

Kohlenhydrat-Analytik

Kohlenhydrate sind in ihrem strukturellen Aufbau sehr ähnlich. Eine spezifische Bestimmung wird dadurch erschwert. Ein gruppenweises Unterscheiden mit verschiedenen einfachen Nachweisreaktionen ist aber möglich:

1. Reaktion nach Fehling
2. Reaktion nach Molisch
3. Reaktion mit Iod
4. Reaktion nach Seliwanow
5. Reaktion im Polarimeter

1. Reaktion nach Fehling:

Nachweis von reduzierendem Zucker, wobei nur bei Aldehyden eine positive Reaktion erfolgt. Bei Fructose im alkalischen Milieu passiert eine Umlagerung zu Glukose, welche man Epimerisierung nennt.

Reagenzien:

Fehling I: 7%ige Kupfer(II)sulfatlösung

Fehling II: 34%ige Kalium- Natriumtartrat (= Seignettesalz) + 12%ige Natriumlauge oder Kalilauge

Durchführung:

Epruvette

+ eine Spatelspitze der Probe (Zucker)

+ in ca. 1ml dest. Wasser auflösen.

+ ca.1ml Fehling I und ca. 1ml Fehling II → gut durchschütteln

Die Epruvette für etwa 5- 10 min in ein kochendes Wasserbad stellen. Tritt ein roter Niederschlag auf, ist ein reduzierender Zucker nachgewiesen worden.

2. Reaktion mit Molisch:

Diese Methode dient zum Nachweis von Kohlenhydraten.

Reagenz: 10%ige Naphtollösung oder 6% Thymollösung (in 96%igen Ethanol gelöst)

Durchführung:

Eprobvette

+ eine Spatelspitze der Probe (Zucker)

+ in ca. 1ml dest. Wasser auflösen.

+ 4 Tropfen Molisch- Reagenz

Nun wird das Gemisch gut durchgeschüttelt und anschließend mit 1ml konzentrierter Schwefelsäure vorsichtig unterschichtet. Im Falle des Vorhandenseins von Kohlenhydraten bildet sich ein rot- violetter Ring zwischen der Probe und der Säure.

3. Reaktion mit Iod:

Bei Raumtemperatur ergibt Iod mit spiralisierten Polysaccharidmolekülen eine vom Verzweigungsgrad und Molekulargewicht bestimmte Farbreaktion.

Reagenz: Lugol'sche Lösung: 0,5 g I₂ + 1 g KI in 100ml H₂O gelöst

Durchführung:

In ca. 1ml H₂O wird eine Spatelspitze der Probe gelöst und mit 4 Tropfen der Lugol'schen Lösung versetzt und fest geschüttelt.

Dabei färbt sich

- Amylose – blauviolett
- Amylopektin – rotviolett
- Glykogen – rotbraun.

4. Reaktion nach Seliwanow

Nachweis von Ketohexosen

Reagenz: 400mg Resorcin werden in 40ml konz. Salzsäure gelöst und mit dest. Wasser auf 100ml aufgefüllt.

Durchführung:

Epruvette

+ eine Spatelspitze der Probe (Zucker)

+ in ca. 1ml dest. Wasser auflösen.

+ 2,5 – 5ml Reagenz → gut durchschütteln

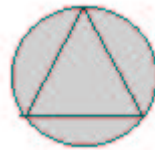
Die Probe in ein Becherglas mit siedendem Wasser stellen. Nach einer Minute und nach weiteren 3 Minuten wird die Farbentwicklung notiert. Mit einer Rot-Färbung werden Ketohexosen nachgewiesen.

5. Polarimeter

Mit dem Polarimeter erfolgt der Nachweis von optisch aktiven Substanzen.

Durchführung:

In die Küvette (verschießbares Glasröhrchen) wird eine 5%ige Lösung des zu bestimmenden Zuckers eingefüllt. Dabei dürfen keine Luftblasen mit eingeschlossen werden. Danach wird die Küvette in das Polarimeter gelegt und darauf die Lichtschutzklappe gegeben. Am unteren Teil des Gerätes findet man einen kleinen Spiegel, der das Licht der Lampe lenkt und mit einem Rädchen verstellbar ist. Mit dem Spiegel wird das Licht solange verstellt, bis ein roter Punkt erscheint.. In diesem roten Punkt ist ein Dreieck zu sehen. Nun wird der Drehknopf solange nach rechts bzw. nach links gedreht, bis das Dreieck nicht mehr zu sehen ist.



Die Skala am Polarimeter zeigt dann an, ob der Zucker links od. rechtsdrehend ist

Tabelle für die Ergebnisse:

Probe	Fehling	Molisch	Iod	Polarimeter	Seliwanow