

Kohlenhydrate

1. Zur Einführung

1.1 Aufbau und Einteilung der Kohlenhydrate

Die Zuckerchemie war lange Zeit ein sehr schwer zu bearbeitendes Gebiet. Einer der Hauptgründe dafür war, dass bei der Isolierung bzw. der Aufarbeitung von Reaktionsprodukten mit Zuckern oft keine oder nur schlecht kristallisierbare Substanzen erhalten wurden. Bis Mitte des 19. Jahrhunderts konnte man daher nur die Summenformel $C_6H_{12}O_6$ für Glucose (u.a.) und konnte durch Veresterung mit Essigsäure OH-Gruppen in den Zuckern nachweisen. Die Fehling- und die Tollens (Silberspiegel)-Reaktion zeigten ferner die Anwesenheit der Aldehydgruppe in den Zuckern. Es war so möglich, Zucker als Polyalkohole mit einer Aldehyd-Funktion (Bsp. Glucose) oder einer Keto-Gruppe (Bsp. Fructose) zu beschreiben.

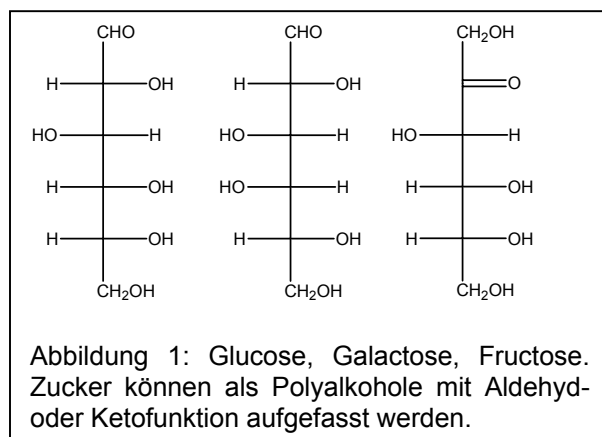


Abbildung 1: Glucose, Galactose, Fructose. Zucker können als Polyalkohole mit Aldehyd- oder Ketofunktion aufgefasst werden.

Mit der Spaltung durch Säuren (Hydrolyse) konnte gezeigt werden, dass es zusammengesetzte Zucker, wie etwa die Raffinose, Saccharose (Rohrzucker) und die Stärke gibt: die heutigen Bezeichnungen dafür sind **Monosaccharide** (nur ein Baustein, Bsp. Glucose, Fructose, ...), **Disaccharide** (zwei Bausteine, Bsp. Maltose, Saccharose), Oligosaccharide und **Polysaccharide** (> drei Bausteine, Bsp. Cellulose mit bis zu 5000 Einheiten).

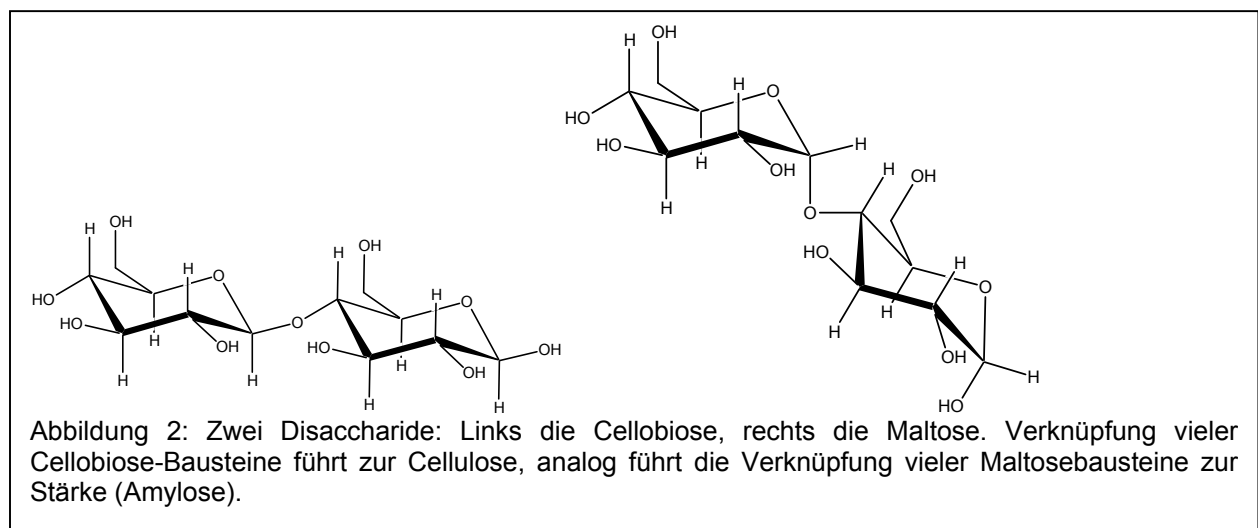
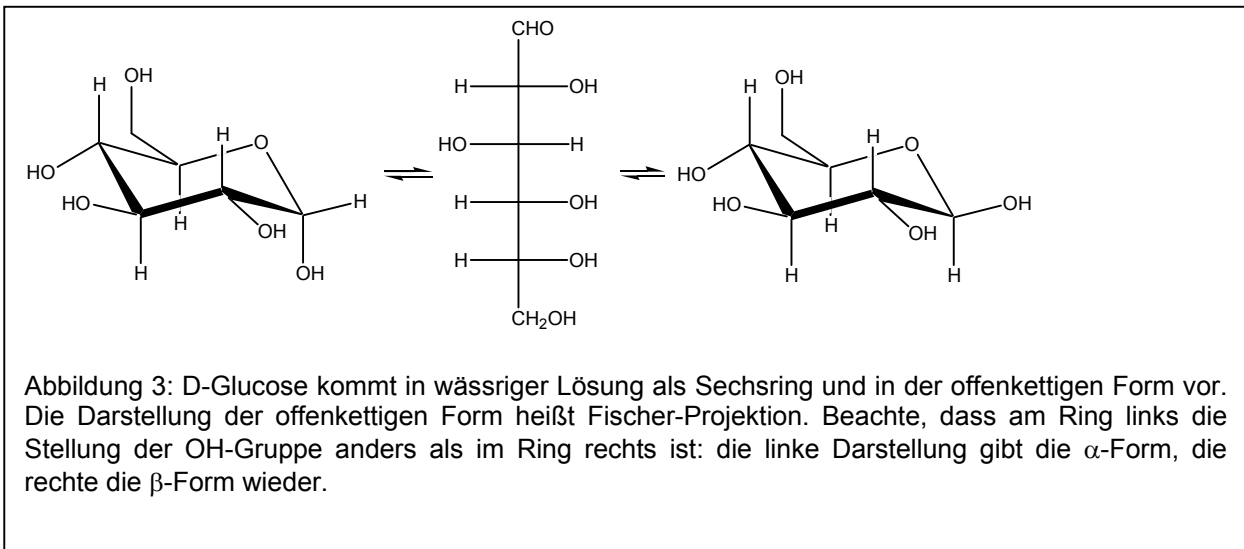


Abbildung 2: Zwei Disaccharide: Links die Cellobiose, rechts die Maltose. Verknüpfung vieler Cellobiose-Bausteine führt zur Cellulose, analog führt die Verknüpfung vieler Maltosebausteine zur Stärke (Amylose).

Mannose, Glucose und Galactose haben alle drei die Summenformel $C_6H_{12}O_6$, je fünf OH-Gruppen und eine am Ende der Kohlenstoffkette stehende Aldehyd-Funktion. Dennoch sind es eindeutig unterscheidbare Substanzen. Das war bis zu den Arbeiten von E. Fischer (Nobelpreis 1902) ein großes Rätsel. Die von Fischer gefundene Lösung ist, dass die Alkohol-Gruppen in den verschiedenen Zuckerketten

unterschiedlich angeordnet sind: Sie können in Aufsicht (Fischer-Projektion) links oder rechts von der Kette stehen. Man sagt, sie sind Stereoisomere.

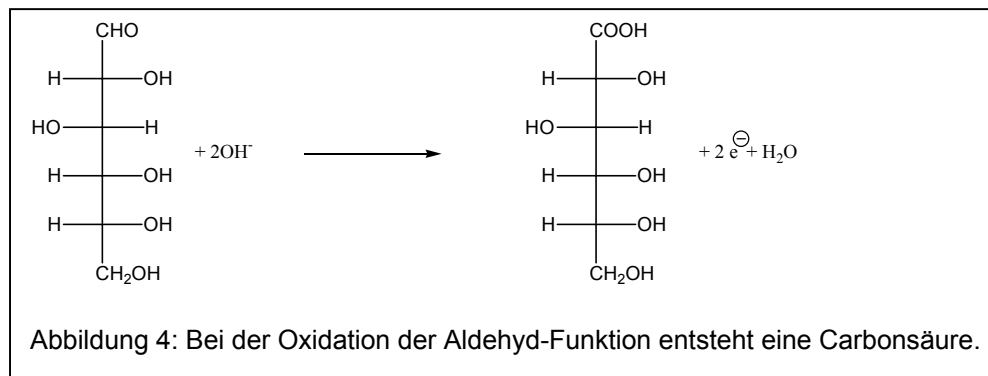
Einige andere besondere Eigenschaften der Kohlenhydrate legten den Schluss nahe, dass die Kohlenhydrate sowohl in Form von geschlossenen Ringen als auch als Kettenmolekül vorliegen können. Die in wässriger Lösung vorkommende offenkettige Form verursacht den positiven Nachweis der Aldehydgruppe mit der Fehling- und Tollens-Reaktion.



1.2 Reaktionen der Kohlenhydrate

1.2.1 Redoxreaktionen

Die schon erwähnte Fehling-, bzw. Tollens-Reaktion beruhen auf der Oxidation der Aldehyd- zur Carbonsäure-Funktion:



Bei der Fehling-Reaktion werden Kupfer (II)-Ionen (Cu^{2+}) zu Kupfer(I)-Ionen Cu^+ reduziert, wobei rotes Kupferoxid Cu_2O entsteht und als roter Niederschlag ausfällt. Bei der Tollens-Reaktion wird dagegen elementares Silber (Ag) durch die Reduktion von Silber-Ionen (Ag^+) ausgefällt. Die Reaktionen werden in **Versuch 2.1.1 und 2.1.2** durchgeführt. Beide Reaktionen sind Tests auf sogenannte reduzierende Zucker. Erstaunlicherweise funktioniert die Reaktion auch mit Fructose, obwohl hier keine Aldehyd-Funktion vorhanden ist. Die Erklärung hierfür ist die Umwandlung von Fructose in Glucose in alkalischer Lösung.

Glucose kann auch präparativ zur Gluconsäure bzw. zu ihrem Kaliumsalz oxidiert werden. Als Oxidationsmittel wird dazu Iod in alkalischer Lösung benutzt. Während

die Glucose einen positiven Fehling-Test zeigt, ist das bei der hergestellten Substanz nicht mehr der Fall. Die Herstellung von Kaliumgluconat erfolgt in **Versuch 2.3**. Saccharose reagiert nicht mit Fehling-Lösung, obwohl sie aus Glucose und Fructose besteht. Die Ursache dafür liegt darin, dass durch die Verknüpfung der Bausteine im Molekül keine Ringöffnung (siehe Abbildung 3) mehr möglich ist und keine offenkettige Form in der Lösung entstehen kann. Saccharose ist daher ein nichtreduzierender Zucker.

Eine besondere Redox-Reaktion ist die Reduktion des Farbstoffs Methylenblau zu seiner farblosen Leuko-Form durch Glucose: Eine Lösung von Methylenblau mit Glucose entfärbt sich beim Stehenlassen. Beim Schütteln des Gefäßes wird sie wieder blau- ein Vorgang, den man mehrfach wiederholen kann. Die Ursache dafür ist der Eintrag von Luftsauerstoff beim Schütteln. Der Sauerstoff kann das Leuko-Methylenblau wieder zum Methylenblau oxidieren. Es werden also letztlich Elektronen (und Protonen, also Wasserstoff), die bei der Oxidation der Glucose frei werden, auf den Luftsauerstoff übertragen. Das Methylenblau hat hier die Funktion eines reversiblen Redox-Systems.

Die Reaktion kann man als Modell für enzymatische Reaktionen betrachten, bei denen Zucker oxidiert, die Elektronen in einer Art Wasserstoffspeicher zwischengelagert und schließlich auf Sauerstoff übertragen werden. Genau diese Vorgänge laufen letztlich bei der Veratmung von energiereichen Substanzen im tierischen Organismus- allerdings in viel komplizierterer Form- ab.

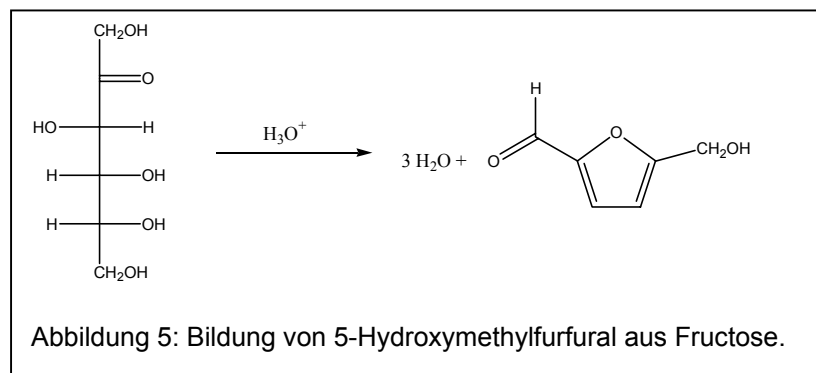


In **Versuch 2.4** wird das „Blaue Wunder“ gezeigt (**Abbildung 5**).

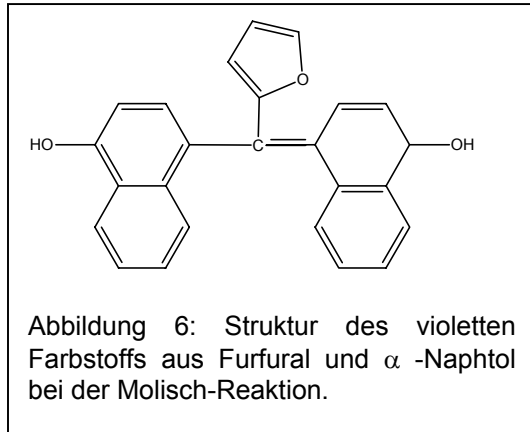
Abbildung 5: Das „Blaue Wunder“: Oxidation von Glucose mit Methylenblau.

1.2.2 Farbreaktionen

Die Molisch- und Seliwanow-Probe nutzen die Bildung der Verbindung 5-Hydroxymethyl-Furfural aus Sechszuckern (Hexosen, 6 C-Atome, **Abbildung 5**), bzw. Furfural aus Fünferzuckern (Pentosen, 5 C-Atome, **Abbildung 6**) durch die Einwirkung starker Mineralsäuren aus. Diese Verbindungen werden dann mit einem Farbstoff umgesetzt.



Die Seliwanow-Reaktion beruht auf der Bildung eines roten Farbstoffs aus Resorcin und 5-Hydroxymethyl-Furfural. Da die Reaktionsgeschwindigkeit für Keto-Zucker wie die Fructose größer ist als für Zucker mit Aldehyd-Funktion, können sie unterschieden werden.



Mit der Molisch-Reaktion lassen sich Kohlenhydrate von anderen biochemischen Stoffgruppen, wie z.B. den Proteinen, sehr schnell experimentell unterscheiden. Damit können alle Kohlenhydrate, die Hexosen oder Pentosen enthalten, nachgewiesen werden. Die sich bildende Aldehyde, z.B. Furfural, reagieren mit zwei α -Naphthol-Molekülen zu einem intensiv violetten Farbstoff.

Eine Lösung von Iod in Kaliumiodid gibt mit Stärke eine tiefblaue Einschlussverbindung.

Stärke besteht aus Amylose einem spiralgewundenen Kettenmolekül und Amylopektin, das eher netzförmig aufgebaut ist. In die Hohlräume längs der Amylose-Molekülachse können I_3^- -Moleküle eingelagert werden, wodurch die farbige Verbindung entsteht.

Die Farbreaktionen werden in den **Versuchen 2.1.3-2.1.5** vorgestellt und ermöglichen zusammen mit den Redox-Reaktionen die Erstellung eines Identifizierungsschemas, mit dem ein unbekannter Zucker in **Versuch 2.2** bestimmt wird.

1.3 Energiegewinnung

Kohlenhydrate sind wichtige Energielieferanten für die Zelle. Sie werden in höheren Organismen über die Glykolyse, den Citrat-Zyklus und die Atmungskette zu CO_2 und Wasser abgebaut.

Viele Mikroorganismen können Kohlenhydrate vergären; eine Tatsache die der Mensch schon seit Jahrtausenden ausnutzt: Milchzucker wird zu Milchsäure vergoren (Joghurt, Sauermilch), Hefen vergären Zucker zu Alkohol (Herstellung von Bier).

Die Vergärbarkeit von Zuckern kann als biologischer Test für Zucker verwendet werden (**Versuch 2.5**) oder –umgekehrt– in der Mikrobiologie zur Identifizierung von Hefen oder anderen Mikroorganismen.

Die „stille Verbrennung“ von Zucker im Körper liefert große Energiemengen, die aber schrittweise in Form von Energiekaskaden im Körper freigesetzt werden.

Wie gewaltig diese Energiemenge sein kann, wenn sie bei einer „heißen Verbrennung“ im Reagenzglas vollständig freigesetzt wird, lässt sich eindrucksvoll anhand der Verbrennung eines Gummibärchen demonstrieren (**Versuch 2.7, Abbildung 7**).



Erstaunlicherweise lässt sich Zucker aber nicht ohne weiteres entzünden: selbst mit dem Bunsenbrenner bringt man ein Stück Würfelzucker nur zum Schmelzen und Verkohlen. Der Grund dafür liegt in der extrem hohen Aktivierungsenergie für die Verbrennungsreaktion.

Durch Verwendung von Katalysatoren lässt sich jedoch diese hohe Energiebarriere umgehen. Streut man z.B. Zigarettenasche auf den Zuckerwürfel, so lässt sich dieser entzünden und verbrennt mit kleiner unscheinbarer, blau leuchtenden Flamme. Spuren von Eisen, die in der Zigarettenasche vorhanden sind, wirken hier als Katalysator (**Versuch 2.6**).

Abbildung 7: Ein Gummibärchen verbrennt in einer Kaliumchlorat-Schmelze unter heftiger Energiefreisetzung.

2. Die Experimente- von Anna Budny



2.1 Nachweis von Kohlenhydraten

2.1.1 Fehling-Reaktion

Chemikalien:

Glucose-, Saccharoselösung, Fehling-Lösungen I und II (ätzend, C)

Durchführung:

Je 1 mL der Lösungen Fehling I (CuSO_4 -Lösung) und Fehling II (Kaliumnatriumtartrat mit NaOH) werden in einem Reagenzglas zusammengegeben und umgeschüttelt. Nach Zugabe der zu untersuchenden Substanz wird die Lösung in einem siedendem Wasserbad erwärmt.

Beobachtung:

Die Glucose-Lösung färbt sich rotbraun, also ein positiver Nachweis, während man bei der Saccharose keine Farbänderung beobachten kann.

2.1.2 Silberspiegelprobe

Chemikalien:

Glucose-, Saccharoselösung, Silbernitratlösung (0,25 g in 5 mL Wasser lösen)
Ammoniak (ätzend, C), Natronlauge (ätzend, C)

Durchführung:

Zu 2 mL einer 5%igen Silbernitrat-Lösung fügt man Ammoniak, bis sich der zunächst gebildete Niederschlag aufgelöst hat. Danach gibt man 5 Tropfen 5 M Natronlauge zu und dann verdünnte Ammoniak-Lösung, bis sich der gebildete Niederschlag wieder aufgelöst hat; ein Überschuss ist zu vermeiden. Zu 2 mL der Reagenzlösung gibt man 1 mL wässrige Glucoselösung (kleine Spatelspitze in 1 mL Wasser) und erwärmt schwach im Wasserbad.

Beobachtung:

Nach einigen Minuten bildet sich an der Reagenzglasinnenwand der Glucose-Lösung (bis zur Füllhöhe) ein Silberspiegel, der auch nach dem Entleeren des Reagenzglases bestehen bleibt, während man bei der Saccharose-Lösung keinen Niederschlag sieht.

2.1.3 Seliwanoff-Reaktion

Chemikalien:

Glucose-, Fructoselösung, konz. Salzsäure (ätzend, C), Resorcin (gesundheitsschädlich)

Durchführung:

In einem Reagenzglas gibt man zur Probesubstanz ca. 2 mL Wasser, 1 mL konz. Salzsäure und wenig Resorcin (1,3- Dihydroxybenzol). Man erwärmt vorsichtig (unter Schütteln) bis zum Sieden.

Kann man eine rote Färbung beobachten, so ist der Nachweis positiv.

2.1.4 Molisch - Test

1 mL Probelösung wird mit 1 mL *Molisch*-Reagenz (1 g α -Naphthol in 20 mL Ethanol) versetzt. Nach dem Schütteln werden mit einer Pipette einige Tropfen konzentrierte Schwefelsäure (Ätzend !) dazugegeben. Bei diesem Vorgang empfiehlt es sich, das Reagenzglas schräg zu halten und die Schwefelsäure langsam an der inneren Reagenzglaswand hinunterfließen zu lassen. Ohne zu schütteln, wird das Reagenzglas 30 Sekunden lang beobachtet.

Der Nachweis ist positiv, wenn ein schwarzer oder intensiv violett gefärbter Ring an der Phasengrenze zu sehen ist, und negativ, wenn der Ring an der Phasengrenze andersfarbig ist.

2.1.5 Iod- Stärke- Reaktion

Chemikalien:

Iod- Lösung, Stärke

Durchführung:

Der Boden eines Schnappdeckelgläschens wird mit dem Stärke-Produkt bedeckt, etwa 5 cm hoch wird Wasser zugefügt und geschüttelt. Dann wird die Jod-Lösung solange hinzugegossen, bis eine deutliche Verfärbung bestehen bleibt.

Das Reagenzglas wird nun in ein Becherglas mit siedendem Wasser eingestellt. Die Lösung entfärbt sich. Beim Abkühlen auf Raumtemperatur (Kühlung unter fließendem Wasser) tritt wieder eine Färbung auf.

Beobachtung:

Der Nachweis ist positiv, wenn man eine Blaufärbung erhält.

2.2 Schema zur Identifizierung von Kohlenhydraten

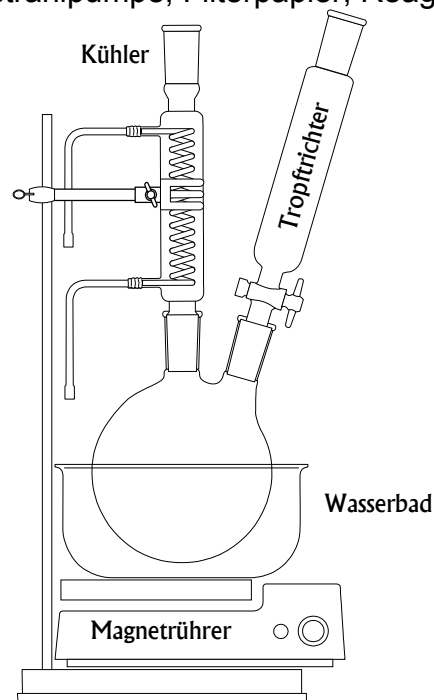
Nachweis	positiv	negativ
Molisch	alle	-
Glucotest	Glucose	alle anderen
Fehling	Glucose Fructose Maltose	Saccharose Stärke Cellulose
Seliwanoff	Fructose Saccharose	Glucose Maltose Stärke Cellulose
Iod-Stärke	Stärke	alle anderen

Bestimme mit Hilfe des Schemas den Zucker in Puderzucker! Glucose, Fructose, Maltose, Saccharose, Stärke, Cellulose kommen in Frage!

2.3 Präparative Oxidation von Glucose zu Kaliumgluconat

Geräte:

Messzylinder (50,250 mL), Erlenmeyerkolben (100,300 mL), Rundkolben (500 mL), Tropftrichter, Kühler, Magnetrührer, Wasserbad mit Thermostat, Saugflasche mit Porzellannutsche, Wasserstrahlpumpe, Filterpapier, Reagenzgläser, Bunsenbrenner



Chemikalien:

Ethanolische Iod-Lösung: 5,5 g Iod in 80 mL Ethanol

Ethanolische Kaliumhydroxid- Lösung: 5,2 g KOH in 130 mL Ethanol (ätzend, C)

Glucoselösung (2 g in 10 mL Wasser)

Diethylether (hochentzündlich, F+), Fehling-Lösungen I und II

Unter dem Abzug arbeiten, Zündquellen fernhalten, Schutzbrille aufsetzen, Schutzhandschuhe und Labormantel tragen!

Durchführung:

Nach Ansetzen der drei Lösungen werden sie, die ethanolische Iod-Lösung + ethanolische Glucoselösung und die ethanolische Kaliumhydroxid-Lösung im Wasserbad auf 40°C erwärmt. Die Reaktion wird bei 40°C im Wasserbad durchgeführt. Man beschickt einen Rundkolben, in dem die ethanolische Iod-Lösung mit der vorbereiteten Zuckerlösung vorgelegt wird, mit Rührmagnet und Tropftrichter, der die Kalilauge enthält. Über einen Zeitraum von 10 min. tropft man ca. 60 mL der Lauge zu und rührt 5 min. weiter. Die Lösung ist jetzt rotbraun, Man tropft nun weitere 5 min. Lauge zu, bis die Lösung sich strohgelb verfärbt. Letztere muss jetzt weiße Klümpchen als Reaktionsprodukt enthalten.

Beobachtung:

Die zunächst fast schwarze Reaktionslösung färbt sich mit der Zugabe der Lauge zunehmend rotbraun, da das Iod zu Hypoiodid und Iodat umgesetzt wird. Die reaktiven Teilchen setzen sich mit dem Zucker um, was man an der Bildung weißer Schlieren (Gluconsäure bzw. Gluconsäure- Kaliumsalz) an der Eintropfstelle der Lauge erkennt. Bei weiterer Zugabe der Lauge fällt schließlich das Kaliumsalz aus und setzt das Iod fast vollständig um, so dass man eine strohgelbe Suspension erhält.

Man saugt das Reaktionsprodukt ab und wäscht mit 50 mL Ethanol und 50 mL Diethylether nach. Das feinkristalline Produkt wird an der Luft getrocknet.

Mit der Glucose und dem Reaktionsprodukt führt man Fehling-Tests durch.

2.4 Eine Modellreaktion für Redoxenzyme - Das „blaue Wunder“

Geräte:

1-l-Erlenmeyerkolben mit Schliff und Gummistopfen, Schutzbrille, Schutzhandschuhe

Chemikalien:

Glucose, NaOH in Plätzchen (ätzend, C), 0.2 %-ige wässrige Methylenblaulösung (gesundheitsschädlich, Xn)

Durchführung:

In den Erlenmeyerkolben trägt man 10 g festes NaOH in 750 mL Wasser ein, fügt 40 g Glucose hinzu, versetzt alles mit 10 mL der Methylenblaulösung und verschließt den Kolben mit dem Stopfen.

Beobachtung:

Schüttelt man nun kräftig, so wird die anfangs farblose Lösung tiefblau, bis sie sich nach kurzer Zeit wieder entfärbt.

2.5 Biologische Oxidation: Vergärung von Kohlenhydraten

Geräte:

Bechergläser (250 mL, 4 x 50 mL)

Messzylinder (100 mL)

5 Gärröhrchen

Chemikalien:

Bäckerhefe (Aufschlammung von 11 g Hefe in 110 mL dest. Wasser)

Glucose-, Fructose-, Maltose-, Saccharose- Lösungen (1 g/10 mL)

Durchführung:

Je 10 mL Hefesuspension und 10 mL Testlösung werden in einem Becherglas gemischt. Im 5. Ansatz wird dest. Wasser als Testlösung verwendet (Leeransatz).

Die 5 Ansätze werden in Gärröhrchen gefüllt. Durch vorsichtiges Kippen muss die Luft aus dem langen Schenkel der Gefäße entfernt werden. Gärröhrchen beschriften.

Die Zeit wird notiert und die Gärröhrchen im Thermostat bei ca. 35°C inkubiert. An der Graduierung der Gärröhrchen wird die gebildete Menge an CO₂ nach 10 und 20 min. abgelesen.

2.6 Katalytische Verbrennung mit Zigarettenasche

Geräte:

Porzellanschale, Würfelzucker, Kaminzündhölzer, Zigarettenasche

Durchführung:

Ein Stück Würfelzucker in einer flachen Porzellanschale wird an einer Ecke mit Zigarettenasche bestrichen, so dass sie gut haftet. Dann hält man an diese Stelle die Flamme eines Zündholzes.

Beobachtungen:

Im Unterschied zu reinem Würfelzucker, der unter diesen Bedingungen nur schmilzt, erfolgt hier eine teilweise Verbrennung mit blauer Flamme, die sich fortsetzt, wenn man die Streichholzflamme entfernt.

2.7 Oxidation mit Kaliumchlorat: Ein Gummibärchen im „flammenden Inferno“

Geräte:

Großes Reagenzglas, Stativ mit Stativklammer, Blechbüchse mit Löschsand, Bunsenbrenner

Chemikalien:

Kaliumchlorat (KClO₃ brandfördernd, O), Gummibärchen (zuckerhaltig)

Sicherheitsvorschriften:

Beim Experimentieren mit Kaliumchlorat sind die Sicherheitsvorschriften streng einzuhalten. Schutzbrille und Schutzhandschuhe tragen! Der Versuch muss im Abzug durchgeführt werden. Unter das Reagenzglas wird eine mit Löschsand halb gefüllte Blechbüchse als Auffanggefäß gestellt, für den Fall, dass das Reagenzglas bei der Reaktion durchschmelzen sollte.

Durchführung:

Man schmilzt 15 g Kaliumchlorat mit der Bunsenbrennerflamme vorsichtig im Reagenzglas. Nun lässt man in die Kaliumchlorat-Schmelze 1 Gummibärchen fallen. Sofort bricht ein wahrhaft „flammendes Inferno“ los. Das Gummibärchen entzündet sich und „tanzt“ in der Kalischmelze umher. Durch Kaliumdämpfe sind die Flammen violett gefärbt. Es werden auch größere Mengen eines weißen Rauches (hauptsächlich Kaliumchlorid) freigesetzt.