

Schülerversuche 2018

Lipasen:

1. Wirkung der Lipase in Pankreatin:

Material :

Reagenzgläser oder Greinerröhrchen (15 mL) und Ständer, Becherglas (100 mL), Spatel, Tropfpipette, Stoppuhr, Messzylinder (50 mL).

Vollmilch, Phenolphthalein-Lösung, Pankreatin-Lösung (eine Spatelspitze Pankreatin in 50 mL destilliertem Wasser lösen) oder gemörserte Pankreatin-Tablette, oder alternativ zum Pankreatin Waschmittel mit Lipasen verwenden, Natriumcarbonat (Backpulver).

Durchführung:

Gebe 5 mL Vollmilch sowie einen Tropfen Phenolphthalein-Lösung in das Röhrchen. Vermische im Becherglas 20 mL Pankreatin-Lösung mit einer Spatelspitze Natriumcarbonat. Füge nun tropfenweise die Pankreatin-Lösung zu der Milch im Reagenzglas, bis sich eine leichte Rosafärbung erkennen lässt. Stopp solange die Zeit, bis du eine Farbveränderung beobachtest.

Ergebnis:

Nach ca. 20 Minuten entfärbt sich die Lösung. Die im Pankreatin enthaltenen Lipasen spalten von den Fetten der Vollmilch Fettsäuren ab, wodurch eine pH-Wert Verschiebung vom alkalischen (Natriumcarbonat) zum sauren Bereich erfolgt.

2. Fettspaltung durch Lipasen

Material:

Verschiedene Öle (z.B. Olivenöl), Wasser, Reagenzgläser, Phenolphthaleinlösung (fertig), Natriumhydrocarbonat (Backpulver), Lipase (Verdauungshilfetabletten, die Lipase enthalten - aus der Apotheke).

Durchführung:

Man gibt 2 ml Speiseöl und 5 ml Wasser in ein Reagenzglas. Dann fügt man 3 Tropfen Phenolphthalein und dann Zugabe von Natriumcarbonatlösung, bis zu einer leichten Rotfärbung; Zugabe einer Spatelspitze Lipase (zerdrückte Tablette zur Fettverdauung). Man schüttelt gut und nach wenigen Minuten entfärbt sich die Mischung.

Ergebnis:

Durch die Fettspaltung entstehen Glycerin und Fettsäuren. Da Phenolphthalein in saurer Lösung die Farbe verliert, wird durch den Farbumschlag die Entstehung von Säuren (Fettsäuren) angezeigt. (Der Nachweis von Glycerin ist wesentlich schwieriger. Ein durchsichtiger Belag am Glasrand deutet auf die Entstehung von Glycerin hin.)

Amylasen:

1. Nachweis von Amylaseaktivität in Getreide

Materialien:

Versch. Getreidearten (Roggenkörner), Wasser, Kartoffel- oder Weizenstärke (Mehl), Lugol'sche Lösung, Mörser, Reagenzgefäße (Eppis; Greinerröhrchen); Spül- und Waschmittel mit Amylasen

Durchführung:

- Roggenkörner (oder anderes Getreide) werden über Nacht in Leitungswasser eingeweicht.
- Eine 1%ige Stärkelösung wird mit Wasser (Leitungswasser ist ok) und Kartoffel- oder Weizenstärke hergestellt. Die Zugabe der Lugol'schen Lösung (2%) sollte frisch erfolgen (wenige Tropfen reichen, die Lösung sollte schön violett sein).
- 10-20 Roggenkörner werden mit ein wenig Wasser (Leitungswasser ca 5 mL) in einem Mörser zerstampft, sodass die Körner aufgebrochen werden, jedoch nicht ihre Integrität verlieren (sonst wird das Überführen in die Eppis eine Patzerei).
- Anschließend werden 2-3 aufgebrochene Körner mit 500 µL Stärke/Lugol Lösung vermischt und einige Minuten bei 37°C inkubiert. Die Reaktion kann durch Schütteln bei 50°C und 600rpm in einem Thermomixer beschleunigt werden.
- Als Negativ-Kontrolle wird eine Stärke/Lugol Mischung ohne Roggenkörner gleichzeitig inkubiert.

Alternativ zu Roggenkörner:

Diverse Spül- und Waschmittel, wo Amylasen drin sein sollen (funktioniert unterschiedlich gut), Fleckenspray, -entferner, Spucke

Die entstandene Glucose kann auch mit den Glucoseteststreifen nachgewiesen werden. Das ist aber etwas schwieriger, da allerdings hauptsächlich Maltose und weniger Glucose entstehen.

Ergebnis:

Die Aktivität der Amylasen in den Roggenkörnern kann durch den Farbumschlag von bläulich/violett auf farblos beobachtet werden. Da nur intakte Stärkepolymere von Iod angefärbt werden, kann die Depolymerisierung und Abspaltung in Monomer- und Dimerzucker auf diese Art und Weise beobachtet werden. Außerhalb des Laborsettings in der Küche kann die Aktivität alternativ auch durch die Entstehung eines süßlichen Geschmacks nachgewiesen werden (Mehl-neutral, Monomierzucker-süß).

Die in der Stärke vorhandene Amylose besitzt eine helixförmige Konformation mit einem kanalartigen Hohlraum in der Mitte. In diesen können sich Polyiodidketten einlagern. In diesen aus I₂-Molekülen aufgebauten Ketten, die sich an ein in der Lösung vorhandenes Iodidion anlagern, sind alle sieben Valenzelektronen des Iod-Atoms delokalisiert. Dadurch verringert sich die Anregungsenergie der Valenzelektronen, sodass sie im langwelligeren Bereich Licht absorbieren und dazu komplementär blau-schwarz erscheinen.

2. Stärkespaltung durch Amylasen in Kartoffel:

Materialien:

Gekochte (mehlige) und rohe Kartoffel, Iodlösung, Mundspeichel, Messer, Petrischale, Pipette, (eventuell Waschmittel)

Durchführung:

Eine gekochte Kartoffel wird in der Mitte durchgeschnitten und in eine Petrischale gelegt. Auf die Schnittfläche wird mehrmals mit Speichel derselbe Strich, dasselbe Kreuz o. ä. gezeichnet. Die Kartoffelhälfte wird liegen gelassen. Nach 10 Minuten wird die verdünnte Lugolsche Lösung über die gesamte Schnittfläche geträufelt. Die Oberfläche färbt sich blau, nur dort wo sich Speichel befindet, verschwindet die blaue Färbung, da die Stärke zu Glucose abgebaut wird. Als Vergleich auch rohe Kartoffel nehmen.

Testen, ob das auch mit Waschmittel funktioniert, Waschmittel statt Speichel auf die Kartoffel.

Ergebnis:

Die SchülerInnen sollen erkennen, dass Kartoffel aus Stärke bestehen und diese mit Iod-Lösung nachgewiesen werden kann. Es sollte klar werden, dass die Verdauung bereits im Mund beginnt. Die Amylase im Mundspeichel bewirkt, dass sich Stärke spaltet und in viele Tausend Zweifachzucker bis hin zur Glucose abbaut. Das Verschwinden der Stärke kann man durch die Schwächung der Blaufärbung der Stärke unmittelbar verfolgen.

Anmerkung:

Der Versuch gelingt nur, wenn die Speichellieferanten längere Zeit vor Beginn des Versuchs nichts gegessen haben- auch keinen Kaugummi gekaut haben. Fehlendes Hungergefühl reduziert den Amylase-Anteil im Speichel so stark, dass im Versuch kaum Enzymaktivität nachweisbar ist.

3. Nachweis von Amylasen in Wasch- und Reinigungsmitteln mit Phadebas-Tabletten

Materialien:

Reagenzgläser, RG-Ständer, Phadebas-Tabletten , Vollwaschmittel (amylasehaltig), Feinwaschmittel (enzymfrei), Maschinengeschirrspülmittel (amylasehaltig), Handgeschirrspülmittel (enzymfrei), evtl. α -Amylase, destilliertes Wasser, Wasserbad, Pinzette, Vortex, 0.5 M Natronlauge

Durchführung:

In einem Röhrchen Waschmittel bzw. die Amylase (200 μ l) in 4 ml dest. Wasser lösen, als Blindprobe nur Wasser, und für 5 Minuten im Wasserbad bei 37°C inkubieren. Zugabe von jeweils einer Tablette in jedes Teströhrchen mit einer Pinzette, sofort für 10 Sekunden vortexen und wieder im Wasserbad bei 37°C für genau 15 Minuten inkubieren. Dann erfolgt die Zugabe von 1 ml 0.5M Natronlauge und wieder vortexen.

Ergebnis:

Die Tabletten bestehen aus einer durch Quervernetzung wasserunlöslichen Stärke, die durch einen kovalent gebundenen Farbstoff blau gefärbt ist. Durch α -Amylase wird diese Stärke zu wasserlöslichen blauen Fragmenten hydrolysiert. Bei der Durchführung des Tests ist darauf zu achten, dass keine Verunreinigung mit Speichel oder Schweiß erfolgt, da beide einen hohen Amylasegehalt haben.

Proteasen:

1. Proteasen in Früchten

Materialien :

Smoothie maker oder Mixer, 50 mL und 15 mL Greinerröhrchen oder Gefäße, versch. Früchte (Ananas, Kiwi, Papaya), Gelatine, Gummibärchen, Apfel- Ananassaft und/oder Orangensaft aus der Packung, Agar-Agar, Wasch und Spülmittel, Zahnpasta, Enzympeelings, Messer, Schneidbrett, destilliertes Wasser

Durchführung:

- Früchte (Ananas, Papaya, Tomate, Kiwi, etc.) im Smoothie maker/mit Mixer und mit Wasser pürieren und umfüllen in 50 mL Röhrchen oder sonstige verschließbare Gefäße
- 4 g Gelatine in 100 mL Wasser quellen lassen
- 5 mL in 15 mL Röhrchen einfüllen, die dann im Wasserbad (40°C) gelagert werden
- 1-3 mL Fruchtsmoothie in die Gelatineröhrchen geben
- Schütteln bis sich alles vermischt hat
- als Kontrolle nur Wasser oder Apfelsaft, oder Ananassaft/Orangensaft aus TetraPak (da kann man dann gleich erklären, dass Enzyme beim Pasteurisieren vom Saft inaktiviert werden, teilweise gibt es aber ganz langsam noch eine Reaktion)

Alternative:

- Gummibärchen mit in 15 mL Röhrchen und dann mit Smoothie bzw Wasser bedecken
- Eventuell als Alternative zur grünen Kiwi die Gold Kiwi nehmen, die hat angeblich weniger Protease (hab ich noch nicht ausprobiert, da es die nicht immer gibt, auch bei grünen Kiwis haben wir Schwankungen beobachtet)

Erweiterung:

- Erhitzen des Smoothies im Thermoblock oder im Wasserbad, dann auf Gummibärchen geben → Enzym wird inaktiviert
- Statt Gummibärchen mit Gelatine, vegane Gummibärchen auf Agar Agar Basis verwenden (Agar Agar ist ja ein Polysaccharide, das nicht von Proteasen abgebaut wird)

- Statt Früchten, Wasch- und Spülmittel mit Proteasen verwenden, oder Enzym peelings (z.B. von Balea, DM)
- Man könnte natürlich auch Fleisch einlegen, aber aus Erfahrung weiß ich, dass das besonders für Teenager Mädchen ein Problem ist und ist ja tatsächlich ein Missbrauch, ein Stück Tier nicht gegessen, sondern weggeworfen wird (man kann es aber als Anwendungsbeispiel erwähnen).

Alternative:

Kiwi oder Ananas mit Joghurt (kann ruhig lactosefrei sein wegen Allergikern) mischen und nach einiger Zeit kosten, schmeckt bitter!!!

Ergebnis:

Die SchülerInnen lernen, dass Gelatine ein Polypeptid ist bzw. aus tierischen Eiweiß besteht und durch die Einwirkung von Enzymen, welche z.B. in Kiwi (Actinidin), Ananas (Bromelain), Papaya (Papain) enthalten sind, nicht ausgereift. Dabei sollte den SchülerInnen veranschaulicht werden, dass auch Nahrungsmittel Enzyme enthalten.

2. Nachweis von Proteinen mit Ninhydrin

Materialien:

2 Bechergläser (200 mL), Trichter, Glasstab, Watte, 3 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Tropfpipette, 3 Messpipetten (2 x 5 mL, 1 x 10 mL), Messkolben (100 mL), Becherglas als Wasserbad, Bunsenbrenner, Drahtnetz, Dreifuß, Waage.

Milch, Eiweiß-Lösung (hergestellt aus dem Eiklar eines Hühnereies), Ethanol, destilliertes Wasser, Ninhydrin-Lösung (0,1 g Ninhydrin in 10 mL 96 % Ethanol lösen und auf 100 mL mit destilliertem Wasser auffüllen)

Durchführung:

Trenne das Eiklar vom Eigelb und versetze das Eiklar mit 100 mL destilliertes Wasser. Mische gut durch und filtriere die Lösung durch etwas Watte.

Gebe in das 1. Reagenzglas 5 mL der Eiweiß-Lösung, in das 2. Reagenzglas 5 mL destilliertes Wasser (als Blindprobe) und in das 3. Reagenzglas 5 mL Milch. Versetze alle drei Proben mit 1 mL Ninhydrin-Lösung und erhitze in einem siedenden Wasserbad.

Beobachte, was passiert.

Ergebnis:

Die Lösungen in dem 1. und 3. Reagenzglas verfärben sich nach kurzer Zeit rot- bis blauviolett.

3. Nachweis von Aminosäuren mit Ninhydrin

Materialien:

Sprühflasche, Papier, 2 Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Spatel, Wasserbad (Fön, Bügeleisen), 1%ige Ninhydrin-Lösung, Glycin oder andere Aminosäure (z. B. Alanin), Prolin.

Durchführung:

a) Finger- oder Handabdrücke auf Papier mit einer 1%igen Ninhydrin-Lösung besprühen und trocknen lassen. Mit dem Fön oder mit einem schwach eingestellten Bügeleisen auf 80-100°C erwärmen. Die Abdrücke werden als violette Verfärbungen sichtbar.

b) In zwei Reagenzgläsern eine Spatelspitze Glycin bzw. Prolin in Wasser lösen, etwa 1 ml der Ninhydrin-Lösung zugeben und im Wasserbad erwärmen. Bei Prolin tritt eine Gelbfärbung auf, bei Glycin (und allen anderen Aminosäuren mit primären Aminogruppen) eine blauviolette Färbung.

Ergebnis:

Da im Schweiß Aminosäuren vorkommen, können diese mit Ninhydrin reagieren und die Finger- bzw. Handabdrücke sichtbar machen.

⇒ Glycin: Ninhydrin reagiert mit primären Aminogruppen unter Dimerisierung. Die Aminosäure wird dabei decarboxyliert (CO₂ wird abgespalten) und die Aminogruppe auf Ninhydrin übertragen. Aus der Aminosäure entsteht ein Aldehyd. Mit einem zweiten Ninhydrin-Molekül wird das violette Produkt gebildet, der als Ruhemanns Purpur bezeichnete Farbstoff.

⇒ Prolin enthält eine sekundäre Aminogruppe (es sind also zwei Kohlenstoffatome an Stickstoff gebunden). Die Aminogruppe kann nicht auf Ninhydrin übertragen werden. Es bildet sich ein gelb gefärbtes Additionsprodukt aus je einem Molekül Ninhydrin und Prolin.

4. Nachweis von Proteasen im Waschmittel

Materialien:

Gummibärchen (mit Gelatine), Feinwaschmittel, Glasschalen oder kleine Bechergläser

Durchführung:

Ein Spatel Waschmittel wird in etwas Wasser gelöst/dispergiert und die Lösung in ein Glasschälchen gegeben. Das zweite Schälchen wird mit Wasser gefüllt. In beide Schälchen kommt ein rotes Gummibärchen. Nach 4-5 Stunden ist das Gummibärchen in Wasser stark gequollen, hat aber Form und Farbe behalten. Im Waschmittel ist das Bärchen deutlich kleiner geworden und ein großer Teil der Farbstoffe wurde ausgespült.

Ergebnis:

Die meisten Gummibärchen enthalten Gelatine als Verdickungsmittel. Gelatine quillt in Wasser auf, löst sich aber nicht. In diesem Gel bleiben auch die anderen Inhaltsstoffe - z.B. Farbstoffe - gebunden.

Proteasen bauen die Gelatine teilweise ab. Das Gummibärchen löst sich dadurch nach und nach auf und die Farbstoffe werden freigesetzt. Man beobachtet dabei oft auch eine leichte

Farbänderung, da einige Tenside basisch reagieren und heute zumeist Pflanzenextrakte zum Färben der Süßwaren verwendet werden.

Lactasen:

1. Nachweis von Laktaseaktivität

Materialien:

Verschiedene Milchprodukte (Vollmilch, laktosefreie Milch, Naturjoghurt, Buttermilch, Sauerrahm, Kefir, Schlagobers, Molke), Laktasetabletten, Glukoseteststreifen (Diabur-Test 5000 oder Medi-Test Glucose für Urin), Mörser, 50 mL Röhrchen, Spatel

Durchführung:

Man gibt 25 mL Milch (entspricht ca. 1 g Lactose) in ein 50 mL Röhrchen. Dann wird eine Laktase-Tablette im Mörser zerstoßen und mit einer Spatel die Hälfte zur Milch dazugegeben und geschüttelt. Mit einem Glukoseteststreifen kann ein Farbumschlag beobachtet werden.

Ergebnis:

Lactose ist ein nur in der Milch vorkommendes Disaccharid, das aus Glucose und Galactose besteht. Da dieses Molekül nur in der Nahrung der Säuglinge vorkommt, wird die Lactase (das Lactose-spaltende Enzym) bei den meisten Säugern nur in dieser Entwicklungsphase gebildet. Auch beim größten Teil der Menschen (etwa 75%) wird die Lactase-Produktion nach Ende der Stillzeit eingestellt. Es resultiert eine Lactose-Intoleranz, da der Milchzucker nun nicht mehr abgebaut wird (Folge sind dann Verdauungsstörungen).

Je mehr Glucose vorhanden ist, desto intensiver ist die Färbung des Glukoseteststreifens. Bei handelsüblichen Teststreifen ist ein Farbumschlag von gelb zu grün zu beobachten.

Herstellung von Joghurt:

(3 Schulstunden)

Benötigte Materialien:

- 1 Brutschrank oder Warmhaltebox aus Styropor mit Deckel
- Haushaltsfolie
- 1 Herdplatte
- 1 Kochlöffel oder 1 Schneebesen
- 1 Kochtopf
- Tassen oder Gläser
- Teelöffel
- 1 Küchenmesser
- 1 Thermometer (Skala bis 100 °C)
- 3 Liter Milch (100 ml pro Schüler)
- 3 Becher Vollmilchjoghurt (ausreichend für eine Schulklasse)
- 1 Zitrone

Durchführung:

- Die Milch in Portionen von je 1 Liter auf 72 °C/90°C erhitzen
- Gleich darauf die Milch auf 45 °C/30°C abkühlen.
- Einen Teelöffel Joghurt in ein Gefäß (Tasse oder Glas) füllen.
- Die abgekühlte Milch dazugeben.
- Die Mischung mit einem Teelöffel verrühren.
- Das Gefäß mit Haushaltsfolie verschließen.
- Das Gefäß einige Stunden bzw. über Nacht in den Brutschrank bei 37 °C oder in die Warmhaltebox stellen.
- Parallel eine halbe Zitrone in ein Glas Milch auspressen. Die Milch etwa eine Schulstunde stehen lassen.

Beobachtung:

- Nach einigen Stunden in der Wärme ist der Joghurt dick geworden.
- Bereits beim Abziehen der Haushaltsfolie von den Gefäßen ist sein typischer Geruch wahrnehmbar.
- Der Joghurt schmeckt säuerlich.

- Der Zitronensaft führt zum Ausflocken der Milch und später zum „Dickwerden“.

Erklärung:

- Durch das anfängliche Erhitzen der Milch auf 72 °C werden Bakterien in der Milch abgetötet, die den Joghurt verderben könnten.
- Im Joghurt erzeugen die Bakterien der Joghurtkulturen Milchsäure, die das Eiweiß der Milch zum Ausflocken bringt und daher die Milch „dick macht“.
- Dass Säure die Ursache für das Ausflocken ist, zeigt der Vergleich mit der Milch, der Zitronensaft zugesetzt wurde.

Cellulasen als Additive in Waschmitteln:

Benötigte Materialien:

- 4 Reagenzgläser
- Vollwaschmittel (mit Cellulasen und Bleichmittel)
- Color-Waschmittel (mit Cellulasen, ohne Bleichmittel)
- Basis-Waschmittel oder Wollwaschmittel (ohne Enzyme und Bleichmittel)
- braune Zwiebelschalen
- Leitungswasser

Durchführung:

- In jedes Reagenzglas gleiche Mengen kleiner Zwiebelschalenstücke geben und die Gläser zur Hälfte mit Wasser füllen.
- Das erste Glas dient als Vergleich.
- Zum zweiten Glas einen Spatel des Vollwaschmittels geben, zum dritten einen Spatel Color-Waschmittel und zum letzten Cellulase-freies Basis- oder Wollwaschmittel. Gut schütteln. Die Ansätze über Nacht stehen lassen.

Beobachtung:

- In Glas 1 (Wasser) und 4 (Basis- oder Wollwaschmittel) ist das Wasser gelb-braun gefärbt, die Zwiebelschalen zeigen aber noch ihre bräunliche Farbe.
- In Glas 2 (Vollwaschmittel) sind Lösung und Zwiebelschalen kaum noch gefärbt.
- Die Lösung in Glas 3 (Color-Waschmittel) ist dunkelbraun, die Schalen sind teilweise entfärbt.
- Zur Aktivierung der Bleichmittel (Glas 2) muss der Ansatz evtl. etwas im Wasserbad erwärmt werden.

Erklärung:

- Die braunen Farbstoffe sind in den oberen Zellschichten der Zwiebelschalen eingelagert. Sie können mit Wasser extrahiert werden, dieser Prozess dauert jedoch relativ lange (Glas 1).
- Cellulasen greifen diese Zellschichten an, wobei die Farbstoffe schneller freigesetzt werden (Glas 2 + 3). Dadurch sind die Farbstoffe auch für Bleichmittel, z. B. aus Vollwaschmitteln, leichter angreifbar. Die gelösten Farbstoffe werden entfärbt (Glas 2).
- Waschmittel ohne Cellulasen bewirken dagegen keine wesentliche Farbänderung (Glas 4)