

Name:

Datum:

Carotin in Lebensmitteln

I. Extraktion von β -Carotin aus Lebensmitteln

Geräte

4 Reagenzgläser, 4 Gummistopfen, Reagenzglasständer, 1 Erlenmeyerkolben mit Stopfen, Messer, Mörser, Spatel, Messpipette, 1 kleine Petrischale, Messzylinder

Materialien

Möhren, Kresse, Apfel, Fanta, Carotin-Kapseln, n-Heptan

Sicherheits- und Entsorgungshinweise

Das Lösungsmittel wird in einem dafür vorgesehenen Behälter gesammelt und nicht in den Abguss gegeben.

n-Heptan

H: 225-304-315-336-410



Um β -Carotin aus den verschiedenen Lebensmitteln abzutrennen, muss eine Extraktion mit n-Heptan durchgeführt werden. Die Lebensmittel werden dafür unterschiedlich vorbereitet.

Durchführung

1. Zerkleinere die festen Stoffe (Möhre, Apfel, Kresse) jeweils mit dem Messer und zerleibe sie anschließend im Mörser. Wiege von der Masse jeweils 2 g in der Petrischale ab und fülle sie in ein sauberes Reagenzglas.
2. Fülle 2 mL von der Fanta mit der Messpipette in ein weiteres Reagenzglas.
3. Gib eine Carotin-Kapsel in den Erlenmeyerkolben und schneide sie mit dem Messer durch.
4. Gib in jedes der 4 Reagenzgläser 10 mL n-Heptan (Messzylinder). Verschließe die Reagenzgläser mit Gummistopfen (Vorsicht: Bruchgefahr!) und schüttele sie kräftig. Zwischendurch solltest du die Stopfen einige Male lockern, um einen Überdruck zu vermeiden.
5. In den Erlenmeyerkolben gibst du 25 mL n-Heptan (Messzylinder). Verschließe ihn ebenfalls mit einem Stopfen und schüttele. Vergiss nicht den Druckausgleich.

Was kannst du nach dem Schütteln erkennen? Trage deine Beobachtungen in folgende Tabelle ein.

Material	Beobachtungen
Möhre	
Kresse	
Apfel	
Fanta	
Carotin-Kapsel	

Was kannst du an dieser Stelle über das Vorhandensein von β -Carotin in den untersuchten Lebensmitteln vermuten?

Name:	Datum:
--------------	---------------

II. UV/Vis-Spektrum von β -Carotin

Geräte

Fotometer, Küvetten, Kunststoffpipetten

Materialien

Möhren-Extrakt aus Versuch 1, β -Carotin-Stammlösung ($c = 8.7 \cdot 10^{-6}$ mol/L entsprechend 0.47 mg β -Carotin in 100 mL n-Heptan), n-Heptan

Sicherheits- und Entsorgungshinweise

Das Lösungsmittel wird in einem dafür vorgesehenen Behälter gesammelt und nicht in den Abguss gegeben.

n-Heptan

H: 225-304-315-336-410



Mit Hilfe der Anleitung für das Fotometer soll ein Übersichtsspektrum von β -Carotin aufgenommen werden. Es wird im Vergleich zum reinen Lösungsmittel n-Heptan gemessen. Genauso wird ein UV/Vis-Spektrum von der Substanz hergestellt, die aus den Möhren extrahiert wurde.

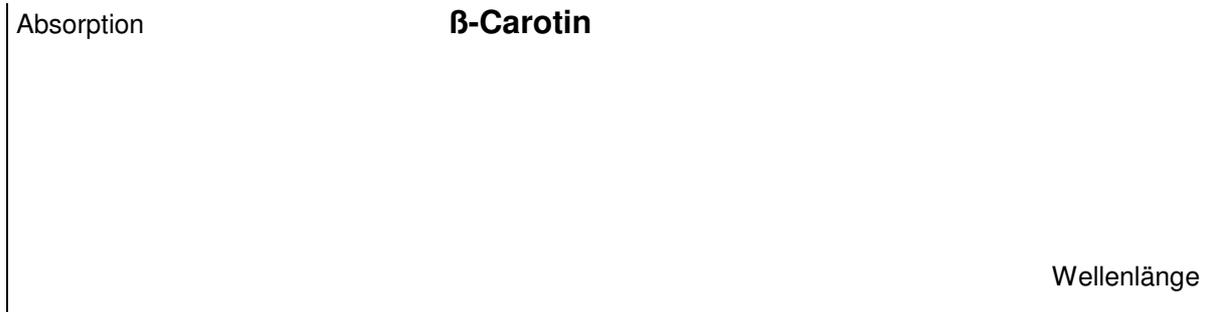
Durchführung:

1. Gib die β -Carotin-Stammlösung in eine Küvette und fülle n-Heptan in eine zweite Küvette.
2. Nimm das UV/VIS-Spektrum von β -Carotin nach Anleitung auf. Stelle als Messbereich nacheinander 250, 350, 450 und 550 nm ein.
3. Am Ende der Messungen erhältst du dann ein Übersichtsspektrum von 200 bis 600 nm.
4. Nimm ein entsprechendes Spektrum von der Substanz auf, die du aus den Möhren extrahiert hast.

Beobachtungen:

Wellenlängenbereich	Lokales Absorptionsmaximum von β -Carotin	Lokales Absorptionsmaximum des Möhren-Extraktes
200-300 nm		
300-400 nm		
400-500 nm		
500-600 nm		

Skizziere die Übersichtsspektren:



Auswertung

Lässt sich die Substanz, die aus den Möhren extrahiert wurde, mit Hilfe der aufgenommenen UV/Vis-Spektren identifizieren? Begründe deine Meinung.
Bestimme aus den gesammelten Daten die Wellenlänge, bei der das Absorptionsmaximum von β -Carotin liegt.

Fotometer:

Carotin

Name:	Datum:
-------	--------

III. Konzentrationsbestimmung von β -Carotin in verschiedenen Lebensmitteln

Geräte

Fotometer, Küvetten, 6 Pipetten, Reagenzgläser, Reagenzglasständer

Materialien

 β -Carotin-Extrakte aus Versuch 1, β -Carotin-Lösung (Stammlösung mit der Konzentration $c = 8.7 \times 10^{-6}$ mol/L entsprechend 0.47 mg β -Carotin in 100 mL n-Heptan gelöst), n-Heptan

Sicherheits- und Entsorgungshinweise

 Das Lösungsmittel wird in einem dafür vorgesehenen Behälter gesammelt und nicht in den Ausguss gegeben.

n-Heptan

H: 225-304-315-336-410



Bei diesem Versuch geht es nicht mehr darum herauszufinden, *ob* β -Carotin in den Lebensmitteln vorhanden ist, sondern *wie viel* davon enthalten ist. Um dies ermitteln zu können, musst du zunächst die Absorptionen von Lösungen mit einem bekannten β -Carotin-Gehalt messen. Aus diesen Messungen kannst du eine Gerade konstruieren (Kalibriergerade), die es dir ermöglicht, die β -Carotin-Konzentration der zu untersuchenden Lösungen abzulesen.

Durchführung

1. Miss die Absorptionen einer Verdünnungsreihe aus β -Carotin-Lösungen, die du nach der Verdünnungstabelle herstellst, bei konstanter Wellenlänge von 450 nm. Gehe dabei nach der Bedienungsanleitung für das Fotometer vor (Messen einzelner Absorptionswerte).

Verdünnungstabelle:

Konzentration β -Carotin [mg/100 mL]	Volumen der β -Carotin-Stammlösung [mL]	Volumen n-Heptan [mL]	A_{450}
0.47	4	0	
0.35	3	1	
0.235	2	2	
0.1175	1	3	

2. Erstelle aus diesen Daten eine Kalibriergerade, indem du die Absorption gegen die Konzentration aufträgst.

Fotometer:

Carotin

Lebensmittel	β -Carotin-Konzentration abgelesener Wert [mg/100 mL]	β -Carotin-Gehalt in 2 g Probe [mg]	β -Carotin-Gehalt in 1 kg [mg/kg]
Möhre			
Apfel			
Kresse			
Fanta			
		Gehalt in einer Kapsel [mg]	
Carotin-Kapsel			

Lehrerinformation:

Allgemeines zu Carotinoiden

Carotinoide sind Verbindungen aus Kohlenwasserstoffketten mit konjugierten Doppelbindungen, d.h. dass im Molekül eine mehrfache Abfolge von Doppelbindung und Einfachbindung vorliegt. Diese Anordnung bewirkt eine besondere Beweglichkeit der Elektronen, die man sich auch als eine ausgedehnte „Elektronenwolke“ vorstellen kann. Für die energetischen Zustände bedeutet diese Delokalisation eine geringe Differenz zwischen den höchsten besetzten Orbitalen und den niedrigsten unbesetzten Orbitalen. Folglich kann eine Anregung der Elektronen schon bei Wellenlängen des Lichts stattfinden, die im sichtbaren Bereich liegen. Die Absorptionsmaxima der Carotinoide liegen zwischen 400 und 500 nm, so dass sie eine gelbe bis rote Farbe aufweisen.

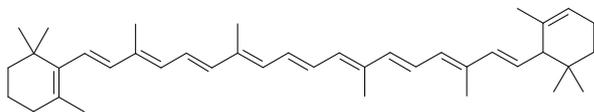
Die Doppelbindungen liegen meist in der trans-Konfiguration vor, allerdings kann auch eine Umwandlung in cis-Isomere erfolgen.

An den beiden Enden der Kohlenwasserstoffketten können unterschiedliche Substituenten gebunden sein.

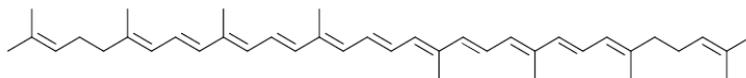
Beispiele für Carotinoide:



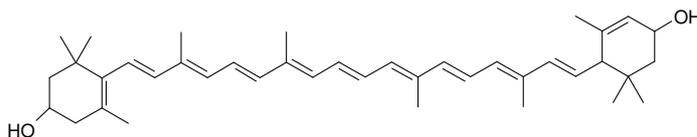
β -Carotin



α -Carotin



Lycopin



Lutein

Carotinoide können in der Natur nur von Pflanzen, Bakterien und Pilzen synthetisiert werden. Insgesamt sind zurzeit ca. 650 verschiedene Carotinoide bekannt. Zu unterscheiden sind Carotine, die nur aus Kohlenstoff und Wasserstoff aufgebaut sind, und

Xanthophylle, die zusätzlich Sauerstoff enthalten. Carotine kommen insbesondere in gelben bis roten Gemüsesorten vor, Xanthophylle vor allem in Gemüse mit grünen Blättern.

Die wichtigsten Vertreter der Carotine sind Alpha- (z.B. in Möhren) und Beta-Carotin (z.B. in Möhren, Spinat und Grünkohl) sowie Lycopin (z.B. in Tomaten) und der Xanthophylle Lutein, Zeaxanthin (z.B. in Grünkohl und Spinat) sowie Beta-Cryptoxanthin (z.B. in Tomaten).

In der Pflanze übernehmen die Carotinoide einerseits eine direkte Funktion bei der Photosynthese, in dem sie das Absorptionsspektrum des Chlorophyll im blau-grünen Spektralbereich ergänzen, andererseits schützen sie durch ihre antioxidative Eigenschaft das Chlorophyll vor der Zerstörung durch Photooxidation und tragen in der Dunkelreaktion zum Energietransfer bei.

Neben etwa 50 anderen Carotinoiden dient auch β -Carotin im Körper als Provitamin A, einer Vorstufe der Stoffgruppe Vitamin A.

Beim Sehvorgang spielt die Umwandlung einer cis- in eine trans-Position im Vitamin A₁ (Retinol) eine Rolle bei der Umwandlung des Lichtes in einen elektrischen Reiz.

Darüber hinaus konnte eine Wirkung der Carotinoide in der Immunabwehr und bei der Zelldifferenzierung nachgewiesen werden. Aufgrund ihrer antioxidativen Eigenschaften, d.h. sie reagieren mit Sauerstoffradikalen wie z.B. Peroxiden, und ihrer Funktion in der Zellkommunikation besitzen sie außerdem eine antikanzerogene Wirkung. Bei der Reaktion mit Sauerstoffradikalen werden die Carotinoide anstelle anderer Substanzen im Körper, wie z.B. DNA oder ungesättigte Fettsäuren als Bestandteile von Membranen, oxidiert. Daher müssen sie durch die Nahrung ständig ergänzt werden.

Aufgrund ihrer Struktur sind die Carotinoide lipophil, d. h. sie lösen sich in Fetten bzw. unpolaren organischen Lösungsmitteln. Für eine Aufnahme aus der Nahrung ist es daher vorteilhaft, wenn man gleichzeitig Fette zu sich nimmt. Auch der Zerkleinerungsgrad der Nahrung sowie das Kochen erhöhen die Aufnahmemenge, da diese Behandlung der Struktur der Pflanzenzelle zerstört und die Carotinoide freigesetzt werden. Kochen ist allerdings nur bei Carotinen sinnvoll, da Xanthophylle meist hitzeempfindlich sind.

Im Gegensatz zum wasserlöslichen Vitamin C wird Vitamin A in der Leber gespeichert und bei Bedarf über das Blut an die entsprechenden Organe transportiert.

Extraktion von β -Carotin

Aufgrund der Fettlöslichkeit der Carotinoide wird die Extraktion mit n-Heptan durchgeführt.

Anhand ihrer gelben bis roten Farbe lässt sich bereits erkennen, in welchen Extrakten Carotinoide enthalten sind. Allerdings überdeckt beim Kresse-Extrakt die grüne Farbe des Chlorophylls, das ebenfalls extrahiert wird, die Farbe der Carotinoide. Eine Vermutung bezüglich der relativen Mengen an Carotinoiden in den unterschiedlichen Lebensmitteln kann gezogen werden.

Absorptionsspektrum von Brillantblau

Dieser Versuch dient einerseits dazu, dass die Funktionsweise eines Fotometers deutlich gemacht wird, andererseits wird die Voraussetzung zur fotometrischen Konzentrationsbestimmung geschaffen.

Beim Durchlaufen der verschiedenen Wellenlängenbereiche wird das Licht in substanzabhängigen Wellenlängenbereichen absorbiert, wobei sich im Fall von β -Carotin mehrere Maxima ergeben, von denen das deutlichste für die Messung ausgewählt wird. Da dort der Bereich der größten Empfindlichkeit liegt, werden Konzentrationsbestimmungen bei dieser Wellenlänge durchgeführt.

Mit dem Fotometer sind sehr genaue Messungen möglich, allerdings müssen die Probelösungen unbedingt klar sein, da durch eine Trübung würde zusätzlich Licht absorbiert würde. Bei der Herstellung der Extrakte ist also darauf zu achten, dass die Probelösung klar ist, im Zweifelsfall sollte sie vor der Messung filtriert werden.

β -Carotin zeigt ein Absorptionsmaximum bei 450 nm, der Möhrenextrakt bei -----nm

Da jedoch viele Carotinoide ähnliche Absorptionsmaxima haben, ist bei der anschließenden Konzentrationsbestimmung nicht von einer vollständigen Trennung der Absorptionsbereiche auszugehen, so dass z.B. neben dem β -Carotin teilweise auch α -Carotin mit erfasst wird.

Konzentrationsbestimmung von β -Carotin

Bei diesem Versuch wird der Umgang mit Kalibriergeraden vermittelt, mit deren Hilfe die Konzentrationen unbekannter Lösungen bestimmt werden. In der Praxis müssen Kalibriergeraden in regelmäßigen Abständen, in der Regel vor der Durchführung von Messreihen, wiederholt werden, um eventuelle Abweichungen rechtzeitig zu erkennen bzw. mit zu erfassen. Aus der Kalibriergeraden können die Konzentrationen zu untersuchender Lösungen entweder direkt abgelesen werden oder über Kalibriergeraden berechnet werden. Eine Auswertung ist z.B. über Excel möglich.

Entscheidend für den Erfolg des Experiments ist die Genauigkeit beim Ansetzen der Lösungen. Absorptionswerte über 1 können in der Regel für eine Auswertung nicht mehr herangezogen werden. In diesem Messbereich ist die Linearität oft nicht mehr gewährleistet, die aber Voraussetzung für die Genauigkeit der Auswertung ist.