eine Anleitung zur Durchführung einer modifizierten Molisch-Reaktion mit geringem α-Naphthol-Einsatz befindet sich in der supporting information (s.u.).

3.5 Versuch 3: Untersuchung verschiedener Zucker mit α-Naphthol, Thymol und Carvacrol

Es wurden verschiedene Zucker mit α-Naphthol, Thymol und Carvacrol untersucht. Die konkreten Versuchsbeschreibungen befindet sich in der supporting information (s. u.).

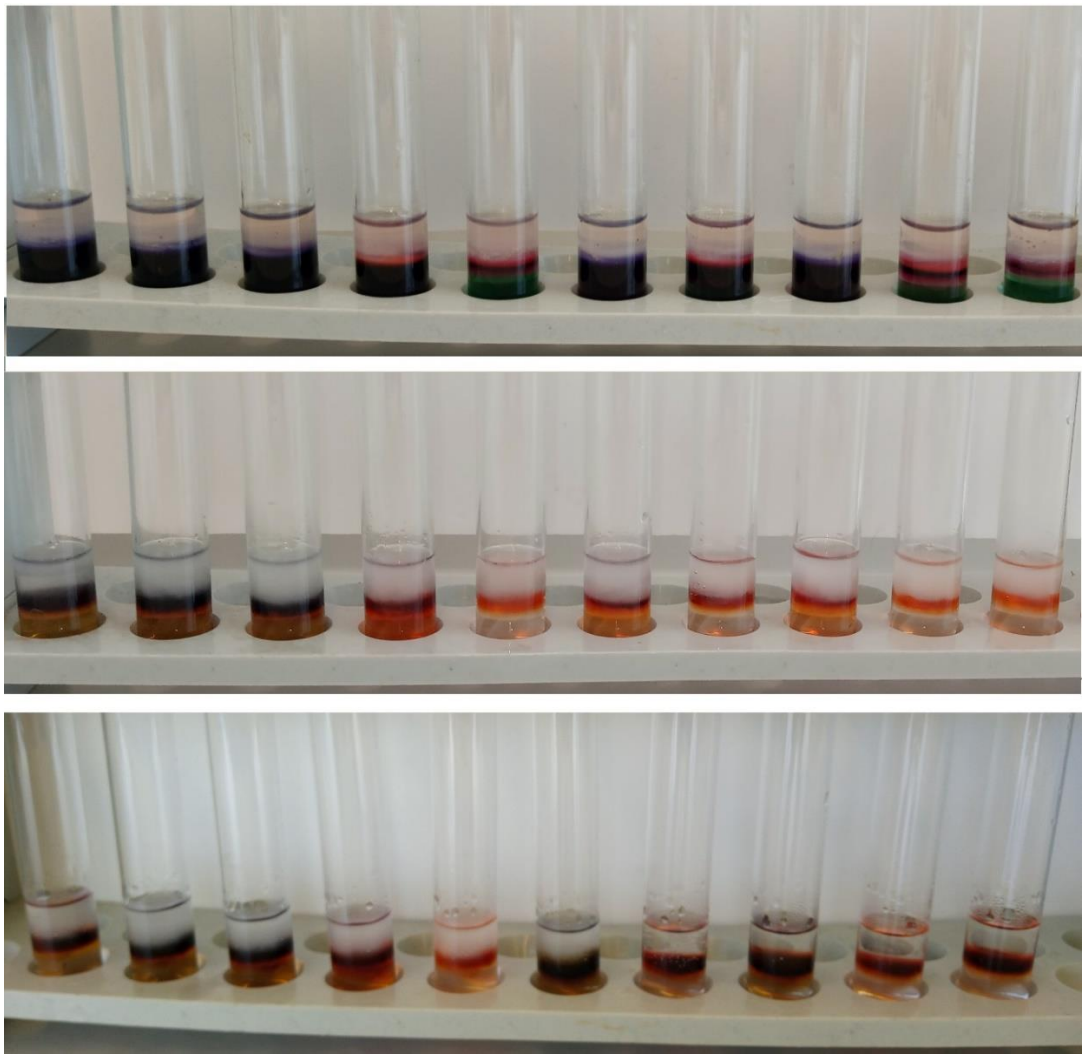


Abb. 6: Bildung von farbigen Ringen (von oben nach unten) mit α-Naphthol, Thymol und Carvacrol mit den Zuckern (von links nach rechts) Arabinose, Ribose, Xylose, Rhamnose, Glucose, Fructose, Galactose, Saccharose, Lactose und Maltose

Beobachtung: Für die Pentosen (Arabinose, Ribose und Xylose) in Reagenzglas 1-3 (Abb. 6) zeigen sich die erwarteten Ringfarben, d.h. bei α-Naphthol ein dunkelvioletter Ring und bei Thymol und Carvacrol ein bräunlicher Ring. In Reagenzglas 4 befindet sich der Desoxyzucker (Rhamnose), welcher, wie beschrieben, mit α-Naphthol und mit Thymol beziehungsweise Carvacrol jeweils einen orange-roten Ring bildet. In den Reagenzgläsern 5, 7, 9 und 10 befinden sich Glucose, Galactose, Maltose und Lactose, welche jeweils eine ähnliche Ringfärbung hervorrufen: bei α-Naphthol ein rot-violetter Ring und bei Thymol und Carvacrol ein orangener Ring.

Besonderheiten zeigen sich vor allem bei Fructose und Saccharose (Reagenzgläser 6 und 8): Sie weisen auf den ersten Blick eine ähnliche Farbigkeit im Ring auf wie die Pentosen.
Auswertung: Die untersuchten Pentosen reagieren jeweils in gleicher Weise mit α-Naphthol, Thymol und Carvacrol wobei farbig gleich aussehende Ringe entstehen. Gleiches gilt für die Hexosen Glucose und Galactose. Die aus Glucose- und Galactose-Einheiten aufgebauten Disaccharide Lactose und Maltose zeigen wiederum ähnliche Ringfarben wie die Monosaccharide Glucose und Galactose.
Fructose ist ebenfalls eine Hexose, Saccharose ein aus Glucose und Fructose bestehendes Disaccharid. Die Ringbildung bei diesen beiden Zuckern erscheint auf den ersten Blick eine andere Farbigkeit zu ergeben als bei den anderen Hexosen. Photometrische Messungen zeigen jedoch, dass der entstehende Farbstoff jeweils dieselben Absorptionsmaxima aufweist wie bei den anderen untersuchten Hexosen (vgl. Abbildung 8).

3.6 Zwischenbilanz

Bei der Verwendung von α-Naphthol zeigen sich die schönsten und deutlichsten Farbunterschiede bei der Untersuchung von Pentosen, Hexosen und Desoxyzuckern im Vergleich. Als ungefährlichere Ersatzstoffe bieten sich jedoch Thymol und sein Strukturisomer Carvacrol für den Einsatz im Schulunterricht an. Da letzteres der ungefährlichste unter den untersuchten Stoffen ist, wurde mit diesem weitergearbeitet, mit dem Ziel einen Schulversuch zu entwickeln, der einen geringen Chemikalienverbrauch aufweist und zugleich eine eindeutigere farbige Unterscheidung der untersuchten Pentosen, Hexosen und dem Desoxyzucker[2] ermöglicht als die Ringreaktion. Durch den im Vergleich zur herkömmlichen Ringreaktion geringeren Chemikalieneinsatz wird das Gefahrenpotential in dem neu entwickelten Versuch zusätzlich reduziert.

3.7 Versuch 4: Verbesserte Molisch-Probe mit Carvacrol

Es wurde die Reaktion der Zucker Glucose, Arabinose und Rhamnose mit Carvacrol untersucht. Die konkrete Versuchsbeschreibung befindet sich in der Supporting Information (s.u.).

Durchführung: Es werden drei neue Reagenzgläser bereitgestellt und mit der Pasteurpipette mit einem Tropfen der jeweiligen Zuckerlösung versetzt. Anschließend werden fünf Tropfen der ethanolischen Carvacrol-Lösung hinzugefügt und zum Schluss fünf Tropfen konzentrierte Schwefelsäure. Zusätzlich können Blindproben (ohne Zuckerzugabe beziehungsweise ohne Carvacrolzugabe) angesetzt werden.

[2] Neben Pentosen, Hexosen und Desoxyzuckern ist der Nachweis mit Carvacrol auch geeignet, um Uronsäuren, wie z.B. D(+)-Galacturonsäure, nachzuweisen.

Hinweis: Der Nachweis ist so sensitiv, dass am besten mit neuen Reagenzgläsern gearbeitet wird. Bereits kleinste Zuckerrückstände, welche sich noch im Reagenzglas befinden könnten, würden den Nachweis stören. Die Untersuchungen zeigen, dass nur ein einziger Tropfen einer 0,005%igen Rhamnose-Lösung ausreicht, um eine gut sichtbare Farbreaktion hervorzurufen.

Beobachtung: Die drei untersuchten Zucker bilden mit dem Auge gut zu unterscheidende Farbstoffe. Die Pentose Arabinose bildet nach Zugabe von Carvacrol und Schwefelsäure einen gelben Farbstoff, der Desoxyzucker Rhamnose einen orangefarbenen und die Hexose Glucose einen lachsfarbenen Farbstoff (Abbildung 7).

Abb. 7: Ethanolische Carvacrol-Lösung mit schwefelsauren Lösungen einer Pentose (Arabinose), einem Desoxyzucker (Rhamnose) und einer Hexose (Glucose) (von links nach rechts)

Da der Farbeindruck bei Reaktionen ein sehr subjektives Merkmal ist, wurden mit einem UV-VIS-Photometer die Absorptionsmaxima für die verschiedenen Farbstoffe bestimmt. Die erhaltenen Absorptionskurven sind in Abbildung 8 am Beispiel von Rhamnose (Desoxyzucker), Arabinose (Pentose) und Glucose (Hexose) dargestellt. Es wurde eine Reihe weiterer Zucker untersucht, wobei einheitlich für alle untersuchten Pentosen (Arabinose, Ribose und Xylose) ein Absorptionsmaximum des sich bildenden Farbstoffs bei A_{max}=487 nm, bei den Desoxyzuckern (Rhamnose und Desoxyribose) bei A_{max}=497,5 nm und bei den untersuchten Hexosen (Glucose, Fructose, Galactose) bei A_{max}=505 nm gemessen werden konnte.[3] Es ist darüber hinaus auch eine Charakterisierung der Farbstoffe mittels Smartphone möglich. Eine Anleitung dazu befindet sich in der supporting information (s. u.).

[3] Hinweis zu den Absorptionskurven: Es ist nicht auszuschließen, dass die gemessenen Absorptionsmaxima durch die Überlagerung mehrerer Farbstoffe zustande kommen. Weitere Untersuchungen zu den entstehenden Farbstoffen stehen aus.

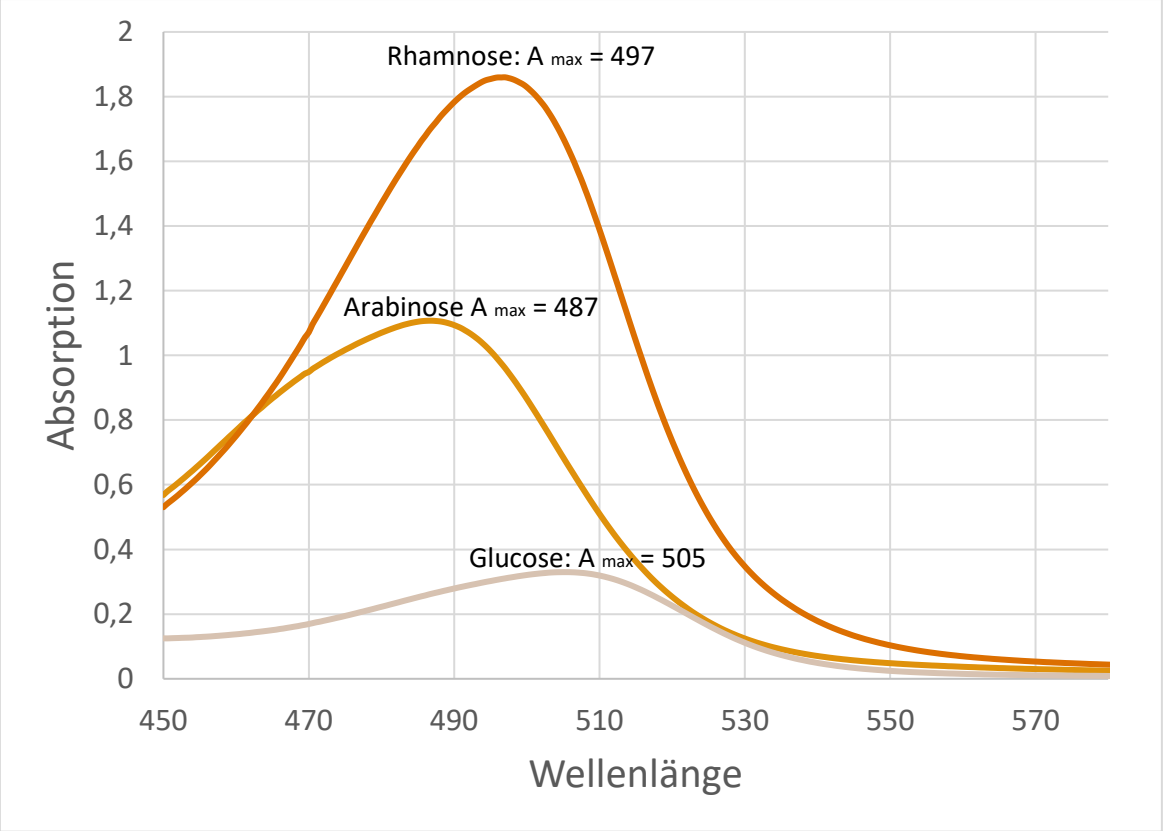


Abb. 8: Absorptionskurven der sich bildenden Farbstoffe von Arabinose, Rhamnose und Glucose mit ethanolischer Carvacrol-Lösung

3.8 Versuch 5: Die neue Molisch-Probe mit Carvacrol zum Nachweis von Fructose und Saccharose

Führt man den oben beschriebenen Versuch mit einer der drei Pentosen Arabinose, Ribose oder Xylose, dem Desoxyzucker Rhamnose und Glucose oder Galactose als Hexose durch, so erhält man, wie in Abbildung 7 zu sehen, mit dem Auge gut unterscheidbare Reaktionsprodukte, die man der jeweiligen Zuckerart gut zuordnen kann. Problematisch wird es, wenn Fructose oder Saccharose mit untersucht werden sollen. Wie bereits in Abbildung 6 (Reagenzgläser 6 und 8) deutlich wird, reagieren diese beiden anscheinend schneller als die anderen Hexosen beziehungsweise Disaccharide. Der sich bildende Farbstoff hat ebenfalls ein Absorptionsmaximum von A_{max}=505 nm, doch dadurch, dass die Farbstoffbildung schneller erfolgt, erscheint die Farbe intensiver und ähnelt eher der Farbe der Pentosen oder des Desoxyzuckers. Eine eindeutige Unterscheidung mit dem menschlichen Auge, ohne Zuhilfenahme eines Photometers, ist dann nicht möglich. Die beschriebene Versuchsdurchführung eignet sich also dann, wenn man im Schulunterricht einen schnellen Versuch durchführen möchte und als Hexose Glucose oder Galactose eingesetzt wird oder wenn photometrische Untersuchungen angeschlossen werden können.

Für den Fall, dass Fructose oder Saccharose ebenfalls untersucht werden sollen und kein Photometer verwendet werden kann, wurde ein weiterer Versuch entwickelt, welcher eine sehr gute optische Unterscheidung der Reaktionsprodukte gewährleistet. Die Versuchsdurchführung dauert allerdings etwas länger. Die konkrete Versuchsbeschreibung befindet sich in der Supporting Information (s.u.).

Chemikalien: ethanolische Carvacrol-Lösung (aus den vorigen Versuchen), verschiedene Zuckerlösungen (Tabelle 2), Schwefelsäure (ω=98%), dest. Wasser

Durchführung: In jedes Reagenzglas werden 2 Tropfen der zu untersuchenden Zuckerlösung, 5 Tropfen der ethanolischen Carvacrol-Lösung und 10 Tropfen Schwefelsäure gegeben. Der Versuchsansatz wird 10 Minuten stehen gelassen. Anschließend werden in jedes Reagenzglas 10 Tropfen dest. Wasser hinzugegeben und die sich ergebenden Färbungen miteinander verglichen. Da die Farbstoffbildung unterschiedlich schnell und intensiv erfolgt, müssen die Konzentrationen der Lösungen entsprechend angepasst werden, sodass sie gut miteinander vergleichbar sind.

Tabelle 2: Konzentrationen der Zuckerlösungen für die Molisch-Probe mit Carvacrol

Zuckerart	Zucker	Konzentration
Pentosen	Arabinose	ω=5%
	Ribose	ω=5%
	Xylose	ω=5%
Desoxyzucker	Rhamnose	ω=1%
Hexosen	Glucose	ω=5%
	Fructose	ω=0,1%
	Galactose	ω=5%
	Saccharose	ω=0,1%
	Lactose	ω=5%
	Maltose	ω=5%

Beobachtung: Die untersuchten Pentose-Lösungen zeigen mit Carvacrol und Schwefelsäure nach der Zugabe von Wasser eine grün-blau-graue Färbung, der Desoxyzucker Rhamnose eine orangefarbene und die Hexose-Lösungen eine rosa-violette Färbung auf.

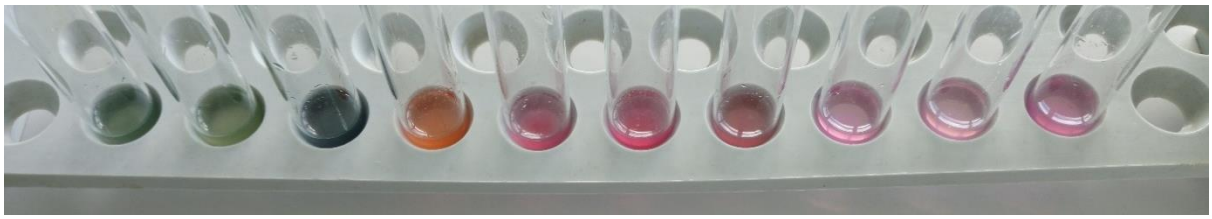


Abb. 9: verschiedene Zuckerlösungen mit Carvacrol und konzentrierter Schwefelsäure nach der Zugabe von Wasser (v.l.: Arabinose (ω=5%), Ribose (ω=5%), Xylose (ω=5%), Rhamnose (ω=1%), Glucose (ω=5%), Fructose (ω=0,1%), Galactose (ω=5%), Saccharose (ω=0,1%), Lactose (ω=5%), Maltose (ω=5%))

Auswertung: Für die untersuchten Vertreter der drei Zuckerarten ergeben sich optisch gut unterscheidbare Farbstoffe (Abbildung 9). Im ersten Schritt werden dieselben Farbstoffe gebildet wie im vorigen Versuch. Die Zugabe von Wasser führt nun aber durch die Veränderung des pH-Wertes zur Deprotonierung und somit zur Veränderung der Farbstoffe, die sich bei der Reaktion von Zucker mit Carvacrol unter Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure bilden. Photometrische Messungen sind für die Pentosen nicht gelungen. Für den Desoxyzucker und die Hexosen zeigen sich Verschiebungen des Absorptionsmaximums in den längerwelligen Bereich. Bei Rhamnose findet beispielsweise eine Verschiebung von vorher A_{max}=497 nm (vgl. Abb. 8) zu A_{max}=501nm statt.

4. Fazit und Ausblick

Eine abschließende Aufklärung zur ablaufenden Reaktion und der Struktur der sich bildenden Farbstoffe steht noch aus. Bredereck [5, 6] und Ohta et al. [4] haben Untersuchungen für die Molisch-Reaktion durchgeführt und kommen zu unterschiedlichen Ergebnissen. Einigkeit herrscht darüber, dass im ersten Reaktionsschritt durch die Zugabe der konzentrierten Schwefelsäure eine intramolekulare Dehydratisierung des Zuckers stattfindet, wobei bei Pentosen Furfural und bei Hexosen 5-Hydroxymethylfurfural gebildet wird. Im weiteren Verlauf kommt es dann zur Addition von Naphthol-Molekülen an das (5-Hydroxymethyl-)Furfural. In diesem Schritt unterscheiden sich die beiden Strukturvorschläge von Bredereck [5, 6] und Ohta et al. [4] hinsichtlich der Position an der die Addition erfolgt. Abschließend findet noch eine Oxidation des Additionsproduktes zum eigentlichen Farbstoff statt. In Abbildung der Supporting Information (s.u.) sind die unterschiedlichen Strukturvorschläge für die Farbstoffe, welche sich bei der Reaktion einer Hexose mit α-Naphthol bilden, vergleichend gegenübergestellt. Für die Reaktion mit Carvacrol gibt es noch keine experimentellen Analysen. Für die hier vorgestellten Untersuchungen lässt sich zusammenfassen, dass eine Substitution von α-Naphthol mit Thymol und Carvacrol erfolgreich war, mit β-Naphthol hingegen nicht. Erklärt werden kann dies vermutlich dadurch, dass eine elektrophile Substitution am Aromaten bevorzugt in para-Stellung zur OH-Gruppe erfolgt, dies ist beim β-Naphthol nicht möglich.

Literatur

[1] H. Molisch, *Monatsh. Chemie* **1886**, *7*, 198–209.

[2] U. Flörke und R. Wolff, *Kursthemen Chemie, Band 2, Organische Chemie und Biochemie,* Dümmler, Bonn, **1982**, S. 6/10.

[3] H. Rautenstrauch, *CHEMKON* **2020**, *27* (8), 388–396. DOI 10.1002.ckon.201900057.

[4] M. Ohta, M. Iwasaki, K. Kouno und Y. Ueda, *Chem. Pharm. Bull* **1985**, *33* (7), 2862–2865.

[5] H. Bredereck, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1931**, *64* (11), 2856–2859.

[6] H. Bredereck, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1932**, *65* (7), 1110–1113.

[7] R. S. Waters und A. M. Pardee, *South Dakota Academy of Science* **1949**, *28*, 82-86.

[8] A. W. Devor, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, *72* (5), 2008–2012.

[9] F. W. Lichtenthaler, *Carbohydrates*, In: *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 7. Auflage Wiley-VCH, Weinheim **2011**.

[10] J. Buddrus und B. Schmidt, *Grundlagen der Organischen Chemie*, 5. Auflage, De Gruyter Studium, Berlin u.a. **2015**.

[11] H. Beyer, W. Francke und W. Walter, Lehrbuch der Organischen Chemie, 24. Auflage, Hirzel, Stuttgart, **2004**.

[12] Ministerium für Bildung, Wissenschaft und Kultur des Landes Schleswig-Holstein, *Fachanforderungen Chemie, Allgemeinbildende Schulen, Sekundarstufe I, Sekundarstufe II,* Kiel, **2019.**

[13] Lehrerinnenfortbildung Baden-Württemberg, *Kompetenzorientierter Unterricht: Biologie, Sekundarstufe I und II, M 1.4. Stärkeproduktion*, https://lehrerfortbildung-bw.de/u_matnatech/bio/gym/bp2004/fb7/2_foto/2_pflanzen2/5_staerke/, letzter Abruf 27.05.2021.

[14] H. Fleischer, *CHEMKON* **2017**, *24*, 27–30. DOI 10.1002.ckon.201610283.

[15] B. Tollens, Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft. 15, **1882**, 1635–1639.

[16] S. Benedict, J. Biol. Chem., **1909**, *5*, 485–487.

[17] H. Rautenstrauch, K. Ruppersberg, W. Proske, Nachr. Chem. **2022**, *70, 15*–20.

[18] I. Shuklov und G. Boeck **2015**, ChiuZ *49*, 106–112. DOI 10.1002/ciuz.201400666.

[19] K. Ruppersberg und J. Hain **2017**, ChiuZ *51*, 106–111. DOI 10.1002/ciuz.201600744.

[20] DGUV, *DEGINTU – Gefahrstoffinformationssystem für den naturwissenschaftlich-technischen Unterricht der Gesetzlichen Unfallversicherung,* https://degintu.dguv.de/chemicals, zuletzt abgerufen am 27.05.2021.

[21] M. Wickleder, *Schwefelsäure – gefährlich, aber unverzichtbar,* https://faszinationchemie.de/wissen-und-fakten/news/schwefelsaeure-nbspgefaehrlich-aber-unverzichtbar/, letzter Abruf 17.8.2021.

[22] IFA Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung, GESTIS-Stoffdatenbank, https://www.dguv.de/ifa/gestis/gestis-stoffdatenbank/index.jsp, letzter Abruf 17.08.2021.

[23] BG Gefahrstoffinformationssystem Chemikalien der BG RCI und der BGHM, *Gemischrechner*, https://www.gischem.de/gemischrechner/index.htm, letzter Abruf 27.05.2021.

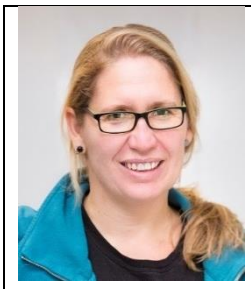
[24] K. Kniefacz, *Hans Molisch, Prof. Dr.,* https://geschichte.univie.ac.at/de/personen/hans-molisch-prof-dr, letzter Abruf 27.05.2021, **2021**.

Autorinnen und Autoren

Hanne Rautenstrauch studierte die Fächer Biologie und Chemie an der Europa-Universität Flensburg. 2013 hat sie ihr Studium mit dem Master of Education abgeschlossen. Seitdem ist sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Maike Busker tätig und promovierte dort im Jahr 2017. Ihre Forschungsinteressen liegen im Bereich des forschenden experimentellen Lernens, digitalen Medien und dem fachfremden Unterrichten.

Korrespondenzadresse:

E-Mail: hanne.rautenstrauch@uni-flensburg.de



Anne Rebenstorff hat ihre Ausbildung zur Biochemie-Laborantin 2003 am Biochemischen Institut der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel erfolgreich abgeschlossen. Seitdem ist sie an der Europa-Universität Flensburg als Laborantin in den Abteilungen für Chemie, Biologie, Ökologie und ihre Didaktiken beschäftigt.

Steffen Gudenschwager studierte Chemie an der Carl von Ossietzky Universität Oldenburg, wo er 2008 seinen Abschluss als Diplom-Chemiker machte. 2012 promovierte er in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Mathias Wickleder in der anorganischen Chemie. Seit 2017 ist er als wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Maike Busker tätig.

Klaus Ruppersberg studierte die Fächer Chemie und Biologie für die Lehrämter S II/I an der Universität Köln. Im Anschluss an 24 Berufsjahre in verschiedenen Schulformen wurde er 2014 an das IPN Kiel, Abt. Ilka Parchmann abgeordnet und wurde 2020 Lehrbeauftragter für Experimentelle Schulchemie in der Arbeitsgruppe von Maike Busker, EUF Flensburg. Seine Spätdissertation über Lactose- und Maltosenachweise im Kontext Schule hat er 2021 erfolgreich abgeschlossen

Der Namensgeber der Reaktion: Hans Molisch (1856-1937)

Johannes (Hans) Molisch studierte nach der Matura am Gymnasium in Brünn ab 1875 Naturwissenschaften an der Universität Wien, unter anderem bei dem Botaniker Anton Kerner von Marilaun, dem Pflanzenphysiologen Julius von Wiesner, dem Physiker Ludwig Boltzmann und dem Chemiker Ernst Ludwig.

Abb.: Johann (Hans) Molisch (1856-1937)
(Das Foto wurde freundlicherweise vom Archiv der Universität Wien zur Verfügung gestellt, Maisel, 17.12.2020).

Nach der Promotion zum Dr. phil. 1879 wirkte er ab 1894 als Ordinarius an der deutschen Universität in Prag, bis er 1909 als Nachfolger Wiesners zum ordentlichen Professor der Anatomie und Physiologie der Pflanzen an die Universität Wien berufen wurde. Bis zu seiner Emeritierung 1928 leitete er hier auch das Pflanzenphysiologische Institut.
1886 entwickelte er die nach ihm benannte Molisch-Probe als Nachweis für Kohlenhydrate. Neben Beiträgen zur botanischen Zellforschung sowie angewandten Pflanzenanatomie war er ein Pionier der mikrochemischen Untersuchungen an Pflanzen. Im Bereich der Mikrobiologie befasste er sich vor allem mit Eisen-, Schwefel-, Purpur-, Kalk- und Leuchtbakterien. An der Universität Wien fungierte Hans Molisch im Studienjahr 1922/23 als Dekan der Philosophischen Fakultät und wurde 1926/27 zum Rektor gewählt. Als Rektor war er der wichtigste Fürsprecher, um Marianne Hainisch anlässlich des 30. Jubiläums der Zulassung der Frauen zum Hochschulstudium das Ehrenzeichen der Universität Wien zu verleihen.
Während seiner Amtszeit als Rektor der Universität Wien förderte Molisch die Radikalisierung des deutschnationalen und antisemitischen Klimas unter den Studierenden sowie

gewalttätige Ausschreitungen gegen jüdische und politisch andersdenkende Studierende an der Universität, unter anderem am Anatomischen Institut unter Julius Tandler.

Nach seiner Emeritierung 1928 blieb Molisch weiterhin auf internationaler Ebene wissenschaftlich aktiv. Seine wissenschaftlichen Forschungen und Reiseeindrücke in Japan und Indien verschriftlichte er in mehreren Publikationen. Noch im Jahr seines Todes (1937) legte er ein grundlegendes Werk zur biochemischen Wechselwirkung zwischen Pflanzen („Allelopathie“) vor.

Nach seinem Tod wurde Hans Molisch in einem Ehrengrab auf dem Zentralfriedhof bestattet. 1952 wurde die Molischgasse in Wien-Penzing nach ihm benannt.

Der Text (gekürzt) stammt von Katharina Kniefacz [24].

Supporting Information

1. Versuchsanleitungen

1.1. Versuch 2: Carvacrol als möglicher Ersatzstoff

Materialien:

12 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Vollpipetten (1 mL, 2 mL), Messpipette (1 mL)

Chemikalien:

ethanolische α-Naphthol-Lösung (ω=6%), ethanolische β-Naphthol-Lösung (ω=6%), ethanolische Thymol-Lösung (ω=6%), Carvacrol (ω=97%), Schwefelsäure (ω=98%), Glucoselösung (ω=1%), Arabinoselösung (ω=1%), Rhamnoselösung (ω=1%)

Durchführung: Es werden drei Reagenzgläser bereitgestellt und mit 1 mL Glucose-, Arabinose- bzw. Rhamnose-Lösung (ω=1%) befüllt. In jedes Reagenzglas werden anschließend 0,4 mL der ethanolischen α-Naphthol-Lösung hinzugefügt und dann mit 2 mL konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet. Zusätzlich wurden Blindproben durchgeführt. Der Versuch wird mit ethanolischer β-Naphthol-Lösung und ethanolischer Thymollösung anstelle der α-Naphthol-Lösung wiederholt. Zudem werden 0,5 mL Carvacrol in 99,5 mL Ethanol gelöst und der Versuch erneut wiederholt, wobei die α-Naphthol-Lösung durch die ethanolische Carvacrol-Lösung ersetzt wird. Hinweis: Die angesetzte Carvacrol-Lösung ist längere Zeit haltbar und kann somit aufbewahrt und zu einem späteren Zeitpunkt erneut verwendet werden.

Beobachtung:

- Bei der α-Naphthol-Lösung sind deutlich die unterschiedlichen Farbigkeiten der Ringe zu erkennen (Abb. 1 oben). Bei der Pentose (Arabinose) ist der Ring dunkelviolett, bei dem Desoxyzucker (Rhamnose) ist er orange-rot und bei der Hexose (Glucose) ist der Ring rot-violett.
- Bei der β-Naphthol-Lösung sind keine deutlichen Unterschiede in der Ringfarbe erkennbar, bei allen drei Proben weist der Ring eine dunkelbraune Färbung auf (Abb. 1, 2. Reihe von oben).
- Bei der Thymol-Lösung (Abb. 1, 3. Reihe von oben) sind hingegen unterschiedliche Nuancen in der Farbigkeit erkennbar. Sie sind jedoch deutlich weniger kontrastreich als bei α-Naphthol. Bei der Pentose (Arabinose) ist der Ring braun, bei dem Desoxy-Zucker (Rhamnose) ist er rot und bei der Hexose (Glucose) ist der Ring orange.

- Bei der Carvacrol-Lösung (Abb. 1, 4. Reihe von oben) ist der Farbunterschied ebenfalls vorhanden, aber wenig kontrastreich. Der sich bildende Ring ist bei der Pentose (Arabinose) gelb, bei dem Desoxy-Zucker (Rhamnose) orange und bei der Hexose (Glucose) ist der Ring hellbraun.

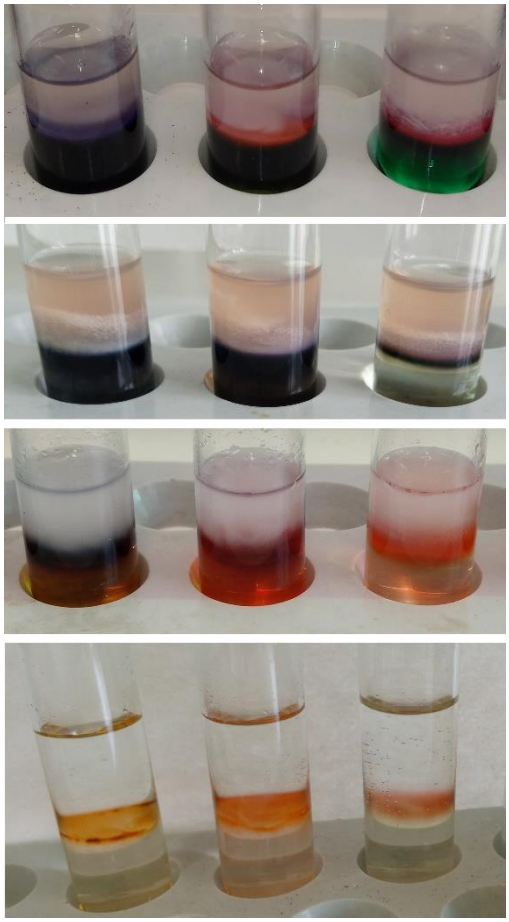


Abb. 1: Bildung von farbigen Ringen (von oben nach unten) mit α-Naphthol, β-Naphthol, Thymol, Carvacrol

1.2. Versuch 3: Untersuchung verschiedener Zucker mit α-Naphthol, Thymol und Carvacrol

Materialien:

30 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Vollpipetten (1 mL, 2 mL), Messpipette (1 mL)

Chemikalien:

Ethanolische α-Naphthol-Lösung (ω=6%), ethanolische Thymol-Lösung (ω=6%), ethanolische Carvacrol-Lösung (aus Versuch 2), Schwefelsäure (ω=98%), Arabinoselösung (ω=1%), Riboselösung (ω=1%), Xyloselösung (ω=1%), Rhamnoselösung (ω=1%), Glucoselösung (ω=1%), Fructoselösung (ω=1%), Galactoselösung (ω=1%), Saccharoselösung (ω=1%), Lactoselösung (ω=1%), Maltoselösung (ω=1%)

Durchführung:

Es werden zehn Reagenzgläser bereitgestellt und mit 1 mL der jeweiligen Zuckerlösungen (ω=1%) befüllt. In jedes Reagenzglas werden anschließend 0,4 mL der ethanolischen α-Naphthol-Lösung hinzugefügt und dann mit 2 mL konzentrierter Schwefelsäure unterschichtet.

Der Versuch wird ethanolischer Thymol-Lösung bzw. Carvacrol-Lösung wiederholt.

Beobachtung:

Für die Pentosen (Arabinose, Ribose und Xylose) in Reagenzglas 1-3 (Abb. 2) zeigen sich die erwarteten Ringfarben, d.h. bei α-Naphthol ein dunkelvioletter Ring und bei Thymol und Carvacrol ein bräunlicher Ring. In Reagenzglas 4 befindet sich der Desoxyzucker (Rhamnose), welcher, wie im vorigen Versuch beschrieben, mit α-Naphthol und mit Thymol bzw. Carvacrol jeweils einen orange-roten Ring bildet. In den Reagenzgläsern 5, 7, 9 und 10 befinden sich Glucose, Galactose, Maltose und Lactose, welche jeweils eine ähnliche Ringfärbung hervorrufen. Bei α-Naphthol ein rot-violetter Ring und bei Thymol und Carvacrol ein orangener Ring. Besonderheiten zeigen sich vor allem bei Reagenzglas 6 und 8. In diesen befinden sich Fructose und Saccharose. Diese weisen auf den ersten Blick eine ähnliche Farbigkeit im Ring auf, wie die Pentosen.

Auswertung:

Die untersuchten Pentosen reagieren jeweils in gleicher Weise mit α-Naphthol bzw. Thymol und Carvacrol, wodurch farbig gleich aussehende Ringe entstehen. Gleiches gilt für die Hexosen Glucose und Galactose. Die aus Glucose- und Galactose-Einheiten aufgebauten Disaccharide Lactose und Maltose zeigen wiederum ähnliche Ringfarben, wie die Monosaccharide Glucose und Galactose.

Fructose ist ebenfalls eine Hexose, Saccharose ein aus Glucose und Fructose bestehendes Disaccharid. Die Ringbildung bei diesen beiden Zuckern erscheint auf den ersten Blick eine andere Farbigkeit zu ergeben als bei den anderen Hexosen. Photometrische Messungen zeigen jedoch, dass der entstehende Farbstoff jeweils dieselben Absorptionsmaxima aufweist, wie bei den anderen untersuchten Hexosen (vgl. Abb. 8, Haupttext). Die jeweils dunkler erscheinende Farbigkeit könnte daher rühren, dass die Farbstoffbildung bei diesen Zuckern schneller erfolgt.

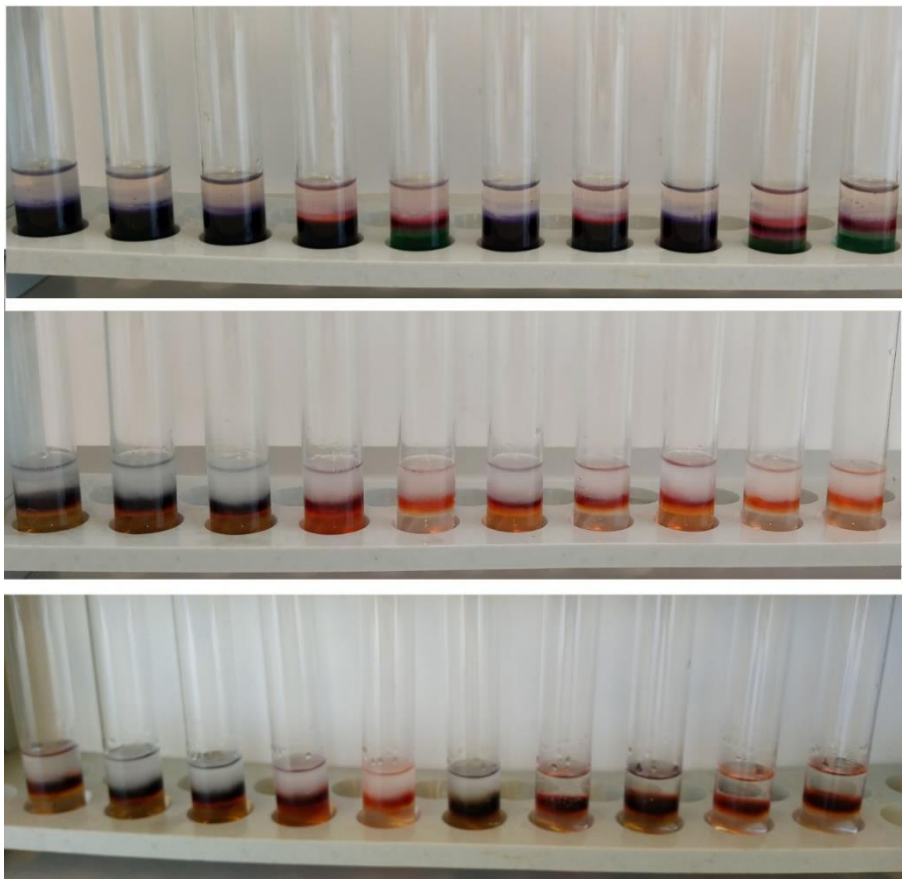


Abb. 2: Bildung von farbigen Ringen (von oben nach unten) mit α-Naphthol, Thymol und Carvacrol mit den Zuckern (von links nach rechts) Arabinose, Ribose, Xylose, Rhamnose, Glucose, Fructose, Galactose, Saccharose, Lactose und Maltose

1.3. Versuch 4: Verbesserte Molisch-Probe mit Carvacrol

Materialien:
3 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, 5 Pasteurpipetten

Chemikalien:
ethanolische Carvacrol-Lösung (aus Versuch 2), Schwefelsäure (ω=98%), Arabinoselösung (ω=1%), Rhamnoselösung (ω=1%), Glucoselösung (ω=1%)

Durchführung:
Es werden drei neue Reagenzgläser bereitgestellt und mit der Pasteurpipette mit einem Tropfen der jeweiligen Zuckerlösung versetzt. Anschließend werden fünf Tropfen der ethanolischen Carvacrol-Lösung hinzugefügt und zum Schluss fünf Tropen konzentrierte Schwefelsäure hinzugegeben. Zusätzlich können Blindproben (ohne Zuckerzugabe beziehungsweise ohne Carvacrolzugabe) angesetzt werden.
Hinweis: Der Nachweis ist so sensitiv, dass am besten mit neuen Reagenzgläsern gearbeitet wird. Bereits kleinste Zuckerrückstände, welche sich noch im Reagenzglas befinden könnten, würden den Nachweis stören. Die Untersuchungen zeigen, dass nur ein einziger Tropfen einer 0,005%igen Rhamnose-Lösung ausreicht, um eine gut sichtbare Farbreaktion hervorzurufen.

Beobachtung:
Die drei untersuchten Zucker bilden mit dem Auge gut zu unterscheidende Farbstoffe. Die Pentose Arabinose bildet nach Zugabe von Carvacrol und Schwefelsäure einen gelben Farbstoff, der Desoxyzucker Rhamnose einen orangefarbenen und die Hexose Glucose einen lachsfarbenen Farbstoff (Abbildung 3).

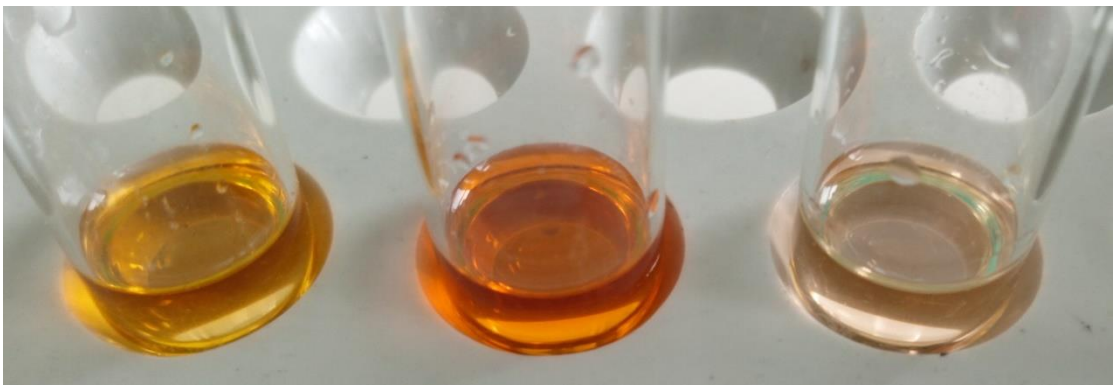


Abb. 3: Carvacrol mit den Zuckern (von links nach rechts) Arabinose, Rhamnose und Glucose

1.4. Versuch 5: Die neue Molisch-Probe mit Carvacrol zum Nachweis von Fructose und Saccharose

Materialien:
Reagenzgläser, Reagenzglasständer, mehrere Pasteurpipetten (Anzahlen variieren je nach Anzahl der untersuchten Zucker)

Chemikalien: ethanolische Carvacrol-Lösung (aus Versuch 2), Schwefelsäure (ω=98%), verschiedene Zuckerlösungen (siehe Tabelle), dest. Wasser

Tabelle 1: Konzentrationen der Zuckerlösungen für die Molisch-Probe mit Carvacrol

Zuckerart	Zucker	Konzentration
Pentosen	Arabinose	ω=5%
	Ribose	ω=5%
	Xylose	ω=5%
Desoxyzucker	Rhamnose	ω=1%
Hexosen	Glucose	ω=5%
	Fructose	ω=0,1%
	Galactose	ω=5%
	Saccharose	ω=0,1%
	Lactose	ω=5%
	Maltose	ω=5%

Durchführung:
In jedes Reagenzglas werden 2 Tropfen der zu untersuchenden Zuckerlösung, 5 Tropfen der ethanolischen Carvacrol-Lösung und 10 Tropfen Schwefelsäure gegeben. Der Versuchsansatz wird 10 Minuten stehen gelassen. Anschließend werden in jedes Reagenzglas 10 Tropfen dest. Wasser hinzugegeben und die sich ergebenden Färbungen miteinander verglichen. Da die Farbstoffbildung unterschiedlich schnell und intensiv erfolgt, müssen die Konzentrationen der Lösungen entsprechend angepasst werden, sodass sie gut miteinander vergleichbar sind. Entsprechende Konzentrationen können Tabelle 1 entnommen werden.
Beobachtung: Die untersuchten Pentose-Lösungen zeigen mit Carvacrol und Schwefelsäure nach der Zugabe von Wasser eine grün-blau-graue Färbung, der Desoxyzucker Rhamnose eine orangefarbene und die Hexose-Lösungen eine rosa-violette Färbung auf (Abbildung 4).

Auswertung: Für die untersuchten Vertreter der drei Zuckerarten ergeben sich optisch gut unterscheidbare Farbstoffe (Abbildung 4). Im ersten Schritt werden dieselben Farbstoffe gebildet wie im vorigen Versuch. Die Zugabe von Wasser führt nun aber durch die Veränderung des pH-Wertes zur Deprotonierung und somit zur Veränderung der Farbstoffe, die sich bei der Reaktion von Zucker mit Carvacrol unter Einwirkung von konzentrierter Schwefelsäure bilden.

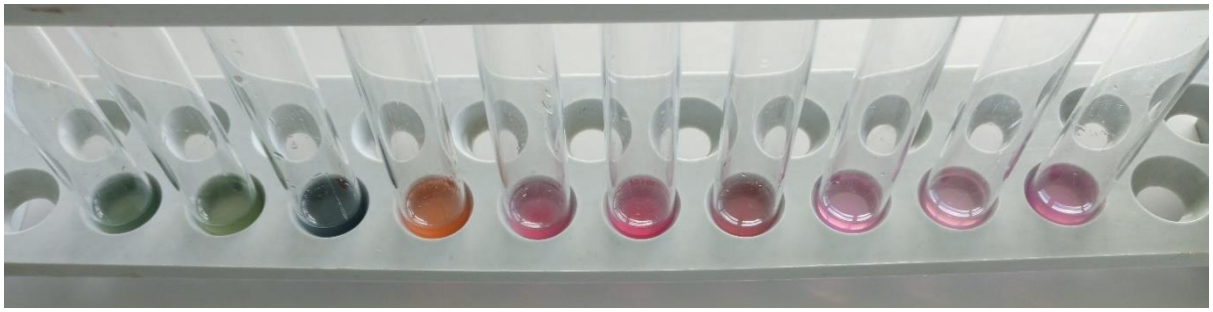


Abb. 4: verschiedene Zuckerlösungen mit Carvacrol und konzentrierter Schwefelsäure nach der Zugabe von Wasser (v.l.: Arabinose (ω=5%), Ribose (ω=5%), Xylose (ω=5%), Rhamnose (ω=1%), Glucose (ω=5%), Fructose (ω=0,1%), Galactose (ω=5%), Saccharose (ω=0,1%), Lactose (ω=5%), Maltose (ω=5%))

1.5. Modifizierte Molisch-Reaktion mit geringem α-Naphthol-Einsatz

Neben der vorgestellten Substitution von α-Naphthol durch Carvacrol bzw. der Verwendung einer ethanolischen Fertiglösung von α-Naphthol gibt es eine weitere Möglichkeit, das Gefahrenpotential der Molisch-Reaktion zu verringern, nämlich indem die Menge der eingesetzten Gefahrstoffe verringert wird. Traditionell wird die Molisch-Reaktion oft als „Ringreaktion“ durchgeführt, wie beispielsweise in Versuch 1 erläutert. Molisch selbst hat jedoch 1886 die Durchführung der Reaktion nicht als Ringreaktion beschrieben, sondern die einzelnen Bestandteile durch Schütteln miteinander vermengt [1]. Dabei kommt es bei Einsatz der herkömmlichen Mengen an Chemikalien jedoch zur Ausflockung des Farbstoffs. Modifiziert man dieses Experiment nun dahingehend, dass ein Tropfen einer Zuckerlösung (ω=1%) mit nur einem Tropfen ethanolischer α-Naphthol-Lösung (aus den vorigen Experimenten, ω≈6%) und 1 mL konzentrierter Schwefelsäure vermengt wird, so erhält man Farbstofflösungen, die nicht ausflocken. Im Schulunterricht ist es dann beispielsweise möglich, die RGB-Werte der Farbstoffe mit dem Smartphone (siehe S. 15) oder die Absorptionsmaxima der Farbstoffe mit dem Photometer (Abb. 5) zu bestimmen. Für photometrische Untersuchungen sollten aus Gründen der besseren Messbarkeit statt 1%iger

nur 0,1%ige Zuckerlösungen verwendet werden, weiterhin sollten die Messungen erst ca. 10 Minuten nach Zusammenfügen der drei Reagenzien durchgeführt werden.

Durch den hier beschriebenen Versuchsansatz kann das Gefahrenpotential der herkömmlichen Molisch-Probe mit α-Naphthol verringert werden, da mit kleineren Mengen von α-Naphthol und Schwefelsäure gearbeitet wird und zugleich wird die Problematik der Ausflockung umgangen, sodass eine bessere Untersuchung der Farbstoffe möglich ist.

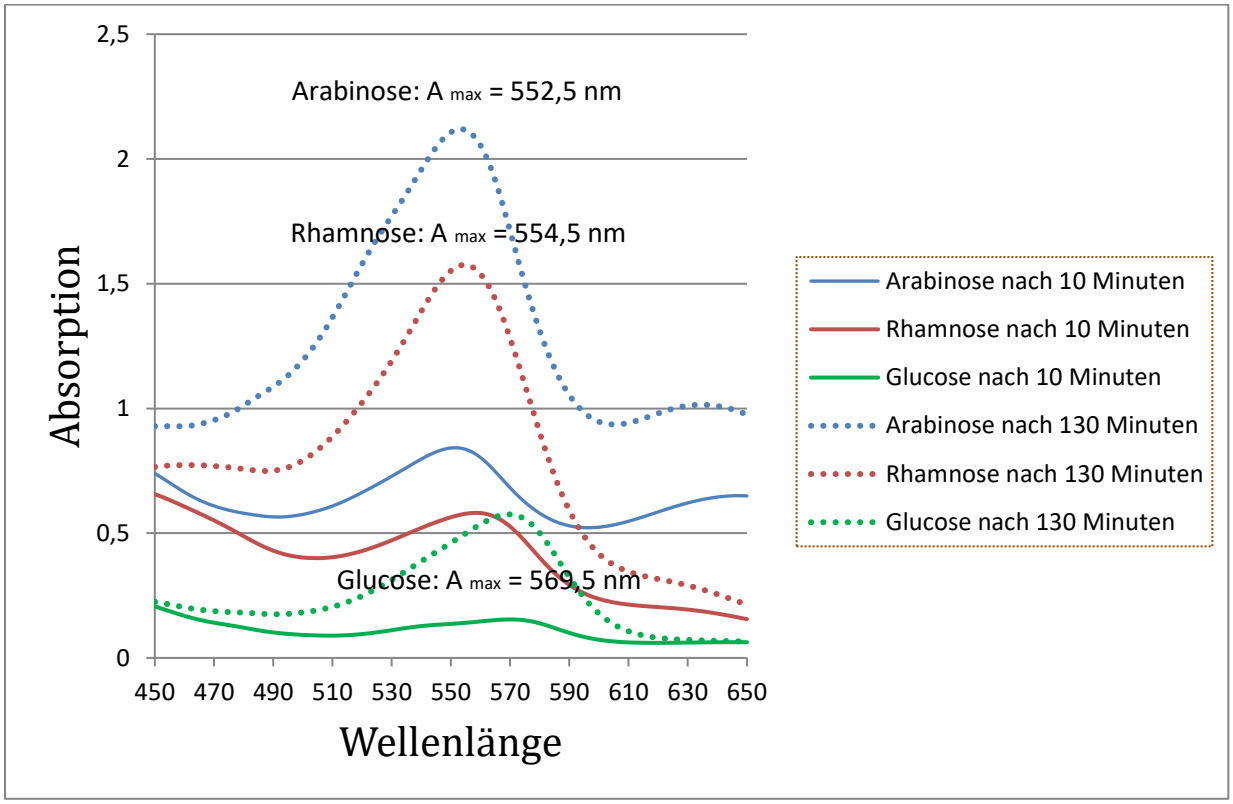


Abb. 5: Absorptionskurven der sich bildenden Farbstoffe von Arabinose, Rhamnose und Glucose mit ethanolischer α-Naphthol-Lösung

Literatur: [1] H. Molisch, *Monatsh. Chemie* **1886**, *7*, 198–209.

2 Charakterisierung von Farbstoffen mit dem Smartphone oder Tablet als Kolorimeter

Farbeindrücke sind ein sehr subjektives Merkmal. Zur validen Beschreibung bzw. Charakterisierung von Farbstoffen können diese im Labor beispielsweise photometrisch vermessen und so Absorptionsmaxima o.ä. bestimmt werden.
Im Schulunterricht können Farbstoffe anstelle eines Photometers auch mit dem Smartphone bzw. Tablet charakterisiert werden, beispielsweise um die Farbstoffe besser benennen zu können oder um die entsprechende Farbe in digitalen Versuchsprotokollen gut darstellen zu können. Für diese Bestimmung werden zusätzlich zu den Chemikalien und Materialien für die Experimente weitere Materialien benötigt.

Material:
Smartphone/Tablet, ein weißes Blatt, ein Karton, Holzklotz o.ä., eine durchsichtige 7-Tage-Pillendose (erhältlich z.B. im „1€-Shop“), eine gleichmäßige, großflächige Lichtquelle (z.B. ein Leuchttisch oder ein Overheadprojektor)

Theoretischer Hintergrund:
Farben werden in digitalen Systemen im RGB-System kodiert. Die auf einem Bildschirm sichtbare Farbe kommt durch die additive Farbmischung sogenannter Subpixel zustande. Die roten (R), grünen (G) und blauen (B) Subpixel leuchten bei den jeweiligen Farben unterschiedlich stark. Maximal kann ein Subpixel eine Leuchtintensität mit dem Wert 255 erreichen. Erscheint der Bildschirm weiß, so leuchten alle drei Subpixel maximal, d.h. die Farbcodierung ist R=255, G=255, B=255 [1,2]. Umgekehrt erscheint der Bildschirm schwarz bei minimaler bzw. nicht vorhandener Leuchtintensität, die Farbcordierung ist daher R=0, G=0, B=0.
Rote Farbe kommt dadurch zustande, dass die Intensität der blauen und grünen Subpixel abnimmt und der rote Subpixel dominiert. Ein „reines Rot“ hätte daher die Farbcodierung R=255, G=0, B=0 [2].
Um die jeweiligen Farben in den vorgestellten Versuchen besser beschreiben und von einem analogen Medium (Flüssigkeit im Reagenzglas) auf ein digitales Medium (digitales Versuchsprotokoll) übertragen zu können, kann das Smartphone bzw. Tablet als Kolorimeter eingesetzt werden. Dazu gibt es verschiedene Apps, wie z.B. Color Grab (Android) oder ColorAssist Free Edition (iOS), mit denen man RGB-Werte bestimmen kann.

2.1 Vermessung der Farbstoffe der verbesserten Molisch-Probe mit Carvacrol

Durchführung:

Die in Experiment 4 (Haupttext) erhaltenen Farbstofflösungen können in eine durchsichtige Pillendose oder andere geeignete Gefäße überführt werden. Nun wird das Smartphone bzw. Tablet mit der Color Grab- oder ColorAssist-App etwas erhöht auf einem kleinen Karton oder Holzklotz auf einem weißen, gut durchleuchteten Untergrund (z.B. ein weißes Papier auf einem Leuchttisch) positioniert. Die Pillendose wird unter dem Smartphone bzw. Tablet platziert und mit Hilfe der App können die RGB-Werte sowie ein Farbstoffname für jeden einzelnen Farbstoff bestimmt werden. Es ist wichtig, auf konstante, helle Lichtverhältnisse zu achten. Daher darf das Smartphone bzw. Tablet nicht bewegt werden. Um von einem untersuchten Farbstoff zum nächsten zu wechseln, wird die Pillendose verschoben bis die nächste, zu untersuchende Lösung im Fokus der Kamera positioniert ist (Abb. 6). In Tabelle 2 sind beispielhaft die Werte dargestellt, die für die Lösungen aus Versuch 4 „Eine verbesserte Molisch-Probe mit Carvacrol“ gemessen wurden.

Erstellen Schülerinnen und Schüler nun ein digitales Versuchsprotokoll, können mit Hilfe der RGB-Werte die bei dem Versuch zu beobachtenden Farben gut dargestellt werden, wie beispielsweise in Tabelle in der untersten Zeile.

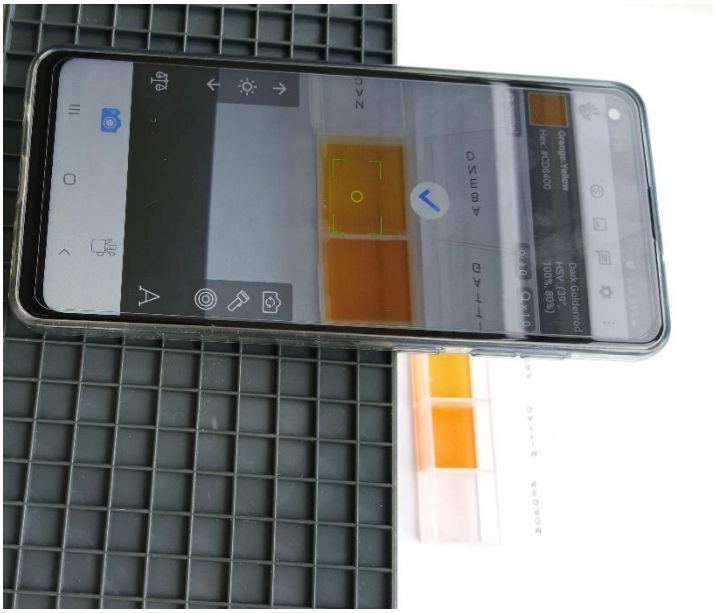


Abb. 6: RGB-Wert-Bestimmung mit dem Smartphone

Tabelle 2: Beispiele für gemessene R-, G-, B-Werte und die dazugehörigen Farbbezeichnungen aus der App Colour Grab für die Lösungen aus Versuch 4

Carvacrol mit …	Arabinose (Pentose)	Rhamnose (Desoxyzucker)	Glucose (Hexose)
R-Wert	255	255	252
G-Wert	145	114	232
B-Wert	11	0	217
Resultierende Farbe (Farbbezeichnung laut App)	Dark Orange (RAL 2007\ Luminous bright orange)	Safety Orange (RAL 2003\Pastel orange)	Serenade (RAL 9001\ cream)

Anzumerken ist, dass Schülerinnen und Schüler die unterschiedlichen Farbigkeiten der Hexose, Pentose und des Desoxyzuckers aufgrund der Ähnlichkeit der Farben auch als Verdünnungsreihe deuten könnten. Dem gegenüber steht jedoch das Argument, dass sich bei Verdünnungen nur einer der RGB-Werte ändert und die anderen konstant bleiben. Dieser Sachverhalt wird auch beim Smartphone-Photometer ausgenutzt (z.B. [2], [3]). Bei diesen Proben jedoch änderten sich sowohl der R-, als auch der G-, als auch der B-Wert (siehe Tabelle 2). Dies spricht gegen die Verdünnungsargumentation und dafür, dass jeweils andere Farbstoffe gebildet werden. Zudem sind unterschiedliche Absorptionsmaxima für die Farbstoffe messbar (vgl. Abb. 8 im Artikel).

2.2 Vermessung der Farbstoffe der modifizierten Molisch-Reaktion mit geringem Einsatz von α-Naphthol

Unter 1.5. wird eine modifizierte Version der Molisch-Reaktion mit geringerem α-Naphthol-Einsatz vorgestellt (vgl. S. 10). Soll der dabei entstehende Farbstoff kolorimetrisch mit dem Smartphone bzw. Tablet vermessen werden**,** muss die Menge an eingesetzter Zuckerlösung angepasst werden, um nicht zu stark konzentrierte Lösungen zu erhalten, welche zu dunkel zum Vermessen sind.

Material:
3 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Pasteurpipetten, Messpipette (1 mL), ein Smartphone bzw. Tablet, ein weißes Blatt, ein Karton, Holzklotz o.ä., eine durchsichtige 7-Tage-Pillendose (erhältlich z.B. im „1€-Shop“), eine gleichmäßige, großflächige Lichtquelle (z.B. ein Leuchttisch oder ein Overheadprojektor)

Chemikalien:
Arabinose-Lösung (ω=0,1%), Rhamnose-Lösung (ω=0,1%), Glucose-Lösung (ω=0,1%), ethanolische α-Naphthol-Lösung (ω=6%), konz. Schwefelsäure

Durchführung:
Es werden Zuckerlösungen (ω=0,1%) von Arabinose, Rhamnose und Glucose verwendet. Drei Tropfen der jeweiligen Zuckerlösung werden in ein Reagenzglas gegeben und anschließen ein Tropfen einer ethanolischen α-Naphthol-Lösung (ω=6%) und 1 mL konzentrierte Schwefelsäure hinzugegeben. Da die Reaktion aufgrund der geringen Chemikalienmengen langsam abläuft, sollten die RGB-Werte erst 1-2 Minuten nach Zusammenfügen der drei Reagenzien gemessen werden.
Die Lösungen aus den Reagenzgläsern werden in eine durchsichtige Pillendose überführt und wie oben beschrieben vermessen. Abb. 7 zeigt beispielhaft das Ergebnis einer solchen Messung.

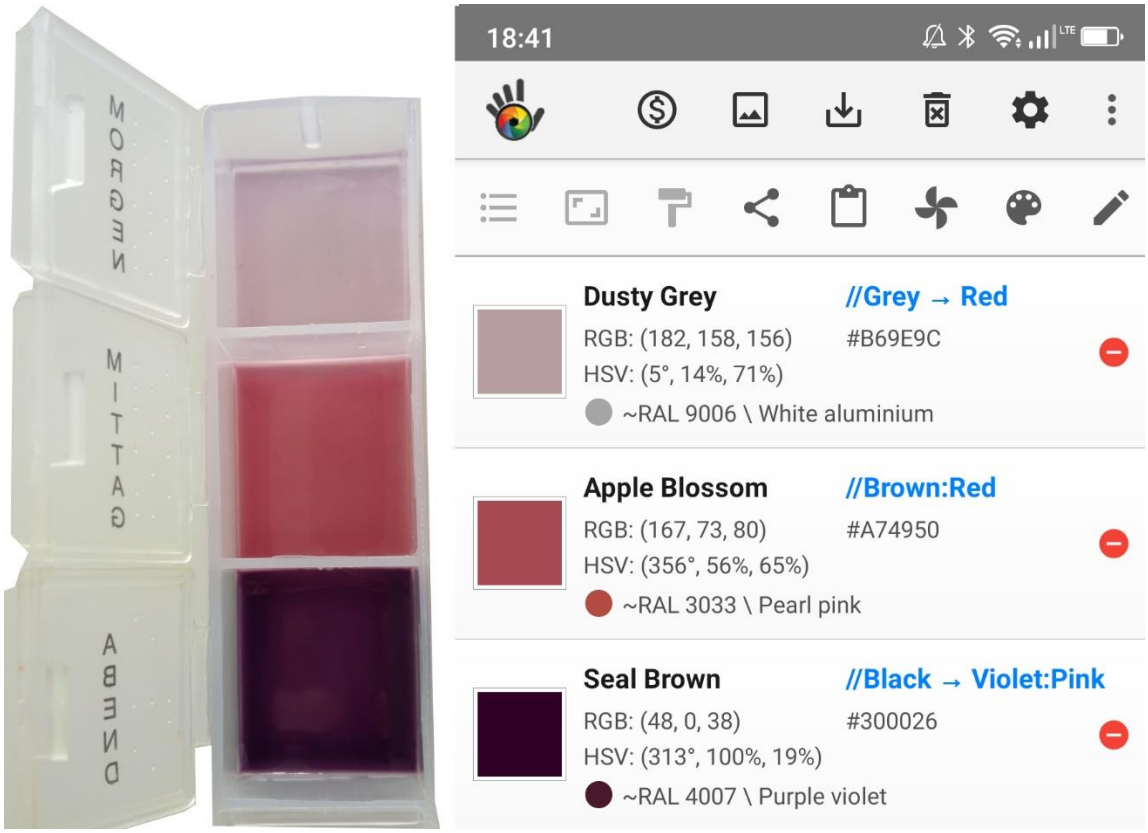


Abb. 7: RGB-Wert-Bestimmung mit dem Smartphone für die modifizierte Molisch-Reaktion mit geringem α-Naphthol-Einsatz mit den Zuckern Glucose, Rhamnose und Arabinose (von oben nach unten)

Literatur

[1] A. Lühken, A., S. Weiß, S. und N-. Wigger **2014**, *PdN-ChidS*, *63* (4), 22-27.

[2] C. Thyssen, L. Hartner und C. Nieß **2016**, *MNU Themenspezial MINT 2017*, 90-105.

[3] H. Rautenstrauch, *CHEMKON* **2020**, *27* (8), 388-396.

3 Welche Reaktion findet bei der Molisch-Probe statt?

Offen ist die Frage nach der Struktur der bei der Molisch-Probe entstehenden Farbstoff-Moleküle. Hier sollten zwei verschiedene Möglichkeiten genannt werden: die Strukturvorschläge von Hellmut Bredereck [1, 2] und die Strukturvorschläge von Ohta et. al [3]. Beide Arbeitsgruppen beschäftigten sich im vergangenen Jahrhundert mit der Aufklärung der Molisch-Probe mit α-Naphthol. Sie kamen zu unterschiedlichen Ergebnissen, die hier kurz genannt werden sollen. Beide gehen von einer Addition zweier bzw. einem Molekül α-Naphthol an Hydroxymethylfurfural (bei Hexosen) bzw. Furfural (bei Pentosen) aus (Abb. 8). Das Hydroxymethylfurfural entsteht durch den säurekatalysierten Abbau von Hexosen, das Furfural beim Abbau von Pentosen.

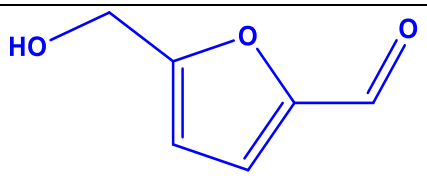
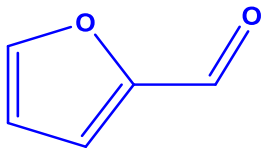
	
Hydroxymethylfurfural (HMF), Abbauprodukt der Hexosen	Furfural, Abbauprodukt der Pentosen

Abb. 8: Strukturformeln von HMF (links) und Furfural (rechts)

Im Weiteren soll hier nur auf die Struktur der Verbindung eingegangen werden, wie sie bei Hexosen aufkommen soll. Bredereck [1, 2] nimmt an, dass die Addition nur an der Seitenkette stattfindet, die ursprünglich die Aldehydgruppe darstellte (vgl. Abb. 9 links). Die Gruppe um Ohta [3] nutzte in den von ihnen durchgeführten Synthesen ein abgewandeltes α-Naphthol, welches in Position 2 eine Methylierung aufwies, um eine Sulfonierung unter den Bedingungen der Molisch-Probe zu verhindern. Der Strukturvorschlag von Ohta et al. zeigt ein ähnliches Produkt mit dem Unterschied, dass hier die Addition sowohl an der Seitenkette, die die Aldehydgruppe, als auch an der Seitenkette, die die Hydroxygruppe trägt, ablaufen soll (vgl. Abb. 9 rechts). Die von Ohta et al. isolierte Substanz wurde auf verschiedenen Wegen charakterisiert, unter anderem wurden IR-, UV- Spektren, ^{1}H-NMR, MS und der Schmelzpunkt (221-223°C) bestimmt.

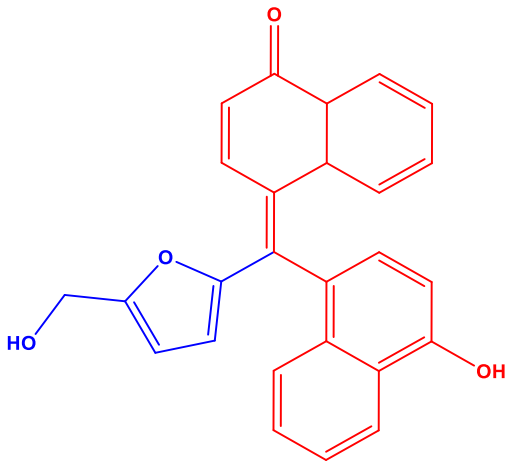
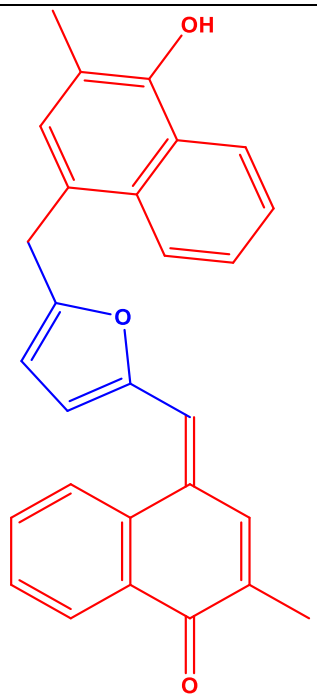
	
Strukturvorschlag nach Bredereck [1, 2] für den entstehenden Farbstoff der Molisch-Probe	Strukturvorschlag von Ohta et al. [3] für den Farbstoff, der bei der Molisch-Probe entsteht

Abb. 9: Strukturvorschläge zu den Farbstoffen der Molisch-Probe

Eine abschließende Aufklärung zur ablaufenden Reaktion und der Struktur des sich bildenden Farbstoffes mit α-Naphthol steht somit noch aus. Ebenso ist noch nicht untersucht, welche Reaktion mit Carvacrol abläuft.

Literatur

[1] H. Bredereck, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1931**, *64* (11), 2856–2859.

[2] H. Bredereck, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1932**, *65* (7), 1110-1113.

[3] M. Ohta, M. Iwasaki, K. Kouno und Y. Ueda, *Chem. Pharm. Bull* **1985**, *33* (7), 2862–2865.

4 Arbeitsblatt

_____

Name, Vorname

Wodurch unterscheiden sich Kohlenhydrate?

Je nach Vorwissen der Lerngruppe können geeignete Hilfsmittel (Artikel, Internet) erlaubt werden.

1) A) Kohlenhydrate können anhand der Anzahl der miteinander verknüpften Monomere näher bezeichnet werden. Benenne drei Gruppen!

   M_____

   O_____

   P_____

   B) Nenne für jede Gruppe ein Beispiel!

2) A) Wie nennt man monomere Zucker, die aus fünf oder sechs Kohlenstoffatomen bestehen?

   P_____

   H_____

   B) Nenne jeweils zwei Beispiele!

3) Was ist der Unterschied zwischen Ribose und Desoxyribose? Erläutere und zeichne jeweils eine Strukturformel, ggf. auf der Rückseite!

4) Wie wird die Molisch-Probe a) in der klassischen Form und b) in der Version mit dem Ersatzstoff Carvacrol durchgeführt? Erläutere am Beispiel von Glucose!

5) A) Warum ist der Einsatz eines Smartphone-Kolorimeters besser als eine Beurteilung der Farbe mit bloßem Auge?

   B) Wie funktioniert dieses Verfahren? Erkläre unter Verwendung von farbigen Zeichnungen oder Bildausschnitten! (Benutze für die Antwort den Platz auf der Rückseite)

6) Welche Strukturformeln liegen den farbigen Verbindungen zugrunde? Erkläre anhand einer Skizze, ggf. auf der Rückseite.

Musterlösungen zum Arbeitsblatt

1. A: Monosaccharide, Oligosaccharide, Polysaccharide, B: (auch andere Antworten können richtig sein): Glucose, Saccharose, Amylose

2. A: Pentose, Hexose; B: Ribose, Glucose

3. Ribose ist eine Pentose. Desoxyribose ist eine Ribose, der ein Sauerstoffatom fehlt.

4. Siehe Artikel Abschnitt 3 und Supp. Info Abschnitt 1.1 ff.

5. Siehe Supp. Info Abschnitt 2

6. Siehe Supp. Info Abb. 9 und dazugehöriger Text