

Hinweis

Bei dieser Datei handelt es sich um ein Protokoll, das einen Vortrag im Rahmen des Chemielehramtsstudiums an der Uni Marburg referiert. Zur besseren Durchsuchbarkeit wurde zudem eine Texterkennung durchgeführt und hinter das eingescannte Bild gelegt, so dass Copy & Paste möglich ist – aber Vorsicht, die Texterkennung wurde nicht korrigiert und ist gerade bei schlecht leserlichen Dateien mit Fehlern behaftet.

Alle mehr als 700 Protokolle (Anfang 2007) können auf der Seite http://www.chids.de/veranstaltungen/uebungen_experimentalvortrag.html eingesehen und heruntergeladen werden.

Zudem stehen auf der Seite www.chids.de weitere Versuche, Lernzirkel und Staatsexamensarbeiten bereit.

Dr. Ph. Reiß, im Juli 2007

580

Philipps-Universität-Marburg
Übungen zum Experimentalvortrag
im SS 1997

Leitung: Prof. Dr. Perst,
Dr. Butenuth, Dr. Gerstner



*Schriftliche Ausarbeitung des
Experimentalvortrages zum Thema*

„Lebensmittelkonservierungstoffe“

*vorgelegt
von Thorsten Damm*

Marburg, im Juli 1997

Inhaltsverzeichnis

VORSTELLUNG DER GLIEDERUNG	2
ALLGEMEINES ZUM KONSERVIEREN	4
<i>Möglichkeiten der Konservierung</i>	4
<i>Was ist Konservieren?</i>	5
<i>Notwendigkeit der Konservierungsmittel</i>	5
<i>Wirkungsweise der Konservierungsmittel</i>	5
Angriffspunkte an der Mikroorganismenzelle:	6
pH - Abhängigkeit der konservierenden Wirkung	6
GESCHICHTLICHER ÜBERBLICK	7
VORSTELLUNG EINIGER KONSERVIERUNGSMITTEL	9
<i>Versuch 1: Nachweis von Milchsäure in Kefir</i>	9
<i>Versuch 2: Konservierende Wirkung der Sorbinsäure als Schimmelschutzmittel</i>	10
<i>Versuch 3: Halbquantitativer Nachweis der Sorbinsäure in Margarine</i>	11
<i>Versuch 4: Konservierende Wirkung der Benzoesäure als Gärungsinhibitor</i>	13
<i>Versuch 5: Nachweis von Benzoesäure in Coca-Cola-Light (Mohler-Reaktion)</i>	15
<i>Versuch 6: Konservierende Eigenschaften der Ascorbinsäure</i>	17
<i>Versuch 7: Quantitative Bestimmung der Ascorbinsäure in Apfelsaft</i>	19
LITERATURLISTE:	20

Vorstellung der Gliederung

1. Allgemeines zum Konservieren

- Möglichkeiten der Konservierung
- Was ist Konservieren
- Notwendigkeit der Konservierungsmittel
- Wirkungsweise der Konservierungsmittel

2. Geschichtlicher Überblick

3. Vorstellung einiger Konservierungsmittel mittels der Überführung ihrer konservierenden Wirkung und ihres Nachweises in Lebensmitteln.

Allgemeines zum Konservieren

Möglichkeiten der Konservierung

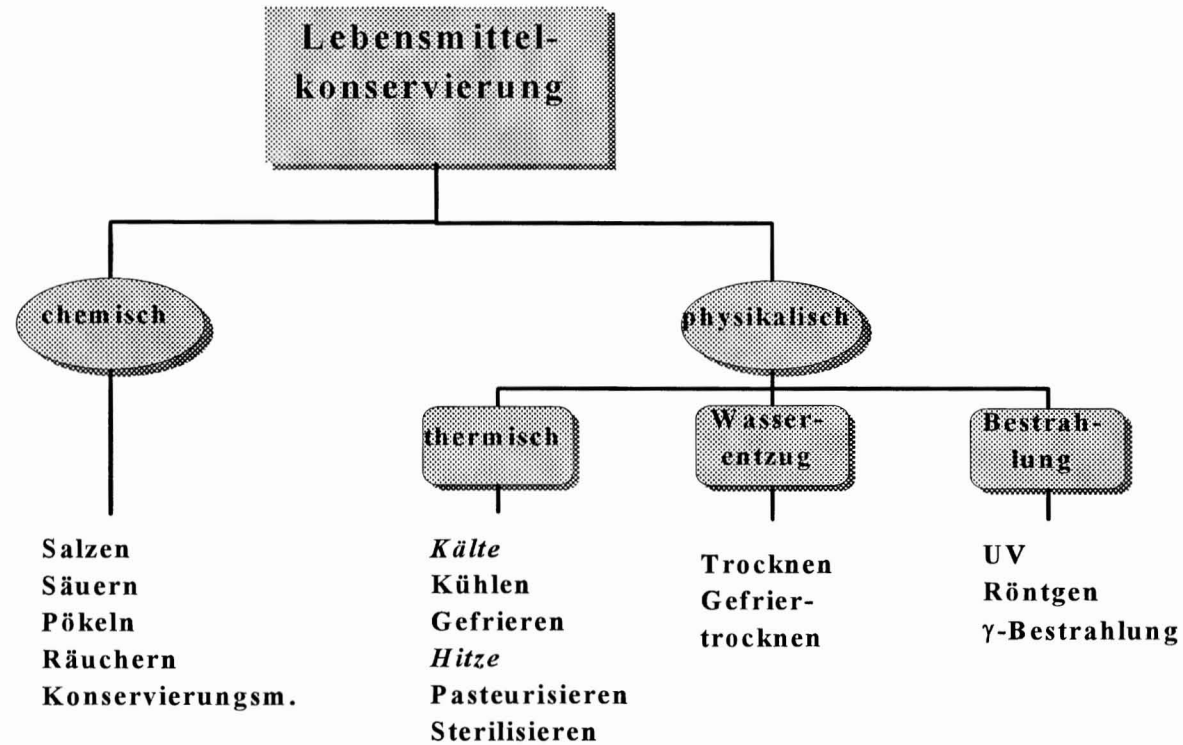


Abbildung 1: aus Didaktische Überlegungen zum Thema Lebensmittelkonservierung, in

NiU-Chemie 4 (1993) Nr. 19, S. 14

Was ist Konservieren?

Konservieren: *conservare* (lat.) = erhalten, bewahren

Konservierungsmittel dienen dazu, verderbliche Materialien in ihrem gegenwärtigen Zustand zu erhalten und sie vor der Zersetzung durch chemische, physikalische und biologische Einflüsse zu bewahren.

Notwendigkeit der Konservierungsmittel

Durch die Trennung der Orte der Produktion und des Konsums, die Entwicklung von Ballungszentren mit umfassenden, differenzierten Ernährungsbedürfnissen und den internationalen Warenaustausch wird Konservierung bei einer Vielzahl von Produkten notwendig. Um allerdings einem Mißbrauch beim Einsatz der Konservierungsmittel vorzubeugen, hat die EG in Zusammenarbeit mit der WHO Richtlinien für Konservierungsstoffe herausgegeben, die zwischenzeitlich mehrfach auf den neusten Stand gebracht wurden. In diesen Richtlinien wird dem Einsatz der Konservierungsmittel mittels des **ADI-Wertes** (**acceptable daily intake**) ein Limit auferlegt. Die ADI-Werte drücken in mg/kg Körpergewicht die Menge eines Stoffes aus, die man ohne Bedenken pro Tag ein Leben lang zu sich nehmen kann.

Die Zulassung von Konservierungsmitteln erfolgt ferner nur, wenn technische Notwendigkeit, aber gleichzeitig gesundheitliche Unbedenklichkeit besteht.

Wirkungsweise der Konservierungsmittel

Generell kann man die Konservierungsmittel in zwei Wirkungsklassen unterteilen:

Mikrobiozide Stoffe töten Keime ab und zerstören unspezifisch die wichtigen Makromoleküle der Mikroorganismenzelle.

Mikrobiostatische Stoffe hemmen Vermehrung und Wachstum der Keime, sie wirken unspezifisch auf Cytoplasmamembranen und Stofftransport oder auf die Biosynthese von Makromolekülen.

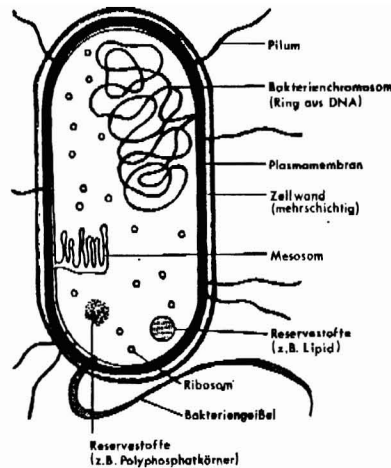


Abbildung 2: aus Saebert/Wöhrmann, Konservierung von Lebensmitteln mit und ohne Chemie, S. 18

Angriffspunkte an der Mikroorganismenzelle:

Betrachtet man eine Mikroorganismenzelle, so kommen für einen erfolgreichen Angriff der KM mehrere Stellen in Frage.

so bewirken:

- Reaktionen mit der Zellmembran eine Veränderung der Permeabilität mit erhöhten Verlusten von zelleigenen Ionen (K^+ , PO_4^{3-}) oder eine Hemmung des Stoffaustausches
- Reaktionen mit intrazellulären Komponenten oder Organellen eine Inaktivierung essentieller Enzyme, eine Substratinhibierung und eine Denaturierung gewisser Proteine.
- Reaktionen mit dem Zellkern funktionelle Inaktivierungen oder Zerstörungen des genetischen Materials.

pH - Abhängigkeit der konservierenden Wirkung

Um in der Mikroorganismenzelle wirksam werden zu können, müssen die KM die aus Lipiden und Proteinen aufgebaute Zellmembran durchdringen. Dies ist allerdings nur in ihrer undissoziierten und somit lipidlöslichen Form möglich. Daraus resultiert eine pH-Abhängigkeit ihrer konservierenden Wirkung. Diese Abhängigkeit sei hier am Beispiel der Sorbin- und der Benzoesäure verdeutlicht.

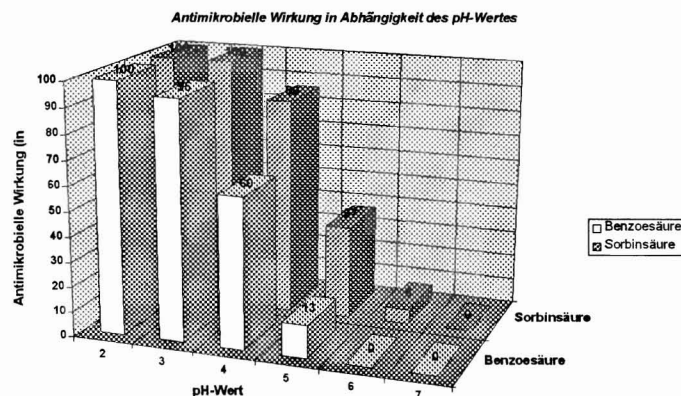


Abbildung 3: aus Saebert/Wöhrmann, Konservierung von Lebensmitteln mit und ohne Chemie, S 18

Geschichtlicher Überblick

Konservierung ist an sich so alt wie die Menschheit.

Selbst die ersten Bewohner der Erde entwickelten sich einfache Techniken zum Haltbarmachen von Nahrung (Trocknen, Räuchern).

Abhängig von den klimatischen Bedingungen, wurden unterschiedliche Verfahren angewandt. So konservierten die Ägypter schon um 2000 v. Chr. durch Trocknen, indem Schlachtstücke und Fische in Vorratskammern aufgehängt wurden.

In feuchteren Regionen wurde durch Räuchern haltbar gemacht.

Diese Methode kann durch archäologische Funde bis auf 9000 Jahre zurückdatiert werden.

Selbst das Salzen war weit verbreitet, denn Sumerer und Babylonier trieben regen Handel mit Salzfleisch und Salzfish, doch waren auch die Folgen eines zu hohen Salzkonsums bekannt. Auch die spezifischen Möglichkeiten der Konservierung durch Milch, Honig und Pflanzensäften wurden schon seit ca. 10000 Jahren genutzt.

Das Konservieren mit Öl kann auf ca. 3000 Jahre v. Chr. in Mesopotamien zurückdatiert werden, wo gekochtes Fleisch in Gefäßen mit Sesamöl aufbewahrt wurde.

Die wichtigsten Faktoren für die Weiterentwicklung der frühen Konservierungsmethoden im Altertum sind in den gesellschaftlichen und kulturellen Veränderungen zu suchen. Kriege, Krisenzeiten und Mißernten waren nur mit haltbaren Lebensmitteln zu überstehen.

Der Römer *Plinius* (24 - 79 n. Chr.) beschrieb die Aufbewahrung von Obst durch das Verschließen der Oberfläche mit dicht abschließenden Überzügen (Ton, Bienenwachs).

Haltbarmachung durch niedrige Temperaturen wurde bei *Athenäus* (ca. 200 n. Chr.) beschrieben: Lebensmittel wurden in Tonschüsseln gegeben, welche, kühl lagernd, ständig von außen angefeuchtet wurden.

Um ca. 1000 n. Chr. kam die Konservierung von Früchten mit Alkohol über Spanien und dessen maurische Besatzung nach Europa.

Durch die Kreuzzüge kam um 1100 n. Chr. die im vorderen Orient angewandte Konservierung mit Zucker nach Europa. Um 1450 beschreibt der Leibarzt des Fürsten von Tarent *D'Asculo* die gärungshemmenden Eigenschaften konzentrierter Zuckerlösungen.

1714 wies *Leibniz* in den „Utrechter Denkschriften“ auf die Möglichkeit hin, Fleisch durch Eintauchen in geschmolzenen Zucker haltbar zu machen. Der Verwendung von Zucker als Konservierungsmittel stand allerdings bis 1747 sein hoher Preis entgegen. Erst *Markgrafs* Entdeckung des Zuckers in der Runkelrübe führte zur Entwicklung von industriellen Entwicklungsverfahren. 1801 wurde im schlesischen Cunern die erste Zuckerfabrik gegründet. Die Erfindung des Verfahrens der Konservierung mit Nitrat wird dem Holländer *G. Beukel* zugeschrieben. Allerdings wird vermutet, daß das nach ihm benannte Pökeln schon um 2500 v. Chr. bekannt gewesen sei. Es gibt auch Hinweise, daß um 400 n. Chr. gegen Ende des Römischen Reiches Nitrat zum Rotfärben von Fleisch verwendet wurde.

Die erste „Dosenkonservierung“ von Fleisch erfolgte durch den französischen Physiker Denis Papin (1647 - 1714), der in seinem luftdicht verschlossenen „Papinschen Topf“ Fleisch erhitzte und somit konservierte.

Als Begründer der Konservendosentechnik galt der französische Koch F. Appert (1750 - 1840), der bereits 1804 - 1807 Fleisch und Gemüse in verschlossenen Gläsern haltbar machte. Im Jahre 1809 erhielt er dafür von Napoleon einen Preis von 12000 Ffrs. Sein Verfahren wurde 1810 veröffentlicht und 1811 entstand die erste Konservenfabrik (Zinn-Behälter) in Bermondsey in London.

1865 berichtet *Jodin* erstmals über die antiseptische („fäulniswidrige“) Wirksamkeit der Ameisensäure

1874 beschrieben *Kolbe* und *Thiersch* die antiseptische Wirkung von Salicylsäure

Im Jahre 1875 kam *Pasteur* zu der Erkenntnis, daß Mikroorganismen für den Verderb von Lebensmitteln verantwortlich sind.

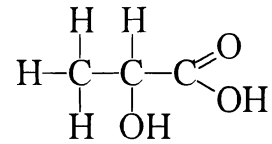
1875 berichtete *Fleck* über das große Wirkungsspektrum der Benzoesäure als Antiseptikum, trotzdem wurde der Salicylsäure wegen der günstigeren Herstellung der Vorzug gegeben. In 1923 entdeckte *Sabalitschka* die antimikrobielle Wirkung von p-Hydroxybenzoesäureester. Der Einsatz von Propionsäure zur Backwarenkonservierung wurde 1938 von *Hoffmann*, *Dalby* und *Schweitzer* empfohlen.

Die konservierenden Eigenschaften der Sorbinsäure, des heute wohl bedeutendsten Konservierungsstoffs, wurden 1939 von *E. Müller* bei Untersuchungen von ungesättigten Fettsäuren entdeckt. Unabhängig davon stellte *Gooding* 1940 die konservierende Wirkung von Sorbinsäure in Margarine fest.

In den fünfziger Jahren entstand die Lebensmittelkonservierung durch Bestrahlung. In den westlichen Industrieländern, der ehemaligen UdSSR und in Japan wurden Untersuchungen zu Bestrahlungen von Lebensmitteln mit Cobalt- und Caesium-Isotopen durchgeführt.

Vorstellung einiger Konservierungsmittel

Versuch 1: Nachweis von Milchsäure in Kefir



Milchsäure (α -Hydroxypropionsäure)

Die Ausnutzung der Milchsäuregärung erfolgt seit ca. 1000 n. Chr. im Orient und in Ostasien zur Herstellung von Sauermilch, Joghurt und Kefir.

Bei der Milchsäuregärung werden Kohlenhydrate durch verschiedene Bakterien zu Milchsäure abgebaut. Die entstandene Milchsäure wirkt sowohl durch ihr abdissoziierendes Proton (Erniedrigung des pH-Wertes), als auch in ihrer Neutralsalz-Form konservierend. Milchsäure wurde erstmals 1750 von Scheele in der sauren Milch gefunden, woher sie auch ihren Namen hat. Bezüglich des ADI-Wertes unterliegt die Milchsäure keiner Begrenzung. Untersuchungen haben ergeben, daß das Salz der Milchsäure hemmend auf das Auskeimen von Buttersäure-Bakterien und sporenübertragenden Fäulnisbakterien wirkt. Selbst das gefährliche Toxin *Bacillus botulinus* (1g reichen aus, um 300 Mio. Menschen zu töten) kann unschädlich gemacht werden.

Der Nachweis von Milchsäure in Milchprodukten erfolgt mittels der **Iodoform-Probe**.

Geräte:

1 Erlenmeyerkolben (50 ml), 1 Glasrichter, 1 großes Reagenzglas, Pipette mit Hütchen, 1 Vollpipette, 1 Peleusball

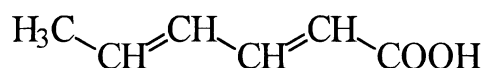
Chemikalien:

konzentrierte Iod-Kaliumiodidlösung (20 g KI, 10 g I₂, 80 ml H₂O)

Ablauf:

Man läßt durch einen doppelt gelegten Mullfilter einige Milliliter Kefir abtropfen. 3 ml des Filtrats werden in einem großen Reagenzglas mit Natronlauge neutralisiert. Anschließend wird die 5 - 10 fache Menge einer konzentrierten Iod-Kaliumiodidlösung hinzugefügt. Der Iodüberschuß wird durch Zugabe von Natronlauge beseitigt und es fällt als Reaktionsprodukt gelbes Iodoform aus.

Versuch 2: Konservierende Wirkung der Sorbinsäure als Schimmelschutzmittel



Sorbinsäure (trans-trans-2, 4-Hexadiensäure)

Sorbinsäure wurde erstmalig 1859 von Hoffmann durch Destillation von Vogelbeeren (*Sorbus aucuparia*) mit anschließender Umfällung als „krystallinische Säure“ gewonnen. Ihre antimikrobielle Wirkung wurde erst 1939 von Müller entdeckt. Sorbinsäure wird im Stoffwechsel in der β -Oxidation sowohl qualitativ wie auch quantitativ umgesetzt und zu Wasser und Kohlendioxid abgebaut. Die antimikrobielle Wirkung der Sorbinsäure beruht auf der Hemmung von verschiedenen Enzymen und der teilweisen Zerstörung der Zellmembran der Mikrobenzelle.

Ihr Wirkungsspektrum richtet sich in erster Linie gegen Schimmelpilze und Hefen .

Hauptanwendungsgebiete der Sorbinsäure sind die Haltbarmachung von Margarine, Käse, Fleischwaren, Marmeladen, Erfrischungsgetränke, Back- und Süßwaren.

Bezüglich des ADI-Wertes ist der Sorbinsäure ein Grenzwert von 25 mg/kg auferlegt worden.

Geräte:

2 Einmachgläser, Glastrichter, 2 Erlenmeyerkolben (100 ml), Spatel, Messer

Chemikalien:

Sorbinsäure, trockenes Toastbrot

Ablauf:

In einem Erlenmeyerkolben gibt man ca. 80 ml dest. Wasser. Hierzu wird solange Sorbinsäure gegeben, bis die Lösung gesättigt ist und sich ein kleiner Bodensatz gebildet hat.

Die Lösung wird anschließend filtriert.

Zwei Brotscheiben werden so zurechtgeschnitten, daß sie in die Einmachgläser passen. Die eine Brotscheibe wird gut mit dest. Wasser, die andere mit Sorbinsäurelösung durchfeuchtet. Danach verschließt man die Einmachgläser und bewahrt sie bei Raumtemperatur auf. Nach fünf Tagen zeigt sich das konservierte Brot unverändert, während sich auf dem unkonservierten Brot dicke Pilzrasen gebildet haben.

Die konservierende Wirkung der Sorbinsäure beruht auf ihrem ungesättigten Charakter. Über ihre Doppelbindungen ist sie dazu in der Lage, kovalente Bindungen mit den Thiolgruppen der Enzyme einzugehen und diese dadurch zu inaktivieren.

Versuch 3: Halbquantitativer Nachweis der Sorbinsäure in Margarine

Um die Sorbinsäure in Margarine nachweisen zu können, wird sie aufgrund ihrer leichten Wasserdampflichkeit anhand einer Wasserdampfdestillation extrahiert.

Geräte:

Wasserdampfdestillationsapparatur, 7 große Reagenzgläser, Reagenzglasständer, Becherglas (1000 ml), Magnetrührer, Tiegelzange, Vollpipette (10, 5, 2, 1 ml), Meßpipette (10 ml), Peleus-Ball, Becherglas (50 ml), 2 Erlenmeyerkolben (200 ml), Glasstab, Waage, Meßzylinder (25 ml), Spatel.

Chemikalien:

Magnesiumsulfat ($\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$), Kaliumdichromat ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$), Thiobarbitursäure, 1 m Schwefelsäure, 0,15 m Schwefelsäure, Sorbinsäure, dest. Wasser, mit Sorbinsäure konserviertes Lebensmittel - hier Margarine

Ablauf:

5 g der Margarine werden mit 10 ml 10 % iger Schwefelsäure und 5 - 10 g Magnesiumsulfat im Wasserdampf destilliert, bis ungefähr 100 ml übergegangen sind.

Währenddessen stellt man folgende Lösungen her:

Lösung 1: 0,5 % ige Thiobarbitursäurelösung

1 g Thiobarbitursäure werden in einen Erlenmeyerkolben eingewogen und mit dest. Wasser auf 200 ml aufgefüllt.

Lösung 2: Kaliumdichromat in Schwefelsäure

0,15 g Kaliumdichromat werden in einen Erlenmeyerkolben eingewogen, in 100 ml dest. Wasser aufgelöst und mit 100 ml 0,15 m Schwefelsäure aufgefüllt.

Gleichzeitig wird in einem großen Becherglas Wasser bis zum Sieden erhitzt.

Nach Beendigung der Destillation gibt man 10 ml des Destillats in ein Reagenzglas, fügt 20 ml der Lösung 2 zu und taucht das Reagenzglas in das Wasserbad. Nach fünf Minuten nimmt man dieses aus dem Wasserbad, gibt 20 ml der Lösung 1 zu und erhitzt erneut im Wasserbad.

Eine Rotfärbung weist auf das Vorhandensein von Sorbinsäure hin.

Zur halbquantitativen Bestimmung des Sorbinsäuregehaltes kann die Intensität der Färbung mit einer parallel hergestellten kolorimetrischen Reihe verglichen werden.

Herstellung der kolorimetrischen Reihe:

In einem kleinen Becherglas wird eine gesättigte Sorbinsäurelösung hergestellt. Anschließend werden 6 Reagenzgläser in einen Reagenzglasständer gestellt.

In das erste Reagenzglas gibt man 9 ml der gesättigten Sorbinsäurelösung.

In das zweite werden 1 ml der gesättigten Sorbinsäurelösung und 9 ml dest. Wasser gegeben.

Nach gutem Durchmischen wird 1 ml der Lösung entnommen, in das dritte Reagenzglas gegeben und wiederum mit 9 ml dest. Wasser aufgefüllt. So fährt man fort (bei dem letzten RG wird 1 ml verworfen) und erhält eine Verdünnungsreihe von etwa 0,2 % bis etwa 0,000002 %.

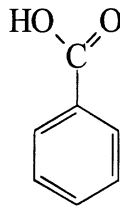
Mit allen Lösungen verfährt man wie mit dem Destillat und erhält so eine kolorimetrische Reihe.

Der Entstehung des roten Farbstoffes liegt folgendes Reaktionsgeschehen zu Grunde:

Die Sorbinsäure wird mit der schwefelsauren Kaliumdichromatlösung einer oxidativen Spaltung einer Kohlenstoff-Kohlenstoff-Bindung unterzogen, wobei unter anderem auch Malondialdehyd gebildet wird.

Das Malondialdehyd reagiert dann im nächsten Schritt mit der Thiobarbitursäurelösung in einer Aldoladdition mit anschließender Aldolkondensation zu einem roten Farbstoff.

Versuch 4: Konservierende Wirkung der Benzoesäure als Gärungsinhibitor



Benzoessäure

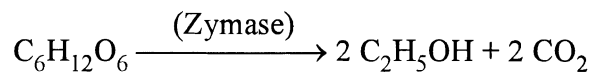
Benzoessäure wurde von Blaise de Vigenère erstmals 1608 aus Benzoeharz extrahiert. Bei ihr handelt es sich um ein Konservierungsmittel, daß vom Körper in Hippursäure umgewandelt und dann über den Harn ausgeschieden wird.

Ihr Wirkungsspektrum ähnelt dem der Sorbinsäure sehr, es richtet sich gegen aerobe Bakterien, Schimmelpilze und Hefen. Allerdings ist ihre Wirkung stärker vom pH-Wert abhängig, weshalb sie auch zur Konservierung saurer Lebensmittel wie z. B. Margarine, Marmeladen, Fruchtsäfte, Fleisch- und Fischkonserven benutzt wird.

Ihre antimikrobielle Wirkung basiert ebenso wie bei der Sorbinsäure auf enzym-inaktivierenden und Mikrobenzellwand irritierenden Effekte. Sie durchdringt in undissoziierter Form die Wand der Mikrobenzelle und hemmt im Inneren der Zelle dann Enzyme:

- des Essigsäurestoffwechsels
- der oxidativen Phosphorylierung
- und des Citratcyclus (α -Ketoglutar säure- und Bernsteinsäuredehydrogenase)

Bezüglich des ADI-Wertes unterliegt die Benzoessäure einem Grenzwert von 5 mg/kg. Die Verhinderung der alkoholischen Gärung, dem ältesten chemischen Syntheseverfahren der Menschheit, wird als Hemmung des Enzymsystems der Hefe (Zymase) interpretiert. Bei der „alkoholischen Gärung“ werden Zucker (Hexosen, $C_6H_{12}O_6$) vornehmlich die Monosaccharide Glucose und Fructose, in Gegenwart von Hefepilzen, die den Enzymkomplex Zymase enthalten, zu Ethanol und Kohlendioxid abgebaut.



Geräte:

je 2 Erlenmeyerkolben (300 ml, 50 ml), Becherglas (500 ml), 2 durchbohrte Gummistopfen, Tropfpipette mit Hütchen, Glasrichter, Glasstab, Spatel, Waage

Chemikalien und Materialien:

Traubenzucker, Hefe, Calciumcarbonat, Benzoessäure, dest. Wasser, Filterpapier

Ablauf:

Zunächst wird Kalkwasser hergestellt. Dazu gibt man unter Rühren in einen Erlenmeyerkolben (50 ml) mit etwa 40 ml dest. Wasser so lange Ca(OH)_2 , bis eine gesättigte Lösung mit Bodenkörper entstanden ist. Diese Lösung wird durch einen mit Filterpapier bestückten Glasrichter in einen zweiten Erlenmeyerkolben filtriert.

Für die Gärlösung werden in einem Becherglas (500 ml) 30 g Traubenzucker eingewogen und mit 200 ml dest. Wasser gelöst. In dieser Zuckerlösung werden anschließend 50 g Hefe aufgeschlämmt und das entstandene Gemisch gleichmäßig auf zwei (+/-) gekennzeichnete Erlenmeyerkolben (300 ml) verteilt. In den (+)-Kolben werden einige Spatelspitzen Benzoesäure hinzugegeben und beide Kolben mit den in Gummistopfen befindlichen Gärröhrchen verschlossen. In die Gärröhrchen wird anschließend mit der Tropfpipette vorsichtig Kalkwasser gefüllt.

In dem Kolben ohne Benzoesäure setzt schon nach einigen Minuten ein Gärungsprozeß ein. Das hierbei entstehende CO_2 wird im mit Calciumhydroxid gefüllten Gärröhrchen anhand einer sich einstellenden Trübung als Calciumcarbonat CaCO_3 nachgewiesen.

In der mit Benzoesäure konservierten Zuckerlösung unterbleibt der Gärungsprozeß.

Versuch 5: Nachweis von Benzoesäure in Coca-Cola-Light (Mohler-Reaktion)

!!! Achtung, Durchführung nur im Abzug !!!

Geräte:

Schütteltrichter (500 ml) mit Stopfen, sowie Stativmaterial für dessen Halterung, Meßzylinder (250 ml), je eine Vollpipette zu 10 ml und 2 ml, Meßpipette (10 ml), Peleus-Ball, Tropfpipette mit Hütchen, 2 Erlenmeyerkolben (50 ml), 2 Bechergläser (500 ml, hohe Form), 1 großes Reagenzglas, Reagenzglasständer, Magnetrührer, Tiegelzange Spatel, Waage

Chemikalien und Materialien:

Diethylether, Kaliumnitrat (KNO_3), Hydroxylaminhydrochlorid (NH_4OCl), konz. Schwefelsäure, 25 % ige Ammoniaklösung, Eis, dest. Wasser, Benzoesäure-haltiges Erfrischungsgetränk (hier Coca-Cola-Light), Filterpapier, pH-Indikatorpapier

Ablauf:

Wasser wird in einem Becherglas auf der Heizplatte mit Magnetrührer zum Sieden gebracht. Gleichzeitig werden folgende Lösungen hergestellt:

Lösung A: In einen Erlenmeyerkolben wird 1 g KNO_3 eingewogen und in 10 ml konz. Schwefelsäure gelöst.

Lösung B: In einen Erlenmeyerkolben werden 0,5 g NH_4OCl eingewogen und mit 25 ml dest. Wasser gelöst.

Des weiteren wird ein Becherglas zur Hälfte mit Eis gefüllt.

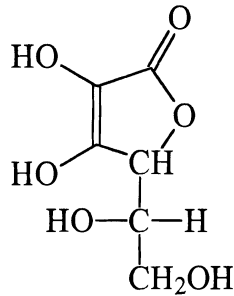
In einem Schütteltrichter werden 200 ml des Erfrischungsgetränkes mit 30 ml Ether mehrmals kräftig geschüttelt. Dabei wird immer wieder vorsichtig entlüftet.

Anschließend hängt man den Schütteltrichter zur Trennung der Phasen offen in einen gut befestigten Stativring. Trennen sich die Phasen dabei nicht deutlich, so kann das Gemisch unter Zusatz von etwas Kochsalz erneut geschüttelt werden („Aus-salzen“). Haben sich die Phasen getrennt, wird die wäßrige Phase abgelassen und verworfen.

Die Etherphase wird in einem Reagenzglas aufgefangen, welches dann in das siedende Wasser gestellt wird. Ist der Ether verdunstet, wird das Reagenzglas mit der Tiegelzange entnommen, vorsichtig 2 ml der Lösung A hineingegeben und erneut im siedenden Wasser (bis zum Entweichen brauner Dämpfe) erwärmt. Nun wird das Reagenzglas im Eisbad gekühlt, das Reaktionsgemisch vorsichtig mit 4 ml dest. Wasser und nach erneutem Kühlen mit 4 ml der Lösung B versetzt. Dieses Gemisch wird tropfenweise mit Ammoniaklösung alkalisch gemacht und anschließend im nicht mehr siedenden Wasserbad noch fünf Minuten erwärmt. Eine auftretende Rotfärbung weist auf das Vorhandensein von Benzoesäure hin.

Im ersten Schritt wird die Benzoesäure durch die Zugabe von Schwefelsaurer Kaliumnitratlösung nitriert. Dabei wirkt der Ersts substituent, die Carboxyl-Gruppe, desaktivierend und meta-dirigierend. Es erfolgt eine Nitrierung in meta-Stellung. Durch den Eintritt einer Nitrogruppe, die wiederum auch desaktivierend und meta-dirigierend wirkt, erfolgt eine weitere Substitution in wiederum zu beiden Substituenten befindlicher meta-Stellung. Es erfolgt also eine Di-Nitrierung zur 3, 5-Dinitrobenzoesäure. Anschließend wird die 3, 5-Dinitrobenzoesäure mittels des starken Reduktionsmittels Hydroxylaminhydrochlorid zur 3, 5-Diaminbenzoesäure reduziert, die anhand einer Rotfärbung zu erkennen ist.

Versuch 6: Konservierende Eigenschaften der Ascorbinsäure



L-Ascorbinsäure ((R)-5-[(S)-1,2-Dihydroxy-ethyl]-3,4-dihydroxy-5H-furan-2-on)

Isoliert wurde der „antiskorbutische“ Stoff 1927 von Szent-Györgyi aus Paprika, Kohl und Nebennieren.

L-Ascorbinsäure zählt zwar zu der Gruppe der Antioxidantien, doch werden diese aufgrund ihrer konservierenden Eigenschaften auch zum Konservieren von Lebensmitteln eingesetzt. Die Jahresweltproduktion der L-Ascorbinsäure beträgt 35000 - 45000 Tonnen, wobei die Fleischwaren- und fruchtverarbeitende Industrie die größten Abnehmer darstellen. Da die Ascorbinsäure zu den Lebensmitteln gezählt wird unterliegt sie bezüglich des ADI-Wertes keinem Limit.

Als Antioxidationsmittel besitzt sie reduzierende Eigenschaften, die auf die leichte reversible Oxidation der Endiolgruppe zu einer α -Dicarbonylgruppe zurückzuführen ist.

Diese reduzierenden Eigenschaften macht man sich bei der Unterbindung der enzymatischen Bräunung eines Apfels zu Nutze.

Geräte:

1 Messer

Chemikalien:

gesättigte Ascorbinsäurelösung, 1 Apfel

Ablauf:

Der Apfel wird mit dem Messer halbiert. Die eine Hälfte wird mit der gesättigten Ascorbinsäurelösung bestrichen, während die andere unbehandelt bleibt.

Die unbehandelte Hälfte weist schon nach kurzer Zeit eine Bräunung auf, die bei der mit Ascorbinsäurelösung behandelten Hälfte verzögert wird, bzw. ganz ausbleibt.

Es handelt sich hier um Wechselwirkungen der L-Ascorbinsäure mit den Phenolen des Apfels. Der Saft der Apfelzelle ist normal wasserhell, doch diese farblosen phenolischen Lösungen spielen bei den Bräunungsvorgängen eine wichtige Rolle. Die Gesamtmenge der phenolischen Verbindungen beträgt je nach Sorte und Reife der Äpfel zwischen 0,1 und 1 %. Wichtige Stoffe sind dabei Chlorogensäure, Catechin, Epicatechin und das dimere Procyanidin B2.

Die farblosen phenolischen Inhaltsstoffe werden mit Hilfe des Enzyms Polyphenoloxidase in Gegenwart von Sauerstoff zu den gelblichen o-Chinonen oxidiert, die dann im Weiteren zu den dunkelbraunen Phlobaphenen polymerisieren.

Die Ascorbinsäure ist nun dazu in der Lage, in dieses Geschehen einzugreifen und die enzymatische Bräunung zu unterbinden, indem sie die o-Chinone zu den entsprechenden o-Dihydroxyphenolen reduziert und dabei selbst zur L-Dehydro-Ascorbinsäure oxidiert wird.

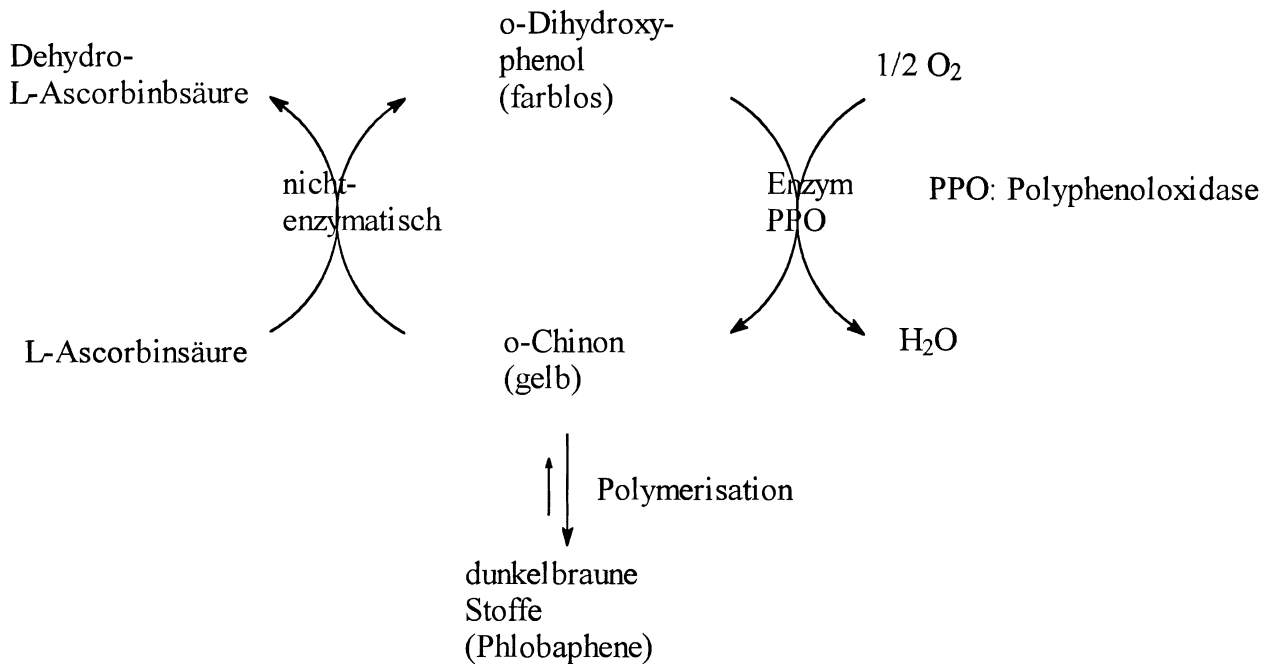


Abbildung 4: aus Chemie in unserer Zeit, Die Chemie der L-Ascorbinsäure in Lebensmitteln, 1993, Nr. 4

Versuch 7: Quantitative Bestimmung der Ascorbinsäure in Apfelsaft

Geräte:

Weithalslerlenmeyerkolben (250 ml), Becherglas (100 ml), Bürette (50 ml), Meßpipette (10 ml), Trichter mit Filterpapier, Meßkolben (100 ml), Waage

Chemikalien:

Ascorbinsäurehaltigen Apfelsaft, 2,6-Dichlorphenolindophenol-Natriumsalz, Essigsäure w(5%), dest. Wasser

Ablauf:

Herstellung der 2,6-Dichlorphenolindophenol-Natriumsalzlösung:

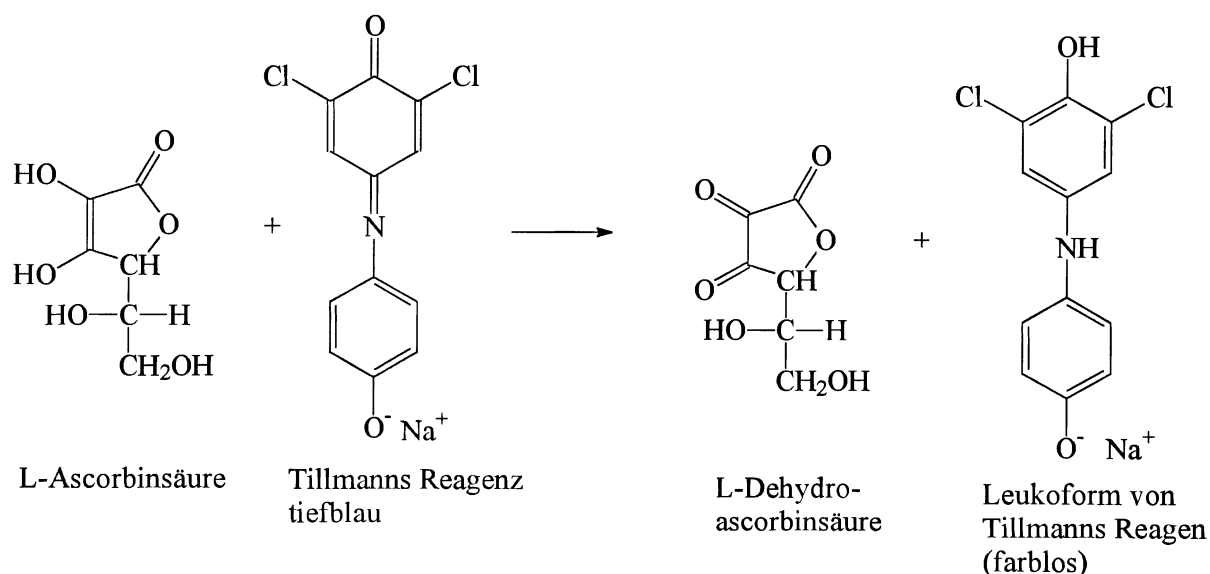
50 mg 2,6-Dichlorphenolindophenol-Natriumsalz werden in 100 ml Wasser gelöst. Es wird einige Zeit geschüttelt und dann durch einen Filter in den Meßkolben filtriert. Die dunkelblaue Lösung ist im Dunkeln (Kühlschrank) gut haltbar; bei Raumtemperatur geht der Gehalt an wirksamer Substanz in 6 Tagen um etwa 10 % zurück.

Titerstellung mit reiner Ascorbinsäure:

20 mg Ascorbinsäure werden in 25 ml Essigsäure (w = 5 %) gelöst und in einem Meßkolben auf 100 ml aufgefüllt. 10 ml dieser Lösung werden mit Tillmanns-Reagenz bis zur schwachen Rosa-Färbung titriert, dabei muß die Rosa-Färbung 15 min. bestehen bleiben. In gleicher Weise wird mit drei weiteren Proben verfahren.

10 ml eines naturtrüben Apfelsaftes werden mit dest. Wasser auf 150 ml aufgefüllt. Anschließend wird mit Tillmanns-Reagenz bis zu einer schwachen, aber bleiben Rosa-Färbung titriert.

Über den zuvor ermittelten Titer kann dann anhand des Verbrauches an Tillmanns-Reagenz auf den Gehalt an L-Ascorbinsäure geschlossen werden.



Literaturliste:

- de Rijke & van der Veer. (1992). Ascorbinsäure - Quantitative Untersuchungen von Vitamin C und vitamin-C-haltigen Stoffen einschließlich qualitativer Schulversuche. Praxis der Naturwissenschaften - Chemie, 41 Jahrgang (Heft Nr. 4)
- Deifel, A. (1993). Die Chemie der L-Ascorbinsäure in Lebensmitteln. Chemie in unserer Zeit, 27. Jahrgang, (Heft Nr. 4)
- Fülgraff, G. (1989). Lebensmittel-Toxikologie. Stuttgart. Ulmer
- Kober, F. (1988). Vitamin C als Lebensmittel. Praxis der Naturwissenschaften - Chemie, 37. Jahrgang (Heft Nr. 3)
- Lück & Rymon Lipinski & Remmert. (1987). Schimmelschutzmittel für Brot. Praxis der Naturwissenschaften - Chemie, 36. Jahrgang (Heft Nr. 2)
- Pfeifer, P. & Wöhrmann, H. (1993). Konservierungsstoffe - Konservierungsverfahren. Naturwissenschaften im Unterricht - Chemie, 4. Jahrgang (Heft Nr. 19)
- Seabert, H & Wöhrmann, H. (1992). Konservieren von Lebensmitteln mit und ohne Chemie. Materialien für den Unterricht. Marburg. AG Naturwissenschaften - sozial