

## Lehrerinformation: Kohlenhydrate in Lebensmitteln - Schokolade ist nicht gleich Schokolade!

### Allgemeines zum Thema Schokolade

§1 der Kakao-Verordnung enthält (in Verbindung mit der Anlage der Verordnung) die Bezeichnungen und Begriffsbestimmungen für Kakao und Kakaoverzeugnisse. Demnach ist Schokolade ein Gemisch aus Kakaokernen, Kakaomasse, Kakaopulver und Saccharose mit oder ohne Zusatz von Kakaobutter. Zusatzstoffe wie Aromen und Emulgatoren (meistens Lecithin) dürfen Schokolade zugesetzt werden.

Neben diesen sogenannten Grundstoffen dürfen Schokolade unter Kennzeichnung auch andere Komponenten zugesetzt werden – so zum Beispiel Milcherzeugnisse, Nussmassen, Kaffee, Mandeln, ganze Nüsse und Sultaniinen.

Beispiele für Rezepturen und die sich daraus ergebenden durchschnittlichen Zusammensetzungen einiger wichtiger Schokoladen-Arten liefert folgende Tabelle:

	<b>Edelbitter-Schokolade</b>	<b>Vollmilch-Schokolade</b>	<b>Weißer Schokolade</b>
<b>Rezeptur:</b>			
Kakaomasse	60,0 %	15,0 %	-
Kakaobutter	-	18,0 %	26,0 %
Saccharose	40,0 %	47,0 %	45,0 %
Vollmilch-Trockenmasse	-	20,0 %	23,0 %
Lactose und/oder Molkenpulver	-	-	5,0 %
Lecithin	0,4 %	0,4 %	0,4 %
<b>Inhaltsstoffe:</b>			
Wasser	1,2 %	1,2 %	1,0 %
Kakaobutter	33,0 %	26,0 %	26,0 %
Milchfett	-	5,4 %	6,0 %
Saccharose	40,0 %	47,0 %	45,0 %
Lactose („Milchzucker“)	-	7,9 %	14,0 %
Eiweiß (Milch- und Kakaouiweiß)	7,1 %	7,0 %	6,3 %
Stärke (kakaoeigene)	3,7 %	0,9 %	-
Ballaststoffe	11,0 %	3,0 %	-
Theobromin + Coffein	0,8 %	0,2 %	-
Mineralstoffe	1,6 %	1,5 %	1,6 %
Phosphatide	0,4 %	0,4 %	0,4 %

Die erste Schokolade im heutigen Sinne wurde 1819 von Cailler hergestellt, die erste Milch-Schokolade (mit Kondensmilch) 1875 von Peter.

Zur Herstellung von Schokolade werden zunächst Kakaomasse, Saccharose, Milchzucker und Kakaobutter zu einer trockenen, pulverigen Grundmasse geknetet. Diese wird in einem muschelförmigen Trog (der „Conche“) bei 65-75 °C über 6-10 Stunden gewalzt, dann unter Zugabe von Kakaobutter verflüssigt und homogenisiert (6-40 Stunden) und schließlich mit weiteren Rezepturbestandteilen (Lecithin u. ä.) fertig conchiert (2-3 Stunden). Danach wird die Masse zur Einleitung der Kristallisation bei ca. 30 °C temperiert, in vorgewärmte (Tafel-) Formen gefüllt, nach Entlüften auf sogenannten Klopfbahnen abgekühlt und bei ca. 10 °C entformt.

Eine weit verbreitete Intoleranz gegenüber Milchprodukten ist die Lactoseintoleranz. Wie aus der oben angeführten Tabelle hervorgeht, enthalten viele Schokoladen Milch, also auch Milchzucker (Lactose). Für lactoseintolerante Verbraucher gibt es jedoch nicht nur die Alternative, lactosefreie (Milch)schokolade, sondern auch bittere Schokoladesorten zu verzehren.

### Herstellung der Probe-Lösungen

Die Carrez-Klärung ist ein auf den Franzosen C. Carrez zurückgehendes Verfahren, das in der Zuckeranalytik zur Beseitigung von Trübungen vielfach eingesetzt wird. Das Klärverfahren beruht darauf, dass die in den Lösungen Carrez I und II enthaltenen Schwermetalle störende Kolloide (z. B. Eiweiß) ausfällen oder dass der entstehende Zinkhexacyanoferrat-Niederschlag diese Kolloide mitreißt.

### Zu I. Chromatografie

Stellt man saugfähiges Papier oder eine mit einer dünnen Schicht eines Pulvers beschichtete Platte (stationäre, ruhende Phase) einige Millimeter tief in eine Flüssigkeit (mobile Phase, Fließmittel), so wandert die Flüssigkeit aufgrund der Kapillarität des Materials langsam nach oben. Befindet sich auf dem Papier oder der Schicht an einer Stelle nahe dem unteren Rand ein Stoffgemisch, z. B. mehrere Zucker, so werden seine Komponenten im Allgemeinen von der Flüssigkeit unterschiedlich schnell mitgeführt, so dass sie – im Vergleich zur Lösungsmittelfront – verschieden schnell wandern. Es erfolgt eine Auftrennung des Stoffgemisches (siehe Abbildung 1).

Dieses Verfahren heißt Chromatografie (von griech. *chroma*, Farbe und *graphein*, schreiben). Es wurde erstmals zur Trennung von Blattfarbstoffen angewandt.

Ursachen des Trenneffektes sind unterschiedliche Wechselwirkungen zwischen der stationären Phase und den Bestandteilen des Stoffgemisches sowie unterschiedliche Löslichkeiten im Fließmittel. Je besser die Löslichkeit des Stoffes im Fließmittel ist, desto leichter wird er von diesem mitgeführt. Gleichzeitig mit dem Lösen des Stoffes im Fließmittel tritt dieser in Wechselwirkung mit der stationären Phase. Er wird mehr oder weniger stark, aber immer reversibel, adsorbiert (*Adsorptions-Chromatografie*).

Adsorption ist aber nicht der einzige Rückhalteeffekt. Häufig befindet sich auf der Oberfläche der stationären Phase ein Flüssigkeitsfilm, meist Wasser oder ein Gemisch aus Wasser und kondensierten Dämpfen des Fließmittels. Papier kann z. B. Wasser bis zu einem Massenanteil von 10 % enthalten. Daher konkurriert die Löslichkeit des wandernden Stoffes in diesem Flüssigkeitsfilm mit der Löslichkeit im Fließmittel und sorgt durch die unterschiedliche Verteilung in den beiden Lösungsmitteln für einen weiteren

Trenneffekt (*Verteilungs-Chromatografie*). Übliche stationäre Phasen sind neben Papier mit unterschiedlicher Oberflächenstruktur Aluminiumoxid, Kieselgel und Cellulosepulver auf Glas- oder Kunststoffplatten.

Wichtig ist in diesem Zusammenhang auch, dass die Dünnschichtplatte oder das Papier in einem verschließbaren Gefäß – der sogenannten Trennkammer – von der mobilen Phase durchwandert wird. Nur in einem verschließbaren Gefäß ist die Atmosphäre mit den Dämpfen des Fließmittels gesättigt. In einem offenen Gefäß würde die mobile Phase von der Oberfläche der stationären Phase verdampfen und kein Flüssigkeitsfilm auf der Oberfläche entstehen. Der verteilungschromatografische Trenneffekt wäre in diesem Fall verloren.

Die zu trennenden Stoffe sind meist nicht farbig und müssen auf der stationären Phase sichtbar gemacht werden. So können z. B. Zucker durch Besprühen mit oder durch Tauchen in alkoholische Schwefelsäure oder ein Anisaldehyd haltiges Detektionsmittel farbige Verbindungen bilden. Andere Stoffe werden unter einer UV-Lampe sichtbar. Die Beschichtung einer Platte kann einen Fluoreszenzindikator enthalten, der farblose Stoffe im UV-Licht anzeigt.

Unter gleichen Wanderungsbedingungen ist die Wanderungsgeschwindigkeit eine für einen bestimmten Stoff charakteristische Größe. Deshalb können die getrennten Verbindungen durch direkten Vergleich mit Testproben, die ebenfalls von der Startlinie aus gleichzeitig mitwandern, identifiziert werden. Eine weitere Möglichkeit besteht im Vergleich mit  $R_f$ -Werten ( $R_f$  = retention factor, Faktor für das Rückhaltevermögen), die bei bestimmten Versuchsbedingungen ermittelt wurden. Es gilt:

$$R_f = \frac{\text{Entfernung des Substanzflecks von der Startlinie}}{\text{Entfernung der Fließmittelfront von der Startlinie}}$$

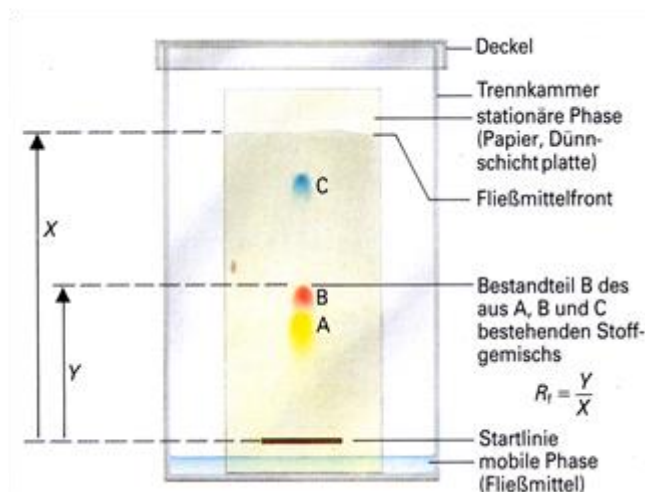


Abb. 1: Herstellung eines Chromatogramms

## Zu II: Zuckernachweis mit 1,6-Diaminohexan-Reagenz

Der Zuckernachweis mit 1,6-Diaminohexan-Reagenz basiert auf der Reaktion der freien Aldehyd- bzw. Keto-Gruppen in Zuckermolekülen. Zuckermoleküle können sich durch Verlagerung von Wasserstoffatomen vielfältig umformen: die geschlossenen Ringformen in offene Ketten, Aldosen (mit Aldehydgruppen,  $\text{CH}=\text{O}$ ) in Ketosen (mit Keto-Gruppen,  $\text{C}=\text{O}$ ) und umgekehrt.

Zur Veranschaulichung sind diese beiden Umformungen am Beispiel von Glucose und Fructose dargestellt. Die Aldehydgruppe und die Ketogruppe sind in den folgenden Abbildungen und im Reaktionsschritt 1 im offenen Lactosemolekül (s. u.) gelb hinterlegt.

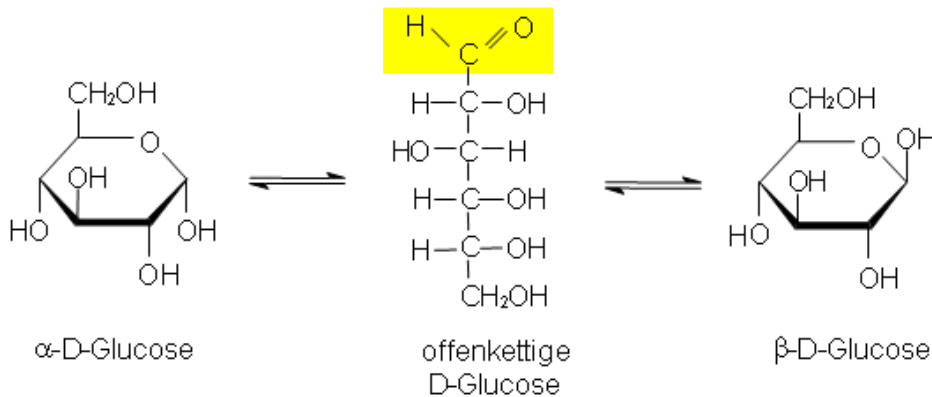


Abb. 2: Darstellung verschiedener Strukturformeln von D-Glucose

Fructose besitzt im Gegensatz zu Glucose keine Aldehyd-, sondern eine Keto-Gruppe (in der Strukturformel die gelb hinterlegte Gruppe). Auch mit Fructose ergibt der 1,6-Diamino-Nachweis eine Gelbfärbung, die allerdings schneller abläuft als die Reaktion mit Glucose.

Im alkalischen Milieu katalysieren Hydroxid-Ionen die sogenannte Keto-Enol-Tautomerie, d. h. die Protonenwanderung, die in einer Gleichgewichtsreaktion zu Glucose führt (siehe Abbildung 3).

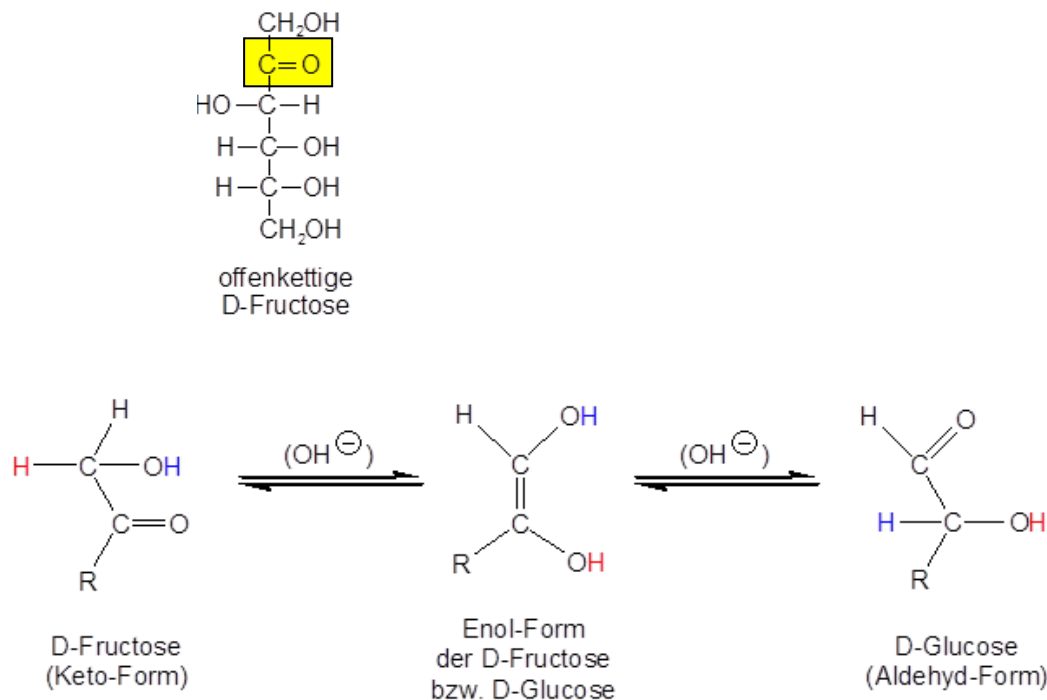


Abb.3: Keto-Enol-Tautomerie bei Fructose (in alkalischem Milieu)

Für den Lactose-Nachweis mit Diaminohexan schlagen Ruppertsberg et al. in ihrer Veröffentlichung (Ruppertsberg et al., How to visualize the different lactose content if dairy products by Fearon's test and Woehlke test in classroom experiments and a new approach to the mechanism and formulae of the mysterious red dyes, Chemical Teacher International. 2019; S. 1-11, 20190008) den folgenden Reaktionsmechanismus vor, der über die Bildung einer Schiffsbasis zum aromatischen Chromophor (Farbträger) führt:

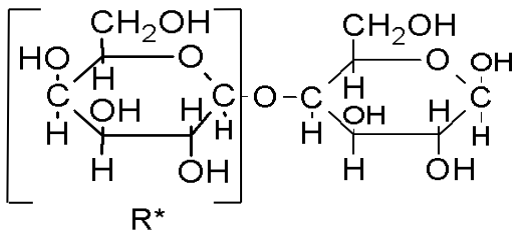


Abb. 4: Strukturformel von Lactose,  $R^*$  = Galactose-Rest

1. Reaktionsschritt:

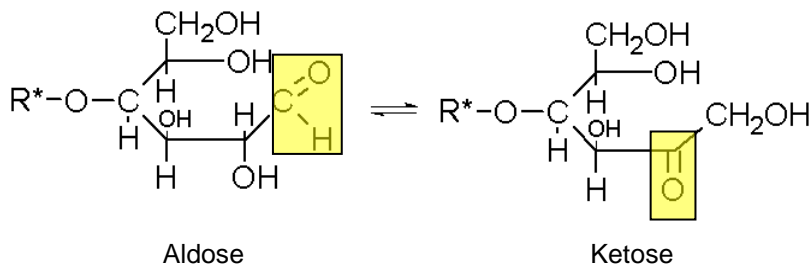


Abb. 5: Offene Form der Lactose: Keto-Enol-Tautomerie

2. Reaktionsschritt:

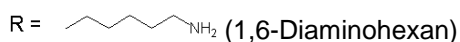
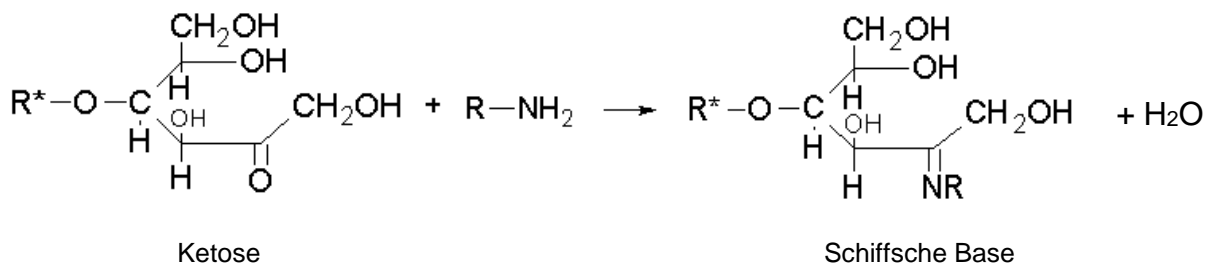


Abb. 6: Bildung einer Schiffsbasis aus Ketose und Amin

3. Reaktionsschritt:

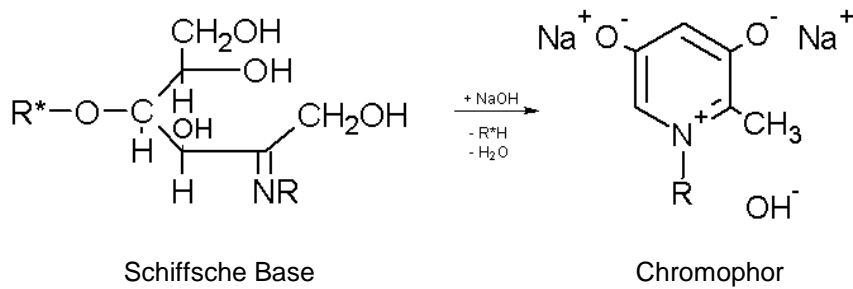


Abb. 7: Bildung des aromatischen Chromophors

Im basischen Milieu (das Reagenz enthält NaOH) wird in Umlagerungsreaktionen unter Abspaltung von Wasser und dem Galactose-Rest R\* das Natriumsalz des farbigen Pyridinderivats gebildet. Das erklärt auch die identische Farbe für Maltose.

Beim Nachweis von Zuckern in Schokolade ist überraschend, dass sich auch mit Zartbitterschokolade ein positives Ergebnis ergeben kann, obwohl Lactose allenfalls in sehr geringer Konzentration enthalten ist. Der Grund dafür liegt im Bestandteil Glucosesirup, der Maltose enthält. Wie Lactose reagiert auch Maltose mit Diaminohexan zu einem roten Farbstoff. Beim Einkauf der zu untersuchenden Schokolade sollte deshalb darauf geachtet werden, dass kein Glucosesirup enthalten ist.

Zusatzinformation:

Saccharose lässt sich mit 1,6-Diaminohexan nicht nachweisen, weil Saccharose keine freie Aldehyd- bzw. Ketogruppe besitzt. Saccharose ist ein Disaccharid, dessen fest miteinander verbundene Bausteine Glucose und Fructose sind (siehe Abbildung 4). Erst durch Zugabe von wässriger Säure werden die Monosaccharide voneinander getrennt. Man erhält ein Gemisch aus Glucose und Fructose gleicher Konzentration.

Führt man den 1,6-Diaminohexan-Nachweis mit diesem Gemisch durch, erhält man wieder die charakteristische Gelbfärbung, die mit Glucose bzw. Fructose entsteht.

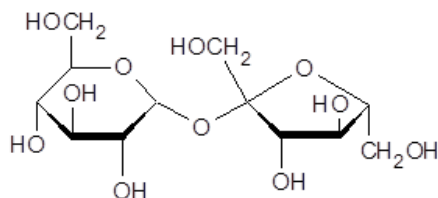


Abb. 4: Strukturformel von Saccharose