

# Kohlenhydratnachweise im Chemieunterricht – welche werden im Unterricht gelehrt, welche ***sollten*** gelehrt werden?

Kohlenhydrat-Nachweise im experimentellen Chemieunterricht  
unter Berücksichtigung von Sicherheitsaspekten

Supplement zum Hauptartikel „Welcher Zucker ist in der Probe?“  
(Nachrichten aus der Chemie 2022)

Klaus Ruppertsberg \*, Hanne Rautenstrauch\*, Wolfgang Proske\*\*

\* Europa-Universität Flensburg, Abt. Chemie und ihre Didaktik, Flensburg

\*\* Schulchemiezentrum Zahna-Elster

*Vorbemerkung: Da im Hauptartikel aufgrund der großen Menge an Informationen nicht alle Details zum Thema Kohlenhydratnachweise im Chemieunterricht gedruckt werden konnten, liefert dieses Supplement weitere wichtige Überlegungen und grundlegende Fakten.*

## Inhalt

Kohlenhydratnachweise im Chemieunterricht – welche werden im Unterricht gelehrt, welche <b>sollten</b> gelehrt werden? .....	- 1 -
1 Kohlenhydrate als Gegenstand des Chemieunterrichts .....	- 2 -
2 Übliche Kohlenhydratnachweise in gängigen Chemiebüchern .....	- 3 -
2.1 Reaktionen von reduzierenden Zuckern mit Kupfer(II)-Ionen (Fehling u.a.) .....	5
2.2 Nachweis von Cellulose mit einer verbesserten Chlorzinkiodprobe.....	10
2.3 Spezifischer Glucose-Nachweis mit dem GOD-Test .....	12
2.4 Nachweis von Stärke durch die Iodprobe .....	13
2.5 Nachweis von Ribose und anderen Monosacchariden (Molisch-Probe) .....	15
2.6 Nachweis von Aldehyden mit Schiffsschem Reagenz .....	19
2.7 Nachweis von Fructose nach Seliwanoff .....	22
2.8 Tollens-Probe auf reduzierende Zucker (Silberspiegelprobe).....	23
2.9 Wöhlk-Probe auf Lactose und Maltose .....	24
3 Fazit und Ausblick.....	27
Die Autoren .....	28
Literatur.....	29

### 1 Kohlenhydrate als Gegenstand des Chemieunterrichts

Kohlenhydrate, umgangssprachlich auch einfach „Zucker“ genannt, werden zurzeit in Wissenschaft, Politik und Gesellschaft stark diskutiert, weil sie wesentlich mit den verbreiteten Gesundheitsproblemen Überernährung, Übergewicht und Diabetes verbunden sind [1]. Sie sind wichtige Substanzen im Energiestoffwechsel aller Lebewesen und gliedern sich in *Poly-, Oligo- und Monosaccharide* [2]. Ebenfalls zu den Kohlenhydraten gehören Zuckeralkohole, Zuckersäuren, Desoxyzucker und andere Derivate.

Je nach Verfügbarkeit einer Aldehydgruppe (oder einer  $\alpha$ -Hydroxy-Ketogruppe) werden in einem weiteren Schritt *reduzierende* und *nicht-reduzierende Zucker* unterschieden.

Sowohl im Chemie- als auch im Biologieunterricht sind Kohlenhydrate wichtige Unterrichtsinhalte [3,4]. Besonders sichtbar wird dies in der Ausgestaltung der einschlägigen Lehrbücher (siehe z. B. [5,6]), in den Lehrplänen oder Rahmenrichtlinien, die auf Länderebene

beschlossen werden (siehe z. B. [7,8] bis hinunter zu den individuellen Schulcurricula, die an jeder einzelnen Schule erstellt werden.

Kohlenhydrate, die Gegenstand des Unterrichts sind, sollten sich idealerweise mit schulischen Mitteln anschaulich und verständlich chemisch nachweisen lassen. Eine kurze Übersicht im Folgenden soll aufzeigen, welche Kohlenhydratnachweise zurzeit üblicherweise in Chemiebüchern für die gymnasiale Oberstufe aufgelistet sind, was diese leisten und wie sie funktionieren.

## 2 Übliche Kohlenhydratnachweise in gängigen Chemiebüchern

Im experimentellen Chemieunterricht sind vor allem historische nasschemische Nachweisreaktionen sehr beliebt, allen voran die Fehling-Probe aus dem Jahr 1848. In modernen Laboratorien sind diese historischen Methoden jedoch weitestgehend obsolet, weil es bessere, schnellere und exaktere Methoden gibt. Allerdings handelt es sich bei den modernen maschinellen Nachweismethoden (Gaschromatographie, HPLC usw.) fast ausschließlich um „Blackbox-Methoden“, bei denen der für die Lernenden so wichtige Weg von der Probe zum Ergebnis im Verborgenen bleibt. Auch vom Anschaffungspreis her (z. B. Electrospray-Ionisations-Massenspektrometer (ESI-MS) ca. 250.000 Euro) ist es utopisch, eine moderne Nachweismethode im Unterricht anwenden zu wollen<sup>1</sup>.

Daher finden sich in modernen Lehrmaterialien weiterhin Nachweisreaktionen aus den Anfängen der naturwissenschaftlichen Forschung. Die nachfolgende Auswertung von gebräuchlichen Schulbüchern aus dem Zeitraum 2009 bis 2019 (Tab. 1) zeigt in einem Überblick, welche Kohlenhydratnachweise zum Zeitpunkt der Entstehung dieses Artikels üblicherweise gelehrt und angewendet wurden.

---

<sup>1</sup> Einblicke in moderne Analytik und Forschungsabläufe vermitteln z. B. Schülerforschungslabore wie die Kieler Forschungswerkstatt; dies ist jedoch nicht der Schwerpunkt dieser Arbeit. Ungeachtet dessen wäre es ohne weiteres denkbar, alte und neue Methoden der Kohlenhydratforschung als einen Programmpunkt eines Schülerforschungslabors zusammenzustellen.

Tabelle 1: Kohlenhydrat-Nachweise in einer Auswahl von verbreiteten Oberstufen-Lehrbüchern

Lehrbuch	Barfoed- Probe	Benedict- Test	Chlorzinkiod- Probe	Fehling- Probe	GOD- Test	Iod- Probe	Molisch- Probe	Schiffsche Probe	Seliwanoff- Probe	Tollens- Probe	Wöhlk- Probe	Anzahl von Nachweisen
Chemie im Kontext [9]				X		X	X	X		X		5
Elemente Chemie 2 [10]				X	X	X			X	X		5
Chemie Oberstufe [11]				X	X	X			X	X		5
Salters Chemie [12]				X		X				X		3
Chemie heute S II [13]				X		X		X		X		4
Chemie 2000+ [14]			X	X	X	X			X	X		6
Fokus Chemie S II [15]				X	X	X		X	X	X		6
Chemie heute S II [6]	X	X		X	X	X			X	X	X	8
Elemente Chemie Oberstufe [16]		X		X	X	X		X	X	X		7
<b>Anzahl der Nennungen</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>9</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	<b>9</b>	<b>1</b>	

Die Aussagekraft der Nachweise und ihre Eignung für den Chemieunterricht sind sehr unterschiedlich. Hierzu sollen die vorgefundenen Nachweisverfahren im Folgenden genauer betrachtet und erläutert werden.

## 2.1 Reaktionen von reduzierenden Zuckern mit Kupfer(II)-Ionen (Fehling u.a.)

Die Fehling-Probe, der Benedict-Test und die Barfoed'sche Probe beruhen allesamt auf der Reduktion von Kupfer(II)-Ionen bei gleichzeitiger Oxidation der Aldehydgruppe reduzierender Zucker, deshalb werden sie vor einer detaillierteren Betrachtung zunächst gemeinsam behandelt.

Schon vor der Fehling-Reaktion von 1848 gab es die Möglichkeit, reduzierende Zucker wie Traubenzucker, Milchzucker und Malzzucker mit Kupfer(II)-Ionen nachzuweisen, z. B. die Trommer'sche Probe aus dem Jahr 1841, zitiert nach Dornblüth:

„Man setzt dem Harn im Reagenzglas 1/3 seines Volumens Kalilauge hinzu, schüttelt gut und fügt tropfenweise eine 2%ige Lösung von Cuprum sulfuricum hinzu, so lange als sich beim Umschütteln der entstehende Niederschlag noch löst, was bei Anwesenheit von Zucker meist unter tiefblauer Farbe geschieht. Dann erhitzt man den oberen Teil der Lösung über der Spirituslampe, bis sich gelbrote Wolken von Kupferoxydul auszuscheiden beginnen. Das Auftreten des gelbroten Reduktionsniederschlages, das nun ohne Erhitzen weiter geht, beweist das Vorhandensein von Traubenzucker“ [17].

Das Interesse an einer solchen Nachweisreaktion kommt, wie auch später immer wieder zu sehen ist, von medizinischer Seite, nämlich zum Nachweis von Glucose im diabetischen Harn [18–20].

In den untersuchten Schulbüchern (Tabelle 1) war die Trommer'sche Probe nicht mehr aufzufinden, wohl aber die Methoden nach Barfoed, Benedict und natürlich Fehling. Die bei diesen Verfahren verwendeten Kupfer(II)-Ionen können über die rote Zwischenstufe Kupfer(I)-Oxid zu elementarem Kupfer reduziert werden, dies tritt aber oft erst nach ausgiebigem Erhitzen ein. Da sowohl Kupfer(I)-Oxid als auch elementares Kupfer einen roten Niederschlag bilden, muss an dieser Stelle vorweg auf mögliche Missverständnisse und Fehlinterpretationen hingewiesen werden.

Bei allen drei Verfahren ist Hitze notwendig; hierbei ist ein Wasserbad (60 °C) empfehlenswerter als das Erhitzen im Reagenzglas über der Bunsenbrennerflamme, weil alkalische Flüssigkeiten beim Erhitzen zu gefährlichen Siedeverzügen neigen [21].

Außer reduzierenden Zuckern können auch Aldehyde oder andere reduzierende Substanzen nachgewiesen werden. Ascorbinsäure (i.e. Vitamin C) reagiert bereits bei Raumtemperatur (siehe z. B. [22]).

Reaktionsgleichungen zu dieser Gruppe von Nachweismethoden werden oft falsch dargestellt. Einigkeit herrscht bezüglich der Reduktion des Kupfer(II)-Ions; ob diese aber bis zum elementaren Kupfer vollzogen wird oder beim Kupfer(I)-Ion stehen bleibt, wird nicht einheitlich vermittelt, weil beide Produkte zu beobachten sind. Der rote Niederschlag besteht zunächst aus Kupfer(I)-oxid; erst im weiteren Verlauf der Reaktion entsteht elementares Kupfer, weswegen gravimetrische Untersuchungen sehr kompliziert sind und nur mit einer empirisch entwickelten Tabelle vorgenommen werden können [23].

Die größte Uneinigkeit besteht in Bezug auf die Oxidation der Zuckerkomponente: Obwohl seit Jahrzehnten bekannt ist, dass eine Oxidation von Glucose zur Gluconsäure bzw. zum Gluconat *nicht* stattfindet, flammt diese falsche Darstellung immer wieder auf [24].

Tatsächlich findet in der stark alkalischen Lösung eine Lobry-de-Bruyn-van-Ekenstein-Umlagerung statt, als deren Ergebnis ein doppelt gebundenes Sauerstoffatom am zweiten Kohlenstoffatom zu finden ist. Somit kann auch die schnellere Reaktion des Ketozuckers Fructose erklärt werden, die bislang in vielen Schulklassen Verwunderung hervorrief.

In Wahrheit wird die Glucose nicht zur Gluconsäure, sondern zum Glucoson (2-Ketoglucose) oxidiert [24].

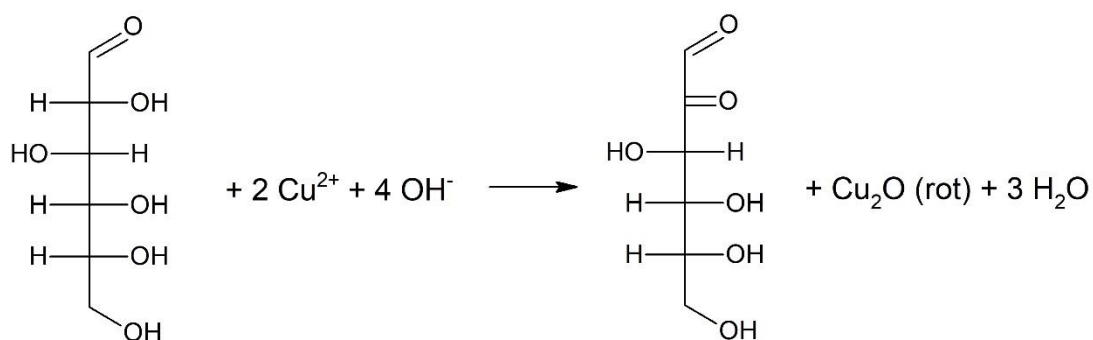


Abbildung 1: D-Glucose wird zu D-Glucoson oxidiert

Es ist aber davon auszugehen, dass Glucoson nicht das einzige Produkt ist, sondern dass durch Eliminierungen, Umlagerungen und Fragmentierungen, die typisch für den alkalischen Zuckerabbau sind, auch weitere Abbauprodukte entstehen (siehe z. B. [25,26]).

Für eine sinnvolle didaktische Reduktion im Unterricht in der Oberstufe wird daher in Anlehnung an Fleischer 2017 eine vereinfachte Reaktionsgleichung (Abb. 1) vorgeschlagen.

**Sicherheit:** Kupferhaltige Abfälle sind umweltgefährdend (GHS 09) und daher grundsätzlich als Schwermetall-Abfall zu entsorgen.

Die Unterschiede der drei üblichsten Verfahren mit Kupfer(II)-Ionen werden im Folgenden erläutert.

### 2.1.1 Barfoed'sche Probe

Die Barfoed'sche Probe zur Unterscheidung von Monosacchariden gegenüber Di-, Oligo- und Polysacchariden [27] findet im Gegensatz zu den anderen Verfahren im schwach sauren Bereich statt und wird vorzugsweise im heißen Wasserbad durchgeführt. Dabei wird das  $\text{Cu}^{2+}$ -Ion zu  $\text{Cu}^+$  reduziert, welches als rotes Kupfer(I)-oxid ausfällt [28]. Der Zucker, im obigen Beispiel Glucose, wird zum Glucoson oxidiert (s. o.).

Ganz allgemein reagieren reduzierende Monosaccharide bereits nach wenigen Minuten und somit schneller als Disaccharide und Oligosaccharide. Polysaccharide reagieren kaum oder gar nicht.

**Vorgehensweise:** Das Barfoed-Reagenz wird hergestellt, indem 6,7 g Kupferacetat und 1 mL Eisessig mit demin. Wasser zu 100 mL Lösung aufgefüllt werden. Von der Testlösung werden 4 mL in ein Reagenzglas gegeben, das schon ca. 50 mg eines reduzierenden Zuckers (z. B. Glucose) enthält, und im Wasserbad erhitzt. Nach wenigen Minuten ergibt sich eine rote Farbe, die beim Stehenlassen als Niederschlag (Kupfer(I)-oxid) ausfällt.

### 2.1.2 Fehling-Probe

Die Fehling-Probe aus dem Jahre 1848 diente ursprünglich ebenfalls als Nachweis von Glucose im Urin, reagiert aber auch mit anderen reduzierenden Kohlenhydraten sowie mit Aldehyden positiv [29]. Auch Fructose wird positiv nachgewiesen (s.u.).

**Vorgehensweise:** Für den Test werden je 2 mL der beiden Lösungen in ein Reagenzglas gegeben, das schon ca. 50 mg eines reduzierenden Zuckers (z.B. Glucose) enthält, und im Wasserbad erhitzt.

Nach wenigen Minuten ergibt sich eine rote Farbe, die auf der Bildung von Kupfer(I)-oxid-Partikeln beruht; diese Partikel sedimentieren beim Stehenlassen rasch [22]. Bei einem

Überangebot von Kupfer(II)-Ionen werden Farbtöne in gelb, grün, braun und ocker hervorgerufen (ähnlich wie in Abb. 2 zur Benedict-Probe).

Die Fehling-Probe kann Glucose und Maltose sowie weitere ähnliche Mono- und Disaccharide nicht unterscheiden, da alle reduzierenden Kohlenhydrate in gleicher Weise reagieren.

Die beiden Lösungen Fehling-I und Fehling-II müssen separat hergestellt und aufbewahrt werden, da sie ansonsten während der Lagerung durch Umlagerungsreaktionen des Tartrats verderben:

- Fehling-I wird hergestellt, indem 7 g Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat mit demin. Wasser gelöst und zu 100 mL aufgefüllt werden.
- Für Fehling-II werden 10 g Natriumhydroxid und 35 g Kaliumnatriumtartrat in demin. Wasser gelöst und nach dem Abkühlen zu 100 mL aufgefüllt.

**Sicherheit:** Vor Anwendung aller Methoden mit Kupferionen und stark alkalischen Lösungen ist eine Sicherheitsbelehrung durchzuführen und zu dokumentieren, z. B. im Klassen- oder Kursbuch.

Das Erhitzen der Proben über dem Bunsenbrenner ist zu unterlassen, da hierdurch gefährliche Siedeverzüge provoziert werden. Stattdessen ist dem Wasserbad (60-70 °C) der Vorzug zu geben.

**Ersatzstoffprüfung:** Die als „Fehling-II“ bezeichnete Lösung ist im Prinzip eine mit Kaliumnatriumtartrat versetzte Natronlauge ( $c = 2,5 \text{ mol/L}$ ), während der alkalische pH-Wert von Benedict-Reagenz (s.u.) nur auf Trinatriumcitrat und Natriumcarbonat beruht. Die als „Fehling-I“ bezeichnete Lösung enthält 7 g Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat auf 100 mL, während das Benedict-Reagenz auf 100 mL nur 1,73 g Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat enthält.

Die Ergebnisse der Fehling-Probe lassen sich auch mit dem Benedict-Test erzielen, allerdings mit weniger gefährdenden Stoffen. Deshalb ist die Fehling-Probe gemäß § 7.3 der Gefahrstoffverordnung eigentlich durch den Benedict-Test (s. u.) zu ersetzen [30].

### 2.1.3 Benedict-Test

Der Benedict-Test auf reduzierende Zucker [31] ähnelt der Fehling-Probe [29], jedoch wird für die Aufbewahrung der Fertiglösung nur ein Gefäß benötigt (anstelle von zwei getrennten Vorratslösungen bei der Fehling-Probe).

**Vorgehensweise:** Von der Testlösung werden 4 mL in ein Reagenzglas gegeben, das schon ca. 50 mg eines reduzierenden Zuckers (z.B. Glucose) enthält, und im Wasserbad erhitzt. Nach



wenigen Minuten ergibt sich eine rote Farbe, die beim Stehenlassen als Niederschlag ausfällt [32].

Bei der Herstellung der direkt verwendbaren Fertiglösung werden zunächst auch hier zwei Lösungen angesetzt. Die erste Lösung enthält 173 g Trinatriumcitrat und 100 g wasserfreies Natriumcarbonat, welche unter Rühren und Erwärmen<sup>2</sup> in 600 mL demin. Wasser gelöst werden. Eine zweite Lösung wird aus 17,3 g Kupfer(II)-sulfat-Pentahydrat in 100 mL demin. Wasser hergestellt. Nach dem Abkühlen werden beide Lösungen in einem 1000 mL – Messkolben vereinigt und nach dem Abkühlen auf 1000 mL aufgefüllt [32].

Durch die Substitution von Hydroxid durch Carbonat ist das Reagenz weniger stark ätzend und durch die Verwendung von Citrat anstatt Tartrat ist es stabiler als das Fehling-Reagenz.

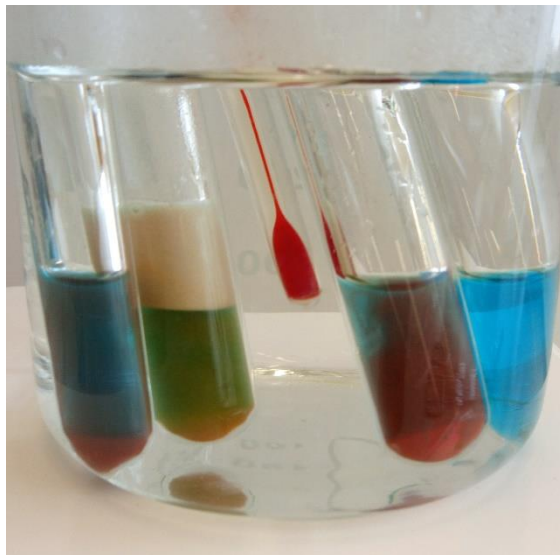


Foto: Rautenstrauch

Abbildung 2: Zucker und Milchprodukte im 60 °C-Wasserbad mit Benedict-Reagenz

Bei einem Überschuss an Kupfer(II)-Ionen ergeben sich -wie bei der Fehling-Probe (s. o.)- weitere Farben (Abb. 2), die semiquantitativ gedeutet werden können:

- „Leichte Verfärbung nach grün: weniger als 0,1%
- Starke Trübung mit gelb-grüner Verfärbung: 0,2-0,3%
- Ansatz gelb-orange: zirka 0,5%
- Ansatz ziegelrot: 1% und mehr“ [22].

---

<sup>2</sup> Das Erwärmen dient der besseren Löslichkeit des relativ schwer löslichen Natriumcarbonats.

Die Angaben von Aebi (1965, S. 97) in Gewichtsprozent beziehen sich auf die Verwendung einer Glucoselösung; bei der Beurteilung der farblichen Ergebnisse von Disacchariden ist daher eine Verdopplung der Prozentzahlen vorzunehmen.

**Sicherheit:** Vor Anwendung aller Methoden mit Kupferionen und stark alkalischen Lösungen ist eine Sicherheitsbelehrung durchzuführen und zu dokumentieren, z. B. im Klassen- oder Kursbuch.

## 2.2 Nachweis von Cellulose mit einer verbesserten Chlorzinkiodprobe

Die klassische Chlorzinkiodprobe (auch Iod-Zinkchlorid-Test genannt) dient dem Nachweis von Cellulose [33]. Dieser ist an einer blauen bis braunvioletten Färbung erkennbar, je nach Konzentration und Struktur der Cellulose. Zur Farbentstehung gibt es außer der Vermutung, dass das Zinkchlorid zum Aufquellen der Cellulosestruktur führt und dass es sich um Wechselwirkungen zwischen Iod, Zink und Cellulose handelt [34], keinen auffindbaren nachgewiesenen Mechanismus.

**Vorgehensweise:** Die Testlösung lässt sich bei Raumtemperatur sowohl im Reagenzglas als auch als Tüpfeltest anwenden [35]. Für letztere Methode werden auf einer Tüpfelplatte (heller Untergrund) ein Tropfen Chlorzinkiod-Lösung und eine Mikrospatelspitze Cellulose zusammengegeben. Nach kurzer Zeit ergibt sich eine blaue bis braunviolette Einschlussverbindung.

Die Fertiglösung lässt sich problemlos selbst herstellen, indem man 20 g Zinkchlorid und 6,5 g Kaliumiodid in 10,5 mL Wasser löst. Nach Zusatz von 0,5 g Iod wird 15 Min. lang geschüttelt und falls erforderlich filtriert [35]. Eine historische Anleitung mit leicht abweichenden Mengen lässt sich im Botanischen Zentralblatt von 1912 nachlesen, dort werden auch weitere Rezepturen diskutiert [36].

Der Gefahrstoff Zinkchlorid lässt sich in Seeligers Reagenz (auch: Sellegers Reagenz) durch eine weniger gefährliche Lösung von Calciumnitrat-Tetrahydrat ersetzen: 0,1 g Iod und 0,5 g Kaliumiodid werden zunächst trocken vermischt und mit wenig demin. Wasser gelöst. In einem zweiten Gefäß werden 30 g Calciumnitrat-Tetrahydrat in wenig demin. Wasser gelöst. Beide Lösungen werden vereinigt und zu 25 mL aufgefüllt. Beim Nachweis von Cellulose ergibt sich eine hell- bis dunkelblaue Färbung [37].

Da die Verwendung von Nitrationen den Hinweis „brandfördernd“ einbringt, wurde untersucht, ob sich auch diese Gefährdung noch vermeiden lässt, z. B. durch den Austausch gegen Chlorid-Ionen. Wie der Versuch zeigt, ist auch dies möglich.



Foto: Rautenstrauch

Abbildung 3: Cellulose-Nachweis mit Calciumchlorid-Iod-Kaliumiodid-Lösung

Die Rezeptur für die Calciumchlorid-Iod-Kaliumiodid-Lösung lautet: 0,03 g Iod, 0,17 g Kaliumiodid und 14 g Calciumchlorid (wasserfrei) in 25 ml Wasser lösen.

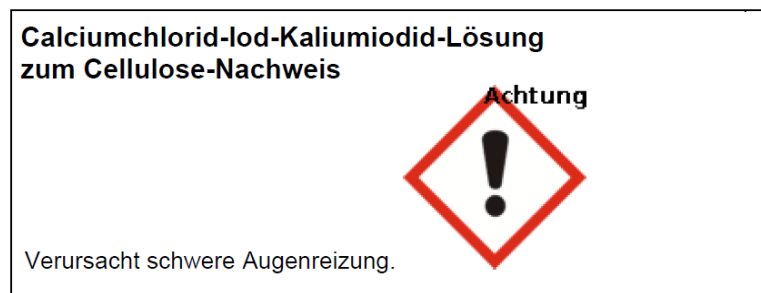


Abb. 4: Etikett gemäß GisChem-Gemischrechner

**Sicherheit:** Aufgrund der Problematik bzgl. Iod-Überempfindlichkeit (siehe auch 2.4 Nachweis von Stärke durch die Iodprobe) sind bei der Anwendung als Sicherheitsmaßnahmen Handschuhe zu tragen und nur kleine Substanzmengen einzusetzen. Schülerinnen und Schüler mit bekannter Iod-Überempfindlichkeit sollten durch Verwendung von Kamera und Bildschirm auf sicheren Abstand gehalten werden und sind auf diese Weise besonders zu schützen.

### 2.3 Spezifischer Glucose-Nachweis mit dem GOD-Test

Der Glucose-Oxidase-Peroxidase-Test (GOD-Test) wird mit Urinteststreifen aus der Apotheke durchgeführt.

**Vorgehensweise:** Ein Teststäbchen wird kurz in die zu prüfende Lösung getaucht und nach der in der Gebrauchsanleitung angegebenen Zeit anhand der Farbskala auf der Verpackung geprüft. Zeitüber- und Unterschreitungen können zu falschen Ergebnissen führen.

**Sicherheitshinweise** sind zur Anwendung von GOD-Teststäbchen nicht erforderlich.

Es handelt sich um einen zusammengesetzten enzymatischen Test, bei dem zunächst aus Glucose und Wasser mit Hilfe von Glucose-Oxidase Gluconolacton und Wasserstoffperoxid gebildet werden [38].

Anschließend wird das Wasserstoffperoxid durch ein zweites Enzym –die Peroxidase- wieder zu Wasser reduziert. Das dabei auf den Redoxindikator 2,2'-Azino-di(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure), kurz ABTS, übertragene Sauerstoffatom führt zu einem grün gefärbten Radikalkation (Absorptionsmaximum 405 nm) und somit zum Farbumschlag.

Allein schon diese vereinfachte Darstellung der Vorgänge verdeutlicht, dass der GOD-Test im Schulunterricht zumeist lediglich als Phänomen verwendbar ist; die exakte Erklärung der biochemischen Vorgänge [39] ist erst bei gutem Oberstufenniveau vermittelbar. Dennoch sollten GOD-Teststäbchen in keinem Unterricht über Kohlenhydrate fehlen, da sie Schülerinnen und Schüler schon frühzeitig mit einem Frühtest zur Erkennung von Diabetes bekannt machen.

Im naturwissenschaftlichen Unterricht sind GOD-Teststäbchen insbesondere dann geeignet, wenn es darum geht, bei dem Standardexperiment „Stärkeabbau durch Speichelamylase“ im Produktgemisch neben dem Hauptprodukt Maltose auch noch die Anwesenheit von Glucose nachzuweisen [40].

## 2.4 Nachweis von Stärke durch die Iodprobe

Mit der Iod-Probe wird Stärke durch Bildung der farbigen Iod-Stärke-Einschlussverbindung nachgewiesen.

**Vorgehensweise:** In die zu testende Lösung werden bis zu 10 Tropfen der Iodlösung ( $c = 0,025$  mol/L) gegeben. Es ergibt sich eine farbige Iod-Stärke-Einschlussverbindung, die je nach verwendeter Stärke blau, rötlich oder violett bis schwarz ist.

Hinweise: Je nach Stärke-Typ (Stärke aus Kartoffeln, Mais, Weizen, Reis ...), industrieller Aufbereitung der Stärkeprodukte und Konzentration der Reaktanden erscheint die Färbung rötlich, violett, blau oder schwarz. Hierzu lässt sich als Regel aufstellen, dass eine stärkere Verzweigung der Molekülkette eine rötliche Verfärbung verursacht (20-30 Glucose-Einheiten bis zur nächsten Verzweigung) und eine weniger verzweigte Kette (über 45 Einheiten bis zur nächsten Verzweigung) einen blauen Eindruck hervorruft [41].

Bei einem schwarzen Eindruck sollte die Konzentration verringert werden bzw. zu stark verklumpte Stärke durch kurzes Aufkochen gelockert werden.

Der Begriff Iodprobe geht häufig einher mit der Verwendung von Iodtinktur (ethanolische Lösung von Iod) und Lugolscher Lösung (Iodkaliumiodidlösung). Beides wurde früher in Apotheken zur Wunddesinfektion angeboten.

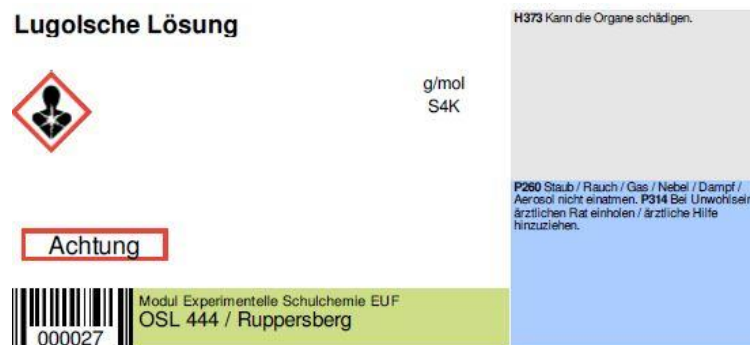


Abbildung 5: Etikett "Lugolsche Lösung" mit Piktogramm GHS 08

Da die Iod-Überempfindlichkeit in der Bevölkerung erheblich zugenommen hat, werden zur Wunddesinfektion nunmehr moderne Antiseptika wie z. B. Phenoxyethanol und Octenidin eingesetzt. Iod und Kaliumiodid wurden mittlerweile mit dem Gefahrstoffsymbol GHS 08 versehen; dies gilt dann auch für Lugolsche Lösungen (Abb. 3). Lugolsche Lösung ist ein Sammelbegriff für Iod-Kaliumiodid-Lösungen mit Konzentrationen von 1%, 2% oder sogar 5% Iod in Wasser.

Ihre Verwendung im Unterricht ist mittlerweile kritisch zu sehen, denn Iod-Unverträglichkeiten bei Schülerinnen und Schülern sind mittlerweile ein ernst zu nehmender Aspekt geworden [42]. Mit einer 0,025 molaren Iodlösung ( $\omega = 0,65\%$ ) kann ebenfalls Stärke nachgewiesen werden, siehe Abbildung 6.

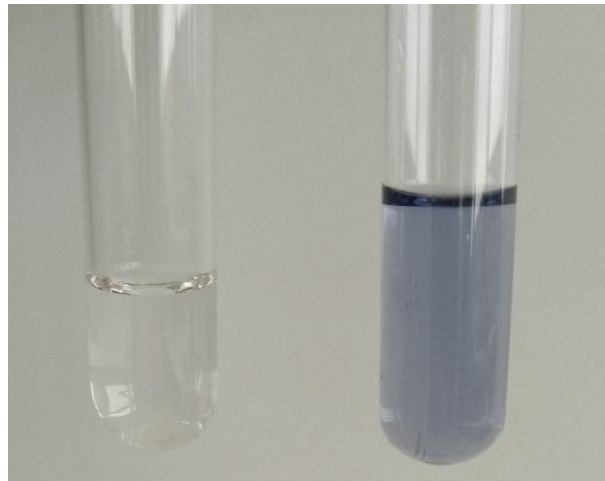


Foto: Rautenstrauch

Abbildung 6: Stärkenachweis mit Iodlösung ( $c = 0,025 \text{ mol/L}$ )

Diese Lösung ist weniger gefährlich und daher kennzeichnungsfrei (Abb. 7).

Stehen für den gleichen Zweck zwei Möglichkeiten zur Verfügung, von denen die eine weniger gefährlich ist, so ist gemäß RiSU im Rahmen der Gefährdungsbeurteilung und Ersatzstoffprüfung die 0,025 molare Iodlösung der Lugolschen Lösung vorzuziehen [43,44].

Entgegen einer früheren Ansicht sind für die Entstehung der farbigen Iod-Stärke-Einschlussverbindung keine Tri- oder Pentaiodidionen nötig [45].

Die schlechte Löslichkeit von Iod in Wasser spielt keine Rolle, wenn man die Lösung wenigstens einen Tag vor dem ersten Gebrauch ansetzt.

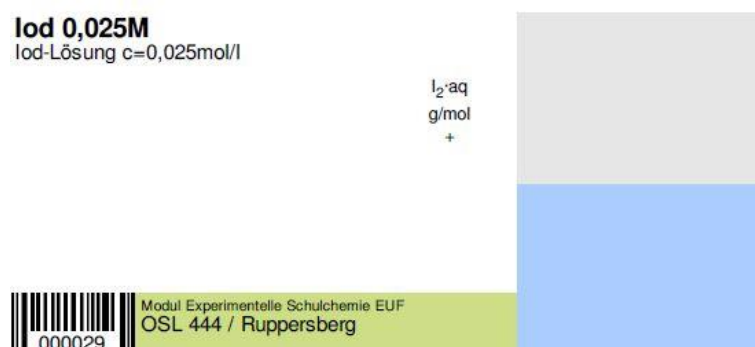


Abbildung 7: Etikett „Iod-Lösung 0,025 mol/L“ ohne Gefahrenpiktogramm

In Verbindung mit dem schulischen Standard-Experiment „Stärkeabbau durch Speichel-Amylase“ wird die Entfärbung der Iod-Probe als Hinweis benutzt, dass die Stärke abgebaut wurde – ein Nachweis der Endprodukte unterbleibt aber zumeist (siehe z. B. [46]. Mit der Wöhlk-Probe und dem GOD-Test können Maltose und Glucose nachgewiesen werden [40].

**Sicherheit:** Aufgrund der Problematik bzgl. Iod-Überempfindlichkeit (siehe 1.1.2) ist bei der Anwendung Vorsicht geboten (Handschuhe tragen, kleine Mengen einsetzen, Schülerinnen und Schüler mit bekannter Iod-Überempfindlichkeit durch Abstand und Verwendung einer Unterrichtskamera mit Übertragung auf Bildschirm/ Smartboard schützen).

Ersatzstoffprüfung: Gemäß § 7.3 Gefahrstoffverordnung ist anstelle der Lugolschen Lösung die Iod-Lösung mit der geringeren Konzentration ( $c = 0,025 \text{ mol/L}$ ) anzuwenden [30].

## 2.5 Nachweis von Ribose und anderen Monosacchariden (Molisch-Probe)

Die Molisch-Probe auf Ribose und andere Monosaccharide [47] wird mit  $\alpha$ -Naphthol und konzentrierter Schwefelsäure durchgeführt.

**Vorgehensweise:** In ein Reagenzglas wird 1 Tropfen einer Zuckerlösung ( $\omega = 1 \%$ ) und 1 Tropfen einer ethanolischen Lösung von  $\alpha$ -Naphthol ( $\omega = 5 \%$ ) gegeben. Anschließend wird 1 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzu pipettiert. Je nach verwendetem Zucker bilden sich rot-violette Färbungen.

Der Mechanismus der Reaktion wurde erstmalig im Jahre 1931 von Hellmut Bredereck beschrieben [48], jedoch 1984 von einem japanischen Forscherteam um Mutsuko Ohta erneut mit modernen Methoden untersucht [49]. Hexosen ergeben einen Farbstoff, der im englischen als „reddish-violet“ (rötlich-violett, etwa wie RAL-Farbpalette 4002 P) bezeichnet wird, Pentosen einen als „purple-red“ (purpurrot, etwa wie RAL-Farbpalette 3004) bezeichneten Farbstoff, der Desoxyzucker Rhamnose ergibt einen roten Farbstoff (etwa wie RAL-Farbpalette 3000) [51].

Farbtöne durch Vergleich zu bestimmen ist in der Praxis recht schwierig, da es zu subjektiven Unterschieden bei der Wahrnehmung kommen kann. Je nach Einstellung eines Farbmonitors oder eines Farbdruckers kann es auch zu objektiv unterschiedlichen Ausgaben von ein und demselben Farbwert kommen. Der Abgleich mit der international üblichen RAL-Farbpalette

[50] kann hierbei als Hilfsmittel bezeichnet werden, wesentlich besser wäre es jedoch, mit einem Vis-Spektrometer ein Maximum zu bestimmen, welches verlässlich überprüfbar ist.

Die Reaktion von Glucose mit konzentrierter Schwefelsäure führt zu 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), die Reaktion von Ribose zu Furfural (Abb. 8).

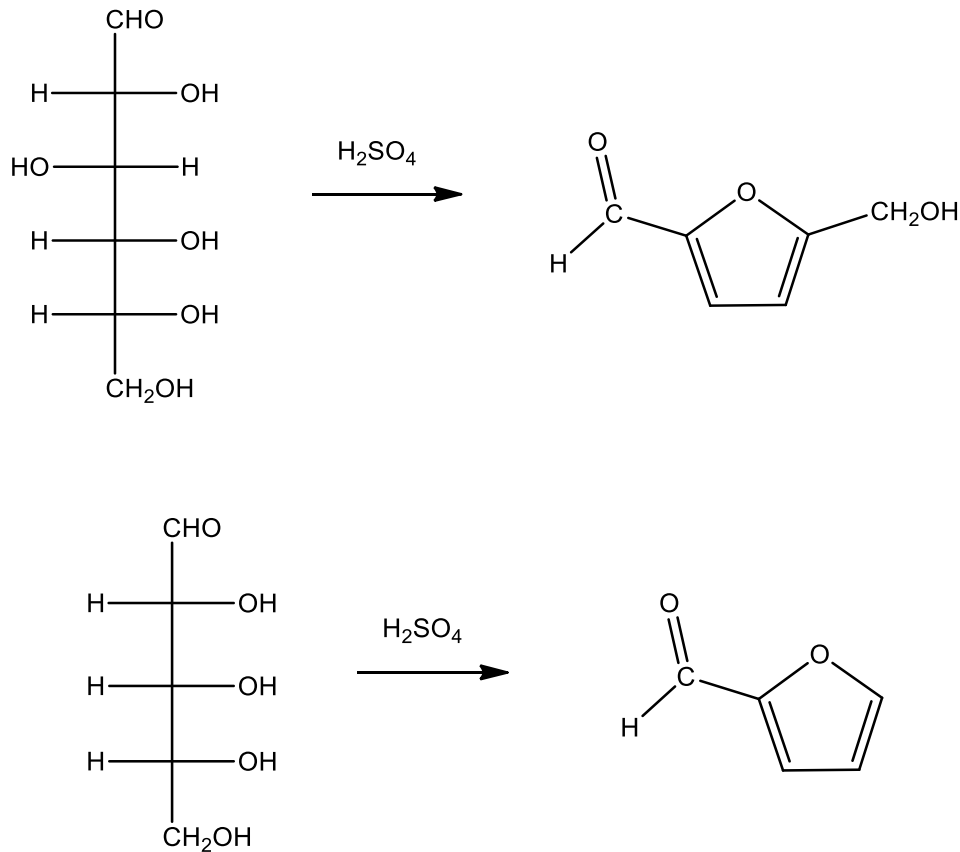


Abb. 8: Entstehung von 5-Hydroxymethylfurfural (oben) bzw. Furfural (unten)

In einem weiteren Schritt führt die Reaktion mit  $\alpha$ -Naphthol zu einem Farbstoff, in Abb. 9 am Beispiel von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) dargestellt, bei dem es sich in Anlehnung an [49] um 4-((5-((4-hydroxynaphthalen-1-yl)methyl)furan-2-yl)methylene)naphthalen-1(4H)-on handelt. Abschließend geklärt sind die ablaufenden Reaktionen jedoch noch nicht.



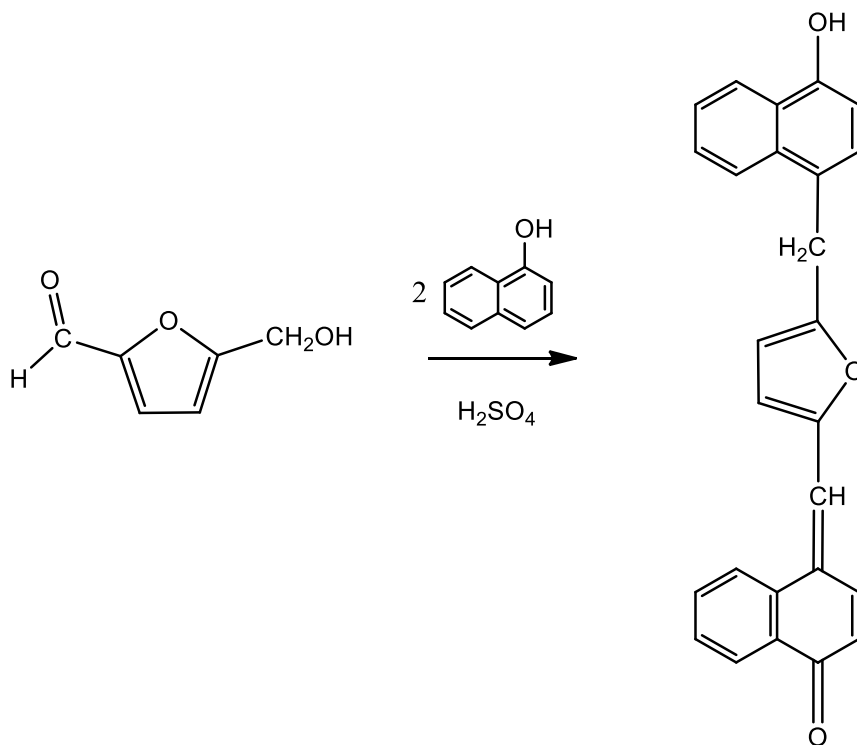


Abb. 9: HMF und  $\alpha$ -Naphthol reagieren zu einem violetten Farbstoff (nach Ohta et al.)

**Sicherheit:**  $\alpha$ -Naphthol ist ein Gefahrstoff mit den Kennzeichnungen „giftig, ätzend, umweltschädigend“ [51], der zum Zeitpunkt der Abfrage (Februar 2021) in DeGINTU nach besonderer Ersatzstoffprüfung zwar noch in der Schule eingesetzt werden darf; es ist aber damit zu rechnen, dass derartige Stoffe in naher Zukunft in der Schule nicht mehr zulässig sind. Auch aus heutiger Sicht sollte  $\alpha$ -Naphthol Schülerinnen und Schülern nur als verdünnte Fertiglösung gereicht werden<sup>3</sup> oder durch einen Ersatzstoff (s. u.) substituiert werden. Das von Molisch zusätzlich verwendete Thymol [47] führt zwar auch zur Bildung von roten Farbstoffen, diese ermöglichen aber nicht so gute farbliche Unterscheidungen wie das zuerst verwendete  $\alpha$ -Naphthol.

Das von Ohta et al. verwendete 2-Methyl-1-naphthol wurde offensichtlich eingesetzt, um für die analytischen Untersuchungen die Zahl der möglichen Zwischenprodukte zu verkleinern und eignet sich nur in geringem Maße als Ersatzstoff, da es

- sehr teuer ist (1 g kostete am 8.11.2020 bei Merck 246 Euro),
- in Anwesenheit von Luft instabil ist und nur unter Sauerstoffabschluss aufbewahrt werden kann [49].

<sup>3</sup> Laut GisChem-Gemischrechner ([www.gischem.de](http://www.gischem.de)) besteht die Gefährdung dann nur noch in der Brennbarkeit des Ethanol und der ätzenden Wirkung des  $\alpha$ -Naphthols.

Bei einer unterrichtsbezogenen Weiterentwicklung der Molisch-Probe an der Europa-Universität Flensburg wurde der Naturstoff Carvacrol erfolgreich als Ersatzstoff für  $\alpha$ -Naphthol getestet [52]. Für diesen Nachweis werden zwei Tropfen einer Zuckerlösung (z.B. Arabinose  $\omega=5\%$ , Rhamnose  $\omega=1\%$ , Glucose  $\omega=5\%$ ) mit 5 Tropfen einer 0,5%igen ethanolischen Carvacrol-Lösung sowie 10 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure versetzt. Nach 10 Minuten werden 10 Tropfen demin. Wasser hinzugefügt. In Abb. 10 sind die zu beobachtenden, charakteristischen Färbungen dargestellt: Pentosen bilden eine grün-bläuliche Färbung, Desoxyzucker eine dunkelorange und Hexosen eine pinke Färbung. Diese sind allerdings nicht stabil und entfärben sich mit der Zeit.

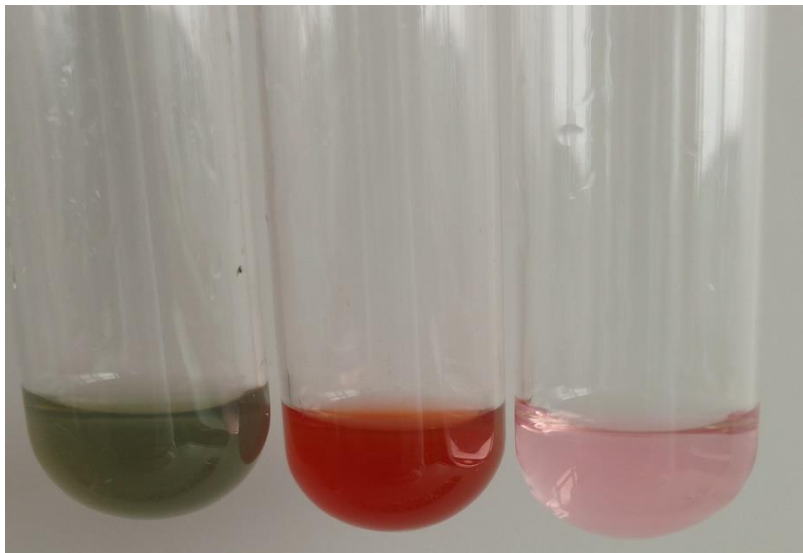


Foto: Rautenstrauch

Abb. 10: Nachweis von Pentose (Arabinose, links, grün), Desoxyzucker (Rhamnose, Mitte, rot-orange) und Hexose (Glucose, rechts, pink) durch eine verbesserte Molisch-Probe mit Carvacrol

Sind photometrische Vermessungen im Unterricht geplant, sollte die Zugabe von Wasser weggelassen werden. Der Versuch wird dann folgendermaßen durchgeführt.

In einem Reagenzglas wird ein Tropfen einer Zuckerlösung (Arabinose  $\omega=0,1\%$ , Rhamnose  $\omega=0,1\%$ , Glucose  $\omega=1\%$ ) mit 5 Tropfen einer ethanolischen Carvacrol-Lösung ( $\omega=0,5\%$ ) versetzt. Anschließend wird 1 ml konzentrierte Schwefelsäure hinzu pipettiert.

Die sich dann bildenden Farbstoffe sind optisch nicht so gut voneinander unterscheidbar (Abb. 11), aber sie sind stabil und können gut vermessen werden. Für Pentosen ergibt sich ein Absorptionsmaximum bei  $A_{\max}=487$  nm, für Desoxyzucker bei  $A_{\max}=497$  nm und für Hexosen bei 505 nm.

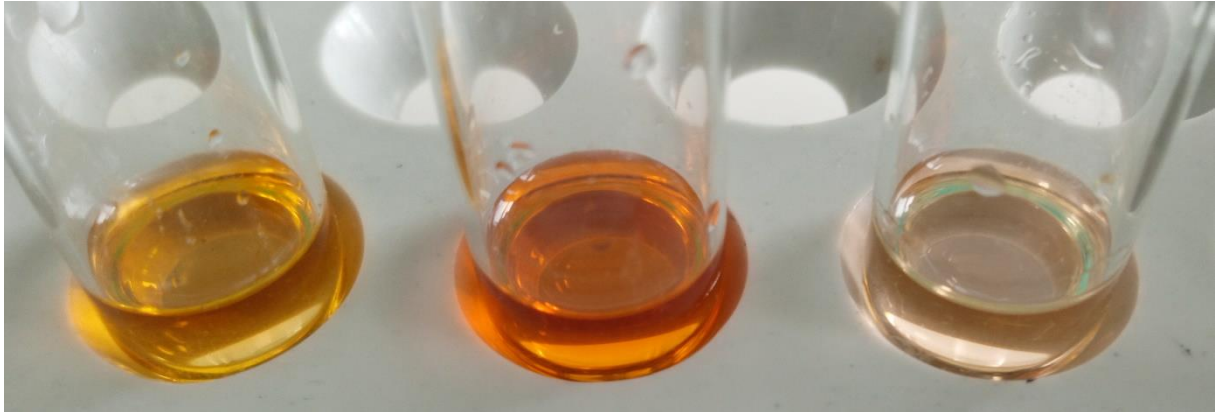


Abb. 11: Arabinose, Rhamnose und Glucose (v.l.) mit ethanolischer Carvacrol-Lösung und Schwefelsäure (Foto: Rautenstrauch)

## 2.6 Nachweis von Aldehyden mit Schiffischem Reagenz

Schiffisches Reagenz ist eigentlich ein Nachweis für Aldehyde<sup>4</sup>, z. B. Formaldehyd [53]. Mit Glucose ergibt sich bei Raumtemperatur keine Färbung, wohl aber beim Erhitzen. Beim Abkühlen ist die Reaktion reversibel.

**Vorgehensweise:** In etwa 2 mL einer Glucoselösung und etwa 2 mL einer Aldehydlösung werden je 2 mL Schiffisches Reagenz gegeben. Die Glucoselösung bleibt farblos, die Aldehydlösung wird rot.

Die (umstrittene) Begründung lautet: Glucose liegt bei Raumtemperatur in wässriger Lösung überwiegend in der Ringform vor, in der Hitze öffnet sich der Ring und gibt die Aldehydfunktion frei, die gemäß Wenck [54] sogleich sulfoniert<sup>5</sup> werden soll und wodurch aus der farblosen „Fuchsinschwefligsäure“ das farbige Fuchsin entsteht. In der folgenden Darstellung (Abb. 8) wird zur Vereinfachung die Reaktion von überschüssigem Hydrogensulfit zu N-Sulfinsäuregruppen weggelassen, da sie zum Verständnis der Farbreaktion nicht beiträgt.

---

<sup>4</sup> Im Gegensatz hierzu ist die Fehling-Probe ursprünglich ein Nachweis für reduzierende Kohlenhydrate und wurde zu einem allgemeinen Aldehyd-Nachweis erweitert.

<sup>5</sup> Hierbei handelt es sich nicht um eine Sulfonierungsreaktion im eigentlichen Sinne, sondern um ein Hydrogensulfitaddukt des Aldehyds; es entsteht eine  $\alpha$ -Hydroxysulfonsäure.

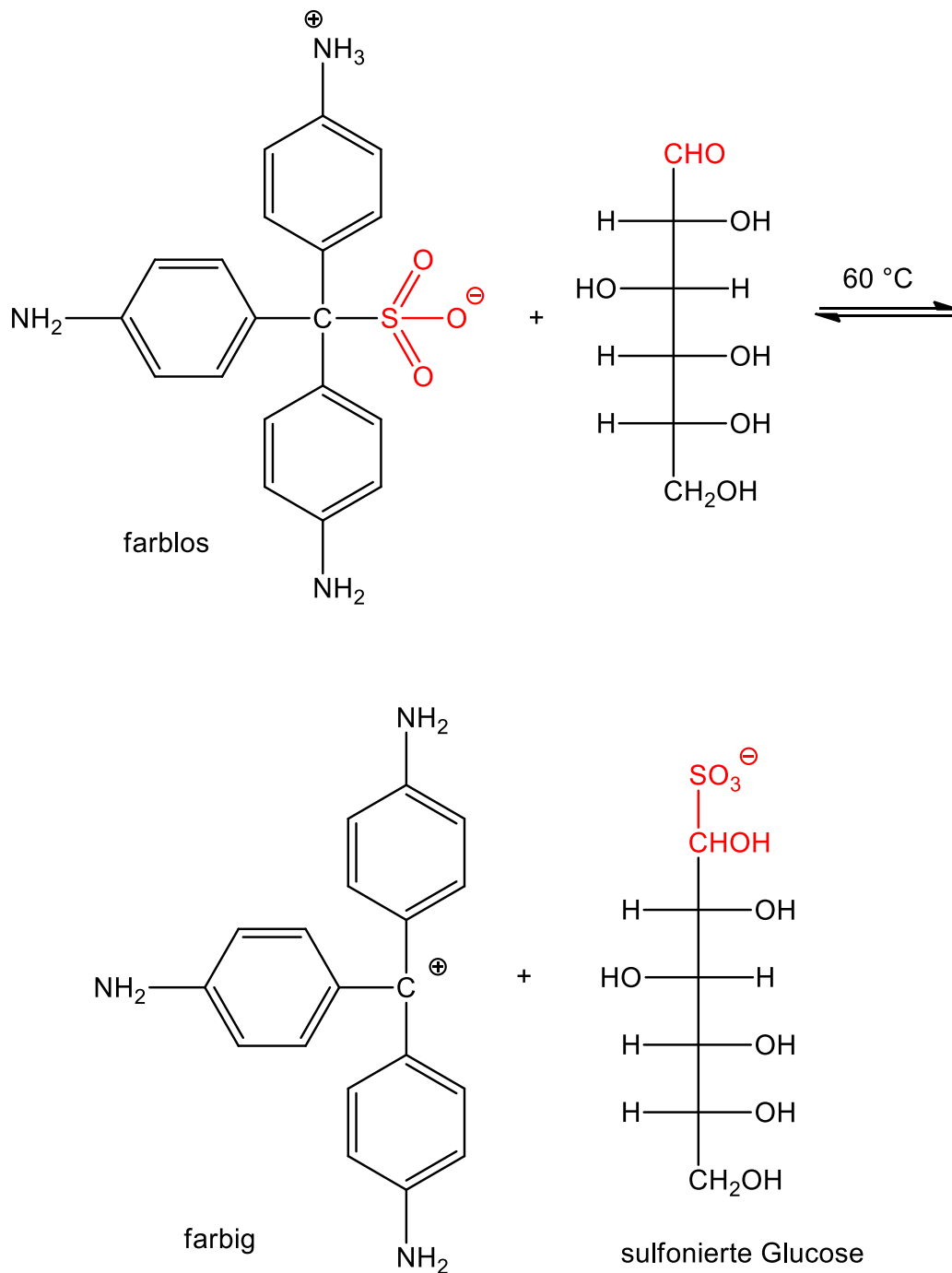


Abb. 12: Umstrittene Reaktion von Fuchsin-schwefeligsäure und Glucose (vereinfacht)

Aus fachlicher Sicht muss an dieser Stelle gesagt werden, dass der Ring der Glucopyranose in der Hitze zu einem größeren Anteil geöffnet als in kalter Lösung, aber auch ein kleinerer Anteil ermöglicht Reaktionen an der Aldehydfunktion der offenkettigen Form: Das in kleiner Menge entstehende Reaktionsprodukt würde dann aus dem Gleichgewicht entfernt; die restlichen Moleküle stellen sich wieder auf den Gleichgewichtszustand ein. Auf diese Weise ist trotz

eines geringeren Anteils der offenkettigen Form eine kontinuierliche Reaktion der Aldehydfunktion möglich.

Dies ist nicht der einzige Grund dafür, dass die „Schiff-Reaktion“ als Nachweis für Glucose u. a. umstritten ist: Die Schiffsche Probe verläuft **auch ohne Glucose** beim Erhitzen „positiv“ – d. h. auch ohne reduzierenden Zucker in der Probe färbt sich das Schiff-Reagenz beim Erhitzen rot. Dies bedeutet, dass das temperaturabhängige Gleichgewicht zwischen der offenkettigen Form und der Ringform der Glucose mit der Schiffschen Probe **nicht aussagekräftig** gezeigt werden kann [55].

Allein die Herstellung von Schiffschem Reagenz, leicht verändert nach einem Vortrag anlässlich der MNU-Fortbildungstagung in Bremerhaven 2013 [56], verdeutlicht den schwierigen Umgang, der eine schulische Verwendung abermals mit großen Fragezeichen versetzt:

„1 g Diamantfuchsin wird in 100 ml Ethanol gelöst und filtriert. 10 ml Filtrat werden mit 90 ml Wasser in einem 200 ml-Erlenmeyerkolben verdünnt, dann werden 2 g Natriumsulfit oder Natriumdisulfit und 10 Tropfen konzentrierter Salz- oder Schwefelsäure zugegeben. Der Erlenmeyerkolben wird mit einem Stopfen verschlossen. Idealerweise müsste nun eine farblose Lösung entstehen, in der Praxis erhält man jedoch eine mehr oder weniger intensiv braun gefärbte Lösung. Die Braunfärbung wird durch Acridin-Verunreinigungen, welche im Farbstoff enthalten sind, hervorgerufen. Aus diesem Grunde wird die Lösung, nachdem die rotviolette Färbung verschwunden ist und die Lösung mehr oder weniger intensiv braun gefärbt ist, mit einem Spatel-Löffel gepulverter Aktivkohle versetzt, kräftig durchgeschüttelt und anschließend filtriert. (...) Schiffs-Reagenz sollte in farblosen Enghalsflaschen mit dichtschießendem Schraubverschluss aufbewahrt werden. Die Flaschen werden zum Schutz gegen Licht in Aluminium-Folie eingehüllt. Die Lösung ist in kleinen Flaschen, die möglichst vollständig gefüllt sein sollen, aufzubewahren. Schiffs-Reagenz ist gegenüber Sauerstoff empfindlich, deshalb sollten die Flaschen so wenig wie möglich geöffnet werden. Tritt eine violette Färbung ein, ist eine Regeneration mit Sulfit und Säure möglich. Es empfiehlt sich, die Lösung fertig zu kaufen, da die Ausgangssubstanz heute als KMR-Stoff eingestuft ist.“ [56]

**Sicherheit:** Gemäß den obigen Ausführungen ist von einer Anwendung der Schiffschen Probe abzuraten. Aufwand, Risiko und Ergebnis stehen in keinem sinnvollen Verhältnis. Als Ersatz für

ein Vorführ-Experiment mit Schiffschem Reagenz, wenn man es nach dem bisher Gesagten überhaupt noch präsentieren möchte, bietet sich eine Videoaufzeichnung an (z. B. [57]).

**Ersatzstoffprüfung:** Bertsche schlägt ein Verfahren vor, bei dem anstelle von Schiffschem Reagenz das aus der Füllfederpatrone bekannte Königsblau verwendet wird [58]. Dieses Verfahren genauer zu untersuchen würde jedoch den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Dennoch muss auch hier gesagt werden, dass gemäß § 7.3 Gefahrstoffverordnung das weniger gefährdende Verfahren anzuwenden ist [30].

## 2.7 Nachweis von Fructose nach Seliwanoff

Die Seliwanoff-Probe<sup>6</sup> mit (Ethyl-) Resorcin und Salzsäure auf Fructose ist ein Nachweis für Ketosen, der einfach durchführbar und schön anzusehen ist [59,60]. Auch mit Saccharose und Lactulose ergibt sich rote Färbung [61], da beide Disaccharide einen Fructose-Anteil besitzen: Saccharose ist  $\alpha$ -D-Glucopyranosyl-(1-2)- $\beta$ -D-fructofuranose, Lactulose ist  $\beta$ -D-Galactopyranosyl-(1,4)-D-Fructofuranose.

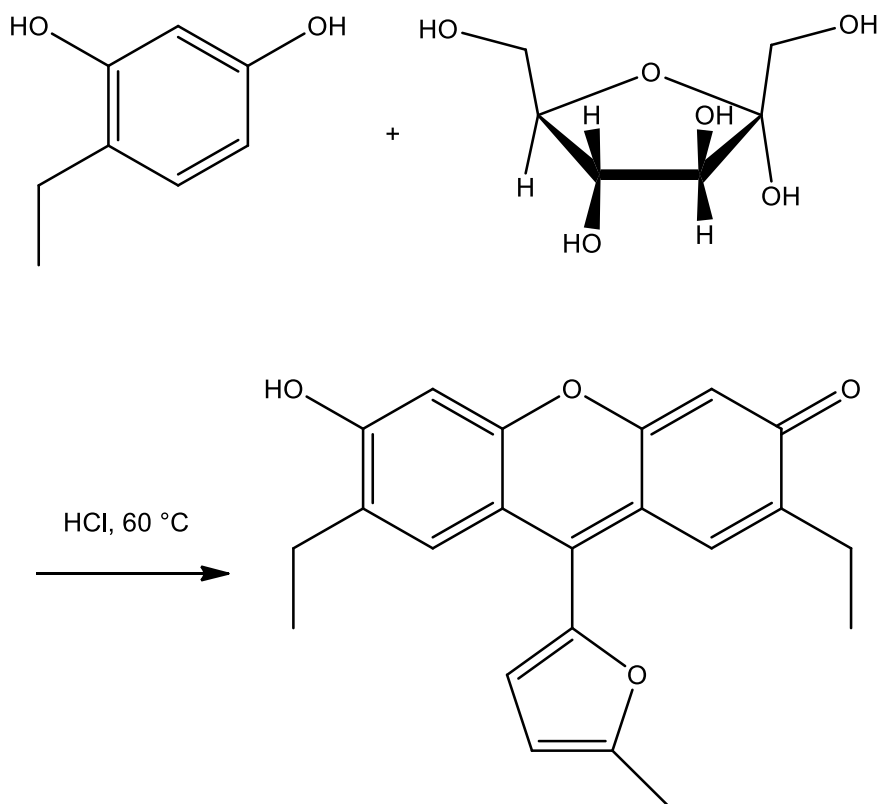


Abb. 13: Reaktion von Ethylresorcin mit Fructose (nach Shuklov/Boeck 2015)

<sup>6</sup> Schreibweise auch Selivanov u.a., da der 3. Buchstabe des kyrillischen Alphabets „В“ mit ff, v oder w transkribiert werden kann, Originalschreibweise: Селиванов

**Vorgehensweise:** Zur Durchführung der Seliwanoff-Probe werden in einem Reagenzglas ca. 2 mL ethanolische (Ethyl-) Resorcinlösung ( $\omega=1\%$ ) mit 3 mL Salzsäure ( $\omega=37\%$ ) vermischt, mit einer Spatelspitze eines zu prüfenden Zuckers versetzt und vorsichtig erhitzt. Mit Fructose, Saccharose und Lactulose ergibt sich eine lebhafte Rotfärbung, während mit Glucose keine Färbung entsteht. Die Reaktionsgleichung ist am Beispiel von Fructose in Abb. 13 dargestellt.

**Sicherheit:** Vor Anwendung ist eine Sicherheitsbelehrung durchzuführen. Reste sind im Abfallbehälter für Aromaten zu entsorgen.

## 2.8 Tollens-Probe auf reduzierende Zucker (Silberspiegelprobe)

Die Tollens-Probe mit Silbernitrat und Ammoniak auf Aldehyde ist eine sehr aussagekräftige und ästhetische Reaktion, an deren Ende bei geschickter und sauberer Arbeitsweise ein von innen verspiegeltes Reagenzglas entsteht [62].

**Vorgehensweise:** 2 mL Silbernitrat- Lösung ( $\omega=1\%$ ) werden in einem unbenutzten Reagenzglas mit einem Tropfen Natronlauge ( $c = 1 \text{ mol/L}$ ) versetzt, es fällt schwarzes Silberoxid aus. Unter Umschütteln ist tropfenweise Ammoniak-Lösung ( $\omega=10\%$ ) zuzugeben, bis die Lösung gerade klar und farblos geworden ist. In diese Lösung wird eine Spatelspitze Glucose gegeben. Anschließend wird der Ansatz in ein warmes Wasserbad gestellt (siehe z. B. [63]).

Die Reaktionsgleichung mit einem Aldehyd ist der Abbildung unten dargestellt. Ob dies bei reduzierenden Zuckern ebenfalls in dieser Weise zutrifft oder wie bei der Fehling-Probe einer Berichtigung bedarf, ist derzeit umstritten [24].

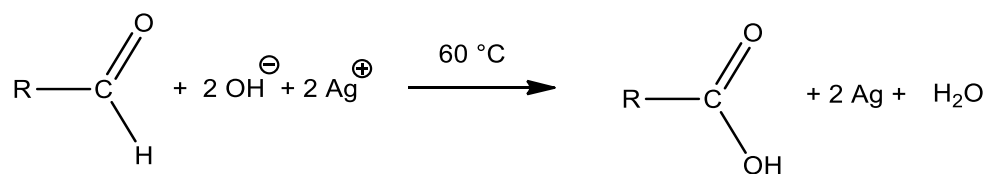


Abb. 14: Reduktion von Silberionen durch einen Aldehyd

Die Tollens-Probe ist ebenso wie die Fehling-Probe nicht in der Lage, Glucose von Lactose zu unterscheiden.

Wegen der stark gestiegenen Silberpreise kosten 50 g Silbernitrat derzeit ca. 95 Euro (Stand 02/2021), eine Neubeschaffung könnte daher evtl. nicht mehr in dem von der Schule vorgesehenen Rahmen liegen.

**Sicherheit:** Vor Anwendung sind eine Ersatzstoffprüfung und eine Sicherheitsbelehrung durchzuführen, insbesondere ist auf die Vermeidung von Abfällen hinzuweisen, welche bei unrichtiger Lagerung zu explosivem Knallsilber weiterreagieren können. Silberabfälle dürfen ebenso wie Goldabfälle im Gegensatz zu Schwermetallabfällen *nicht alkalisch* gelagert werden, sondern müssen *in einem separaten Behälter sauer gelagert* werden [64]. Es empfiehlt sich, nur die benötigten Mengen vorzubereiten und eventuelle Reste nicht aufzubewahren, sondern zu verbrauchen.

### 2.9 Wöhlk-Probe auf Lactose und Maltose

Die Wöhlk-Probe unterscheidet 1,4-verknüpfte Disaccharide (rot), reduzierende Monosaccharide (gelb) und nicht-reduzierende Zucker (farblos) [65]. Wegen der durch Malfatti 1905 erfolgten Verbesserung wird sie auch Wöhlk-Malfatti-Probe genannt [18]. Zur Vereinfachung wird im Folgenden lediglich der Terminus Wöhlk-Probe verwendet.

**Vorgehensweise:** Zu jeweils 2 mL einer Zuckerlösung ( $\omega=1\%$ ) werden jeweils 2 mL Ammoniaklösung ( $\omega = 10\%$ ) und Kalilauge ( $c = 1 \text{ mol/L}$ ) gegeben und anschließend im 65 °C heißen Wasserbad für bis zu 30 Minuten erhitzt, bis sich aussagekräftige Farben entwickelt haben.

Eine vereinfachte Reaktionsgleichung ist in Abb. 15 dargestellt<sup>7</sup>.

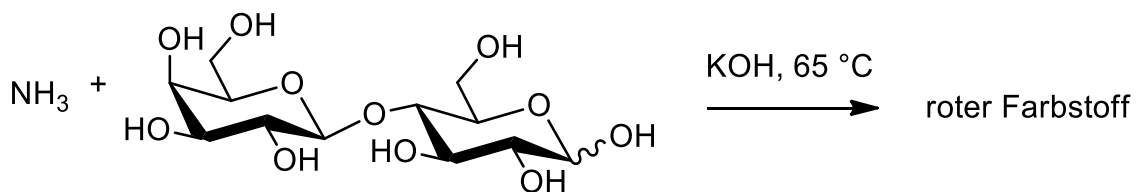


Abb. 15: Vereinfachte Reaktionsgleichung zur Wöhlk-Reaktion mit Lactose

<sup>7</sup> Die wellenförmige Bindung, im englischen Sprachgebrauch als „wavy bond“ bezeichnet, soll darauf hindeuten, dass an dieser Stelle durch ständige Ringöffnungen und -schließungen zwei verschiedene räumliche Richtungen der OH-Gruppe sowie eine Aldehydgruppe möglich sind (Mutarotation).



Die Besonderheit der Wöhlk-Probe besteht darin, dass sie im Unterschied zu Tests mit Kupferionen reduzierende Disaccharide von reduzierenden Monosacchariden und von nicht-reduzierenden Zuckern unterscheiden kann (siehe Tab. 2).

Tabelle 2: Farbergebnisse bei Nachweisen nach Wöhlk und Fehling		
Zucker	Wöhlk-Probe*	Fehling-Probe**
Reduzierende Monosaccharide, z.B. Glucose, Galactose	gelb	rot
Reduzierende Disaccharide, z. B. Lactose, Maltose	rot	rot
Nicht-reduzierende Zucker, z. B. Saccharose	farblos	blau

\* Gleiche Farbergebnisse beim Fearon-Test und beim Diaminohexan-Verfahren, siehe Kap. 4

\*\* Gleiche Farbergebnisse beim Benedict-Test und anderen Verfahren mit Kupfer(II)-Ionen

**Sicherheit:** Wegen des Ausgasens von Ammoniak sind die Experimente im Abzug oder bei guter Querlüftung durchzuführen. Vor der Anwendung sind eine Ersatzstoffprüfung und eine Sicherheitsbelehrung durchzuführen.

Leider benötigt die klassische Wöhlk-Probe einen Zeiteinsatz von allein 25-30 Minuten für die Entwicklung aussagekräftiger Farben, was mit dem allgemeinen 45-Minuten-Zeitraster in Schulen schwer zu vereinbaren ist. Folgende Abwandlungen der Wöhlk-Probe benötigen wesentlich weniger Zeit:

- Fearon's Test: ca. 10 Minuten [66]
- 1,6-Diaminohexan-Verfahren: 60 Sekunden [67]

Favorisiert wird das 2019 neu entwickelte 1,6-Diaminohexan-Verfahren: Für vier 100 mL-Bechergläser (oder Kristallisierschalen) in der Inverter-Mikrowelle<sup>8</sup>, Einstellung 400 Watt, Zeit: 60 Sekunden, benötigt man je 5 mL Diaminohexan-Fertiglösung (siehe Kasten) und 5 mL Milchprodukt oder Zuckerlösung ( $\omega = 5\%$  bis  $0,1\%$ ) [68].

<sup>8</sup> Inverter-Mikrowellen ermöglichen eine kontinuierliche Abgabe einer geringeren Energie, z. B. 400 Watt. Herkömmliche Mikrowellen senden z. B. 30 sec. mit voller Leistung (800 W) und pausieren dann 30 sec (0 W). Beim Senden mit voller Leistung kann es zu Siedeverzügen kommen, daher bitte vorher mit mehr Flüssigkeit ausprobieren und stufenweise reduzieren. Weiterhin ist ein Drehteller empfehlenswert.



Abb. 16: 1,6-Diaminohexan-Verfahren (v.l.n.r. Vollmilch, lactosefreie Sahne, Lactose, Glucose) nach 60 Sekunden bei 400 W in der Mikrowelle (Foto: Rautenstrauch)

### Herstellung einer 1,6-Diaminohexan-Fertiglösung für den Chemieunterricht

Unter dem Abzug wird die Vorratsflasche mit dem üblicherweise verklumpten 1,6-Diaminohexan für ca. 1/2 Stunde in ein genügend großes Becherglas mit ca. 60 °C heißem Wasser gestellt, ähnlich wie man es auch bei auskristallisiertem Honig durchführt. Dabei wird ein Teil des Feststoffes flüssig.

Mit einer Plastikspritze oder Einmalpipette zieht man ca. 2 mL der noch warmen Flüssigkeit auf und gibt sofort 1,46 g in eine austarierte 500 mL-Braunglasflasche (Schraubdeckelverschluss), die nebenan auf einer Laborwaage steht.

Anschließend gibt man 500 mL Natronlauge ( $c = 0,1 \text{ mol/L}$ ) hinzu, verschließt die Flasche mit dem Schraubdeckel und vermischt vorsichtig und gründlich.

Die Lösung ist ca. ein halbes Jahr haltbar; der Verfall kündigt sich durch Ausflockungen an. Das Etikett ist mit dem Piktogramm GHS05 (metallkorrosiv), H290, dem Signalwort „Achtung“ und dem Herstellungsdatum zu versehen.



Gefäße mit 1,6-Diaminohexan, stark verklumpt



Gefäße für 30 min im warmen Wasserbad



Austariertes Gefäß auf der Laborwaage

Fotos: Ruppertsberg

Abbildung 17: Zubereitung einer Fertiglösung von 1,6-Diaminohexan (DAH)

### 3 Fazit und Ausblick

Von den sechs häufigsten, in aktuellen Schulbüchern aufgeführten Kohlenhydratnachweisen ist lediglich die Seliwanoff-Probe auf Fructose und deren Derivate Saccharose und Lactulose ohne Einschränkungen zu empfehlen.

Die Fehling-Probe mit ihren weiteren verwandten Methoden, die auf Kupfer(II)-Ionen basieren, ist überrepräsentiert, besitzt nur eine eingeschränkte Aussagekraft, wird häufig nicht optimal durchgeführt (Siedeverzug beim Erhitzen über dem Brenner) und falsch erklärt (Gluconsäure vs. Glucoson als Oxidationsprodukt). Als geeignetste Kupfer(II)-Ionen basierte Methode ist aufgrund von Sicherheitsaspekten (geringere Gefährdungseinstufung) der hierzulande relativ unbekanntere Benedict-Test zu empfehlen.

Der GOD-Test sollte als wichtige Diabetes-Früherkennung in jeder Schulklasse vorgestellt werden und hat eine herausragende Rolle als substratspezifischer enzymatischer Test, jedoch ist der zugrundeliegende komplizierte Sachverhalt nicht für jede Lerngruppe geeignet. Eine rein phänomenologische Auswertung kann jedoch auch in Mittelstufenklassen schon durchgeführt werden.

Die Schiffsche Probe ist ursprünglich ein Aldehyd-Nachweis und sollte es auch bleiben. Als Kohlenhydrat-Nachweis besitzt sie eine zu geringe Aussagekraft und ist daher umstritten.

Die Tollens-Probe, auch Silberspiegel-Probe, ist ein sehr ästhetischer Nachweis, der allerdings auch nur eine geringe Aussagekraft besitzt und wegen der Möglichkeit der Knallsilber-Entstehung ein gut funktionierendes Chemikalien-Management benötigt.

Mehr Beachtung finden sollten die verbesserte Molisch-Probe mit Carvacrol zur Differenzierung von Pentosen und Desoxyzuckern gegenüber Glucose sowie die Wöhlk-Probe, der Fearon-Test und das 1,6-Diaminohexanverfahren zum Nachweis von reduzierenden Disacchariden.

Die Iod-Probe (Stärke) und die Chlorzinkiod-Methode (Cellulose) sollten mit verminderten Iod-Konzentrationen verwendet werden. Der Gefahrstoff Zinkchlorid sollte durch Calciumchlorid substituiert werden.

## Die Autoren



[hanne.rautenstrauch@uni-flensburg.de](mailto:hanne.rautenstrauch@uni-flensburg.de)

Dr. Hanne Rautenstrauch, Jahrgang 1990, studierte die Fächer Biologie und Chemie an der Europa-Universität Flensburg. 2013 hat sie ihr Studium mit dem Master of Education für das Lehramt an Realschulen abgeschlossen. Seitdem ist sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Maike Busker tätig und promovierte dort im Jahr 2017. Ihre Forschungsinteressen liegen im Bereich des forschenden experimentellen Lernens, digitalen Medien und des fachfremden Unterrichts.



[klaus.ruppertsberg@uni-flensburg.de](mailto:klaus.ruppertsberg@uni-flensburg.de)

Dr. Klaus Ruppertsberg, Jahrgang 1959, studierte die Fächer Chemie und Biologie für die Lehrämter S II/I an der Universität Köln und schloss 1986 mit dem Ersten Staatsexamen ab. Nach einer Tätigkeit als Produktmanager in der Chemischen Industrie kehrte er in den Lehrerberuf zurück und beendete 1992 sein Referendariat in Hessen. Nach 24 Berufsjahren in verschiedenen Schulformen wurde er 2014 an das IPN Kiel, Abt. Prof. Dr. Dr. h. c. Ilka Parchmann abgeordnet. Seit 2020 ist er wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. Maike Busker, EUF Flensburg, wo er 2021 promovierte [68].



[wolfgang\\_proske@web.de](mailto:wolfgang_proske@web.de)

Wolfgang Proske, Jahrgang 1955, hat als MTLA in medizinischen Routine- und Forschungslaboratorien gearbeitet und 1996 sein Studium der angewandten Chemie als Dipl.-Ing. (FH) abgeschlossen. Er betreibt das Ingenieurbüro Schulchemiezentrum in Zahna-Elster und ist vielen Leserinnen und Lesern als freier Autor in den Bereichen experimenteller Chemieunterricht, Begabtenförderung und Lehrerfortbildung bekannt.

#### Literatur

- [1] Hellwig, M., Henle, T. (2014). Backen, Altern, Diabetes. Eine kurze Geschichte der Maillard-Reaktion. *Angew. Chem.* **126/39**, 10482–10496.
- [2] Belitz, H.-D., Grosch, W., Schieberle, P. (2008). *Lehrbuch der Lebensmittelchemie*, 6. Aufl.
- [3] KMK (Hrsg.) (2020). *Bildungsstandards im Fach Chemie für die Allgemeine Hochschulreife*. Wolters Kluwer, Bonn und Berlin.
- [4] KMK (Hrsg.) (2004). *Bildungsstandards im Fach Biologie für den Mittleren Schulabschluss*. Wolters Kluwer, München.
- [5] Baack, K., Becker, A. C., Eckebrecht, D. (2016). *Natura Oberstufe. Biologie für Gymnasien*, 1. Aufl. Ernst Klett Verlag, Stuttgart, Leipzig.
- [6] van Nek, R. et al. (Hrsg.) (2018). *Chemie heute. Sekundarstufe II Gesamtband*. Westermann, Braunschweig.
- [7] *Fachanforderungen Chemie, Allgemein bildende Schulen Sekundarstufe I, Sekundarstufe II* (letzter Zugriff am 22.4.2020).
- [8] *Lehrplan für die Sekundarstufe I der weiterführenden allgemeinbildenden Schulen Hauptschule, Realschule, Gymnasium Chemie* (letzter Zugriff am 22.4.2020).
- [9] Demuth, R., Parchmann, I., Ralle, B. (Hrsg.) (2009). *Chemie im Kontext - Sekundarstufe II. Kontexte, Medien, Basiskonzepte*, 1. Aufl. Cornelsen, Berlin.
- [10] Eisner, W. (2011). *Elemente Chemie 2*, 1. Aufl. Klett, Stuttgart, Leipzig.
- [11] Arnold, K. e. a. (2011). *Chemie Oberstufe. Gesamtband*, 1. Aufl. Cornelsen, Berlin.

- [12] Altmayer, W. e. a. (Hrsg.) (2012). *Salter's Chemie - Chemical ideas. Theoretische Grundlagen*. Schroedel, Braunschweig.
- [13] Asselborn, W. (Hrsg.) (2013). *Chemie heute*. Schroedel, Braunschweig.
- [14] Bohrmann-Linde, C., Kröger, S., Krollmann, P., Tausch, M., Wachtendonk, M. v., Wambach-Laicher, J., Krees, S. (2014). *Chemie 2000+ NRW Sek II/Chemie 2000+ Qualifikationsphase*. CC Buchners Verlag, Bamberg.
- [15] Fishedick, A., Fleischer, H., Hofheinz, V., Kohl-Krug, S., Lehmann-Eser, F., Lüttgens, U., Malz, R., May, T., Peters, J., Rehbein, M., Spier, C., Stein, M. A., Vettters, R. (2018). *Fokus Chemie. Sekundarstufe II, Gesamtband, 1. Aufl.* Cornelsen Verlag, Berlin.
- [16] Bee, U. e. a. (2019). *Elemente Chemie Oberstufe. Schülerbuch Klassen 11-13 (G9), 10-12 (G8)*. Klett, Stuttgart.
- [17] Dornblüth, O. (1899). *Kompendium der Inneren Medizin*. Verlag von Veit Comp., Leipzig.
- [18] Malfatti, H. (1905). Über den Nachweis von Milchzucker im Harne. *Centralblatt für die Krankheiten der Harn- und Sexualorgane*, 68–71.
- [19] Teichmann, W. (1980). *Untersuchungen von Harn und Konkrementen, 2. Aufl.* Volk und Gesundheit, Berlin.
- [20] Ahrens, G. (1966). *Die Urinanalyse*. Joh. Ambrosius Barth, Leipzig.
- [21] Brock, T. H. (1997). *Sicherheit und Gesundheitsschutz im Laboratorium. Die Anwendung der Richtlinien für Laboratorien*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, s.l.
- [22] Aebi, H. (1965). *Einführung in die praktische Biochemie für Studierende der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie und Biologie*. Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt a. M.
- [23] Munding, E. (2013). *ABC des Molkereilaboratoriums. Anleitung zur Durchführung der gebräuchlichsten Untersuchungsverfahren für Milch und Milcherzeugnisse, 2. Aufl.* Springer, Berlin.
- [24] Fleischer, H. (2017). Fehlinterpretation der Fehling-Probe auf reduzierende Zucker - Von der Beobachtung im Chemieunterricht zur Evidenz gegen die Oxidation der Aldehydgruppe. *CHEMKON* **24/1**, 27–30.
- [25] Kanzler, C. (2017). *Furane, Furanone und Pyranone – ihr Beitrag zur Farbe und den antioxidativen Eigenschaften in der Maillard-Reaktion der Maltose*. Dissertation. Berlin.
- [26] O'Brien, J. (1997). Reaction chemistry of lactose: nonenzymatic degradation pathways and their significance in dairy products. In: *Advanced Dairy Chemistry Volume 3. Lactose, water, salts and vitamins*. Fox, P. F. (Hrsg.). Springer, Boston, MA, 155–231.
- [27] Barfoed, C. (1873). Ueber die Nachweisung des Traubenzuckers neben Dextrin und verwandten Körpern. *Fresenius, Zeitschrift f. anal. Chemie* **12/1**, 27–32.
- [28] Ahluwalia, V. K., Dhingra, S. (2000). *Comprehensive practical organic chemistry. Qualitative analysis*. Universities Press, Hyderabad (India).
- [29] Fehling, H. (1848). Quantitative Bestimmung des Zuckers im Harn. *Arch phys. Heilkunde* **7**, 64–73.
- [30] § 7 GefStoffV - Einzelnorm, 1.12.2010. [https://www.gesetze-im-internet.de/gefstoffv\\_2010/\\_\\_\\_7.html](https://www.gesetze-im-internet.de/gefstoffv_2010/___7.html) (letzter Zugriff am 9.10.2020).
- [31] Benedict, S. R. (1909). A reagent for the detection of reducing sugars. *J. Biol. Chem.* **5**, 485–487.

- [32] Ruppertsberg, K. (2016). Benedict statt Fehling: sicherer, einfacher, haltbarer! Naturwissenschaften im Unterricht: Chemie **27**/156, 49–50.
- [33] Häusler, K., Rampf, H. (1976). 270 [Zweihundertsiebzig] chemische Schulversuche. Mit Einf. in d. Laborpraxis, 1. Aufl. Oldenbourg; Cornelsen-Velhagen und Klasing, München, Berlin, Bielefeld.
- [34] Blume, R. (2019). Nachweis von Cellulose. <https://www.chemieunterricht.de/dc2/haus/v067.htm> (letzter Zugriff am 21.4.2020).
- [35] Ruppertsberg, K., Proske, W. (2019). Spülmaschinentabs - ein Alltagsprodukt im Unterricht. Chem. Unserer Zeit **53**, 180–186.
- [36] Nowopokrowsky, J. (1912). Über die Chlorzinkjod-Reaktion der Zellulose. Botanisches Centralblatt **28**/1, 90–93.
- [37] Deutscher Apotheker-Verein (1922). Reagentien zum Nachweis von Holzstoff in Papier. Vierteljahresschrift für praktische Pharmazie **19**/[https://publikationsserver.tu-braunschweig.de/receive/dbbs\\_mods\\_00066956](https://publikationsserver.tu-braunschweig.de/receive/dbbs_mods_00066956), 29–30.
- [38] Keilin, D., Hartree, E. F. (1952). Specificity of glucose oxidase (notatin). Biochemical Journal **50**/3, 331–341.
- [39] Bankar, S. B., Bule, M. V., Singhal, R. S., Ananthanarayan, L. (2009). Glucose oxidase--an overview. Biotechnology advances **27**/4, 489–501.
- [40] Ruppertsberg, K. (2016). Stärkeverdauung durch Speichel: Was kommt eigentlich dabei heraus? MNU Journal **201**/5, 325–328.
- [41] Schwedt, G. (2019). Faszinierende chemische Experimente. Für Entdecker, Gesundheitsbewusste und Genießer. Wiley-VCH, Weinheim.
- [42] Carl Roth GmbH + Co KG (2019). Sicherheitsdatenblatt: Jod-Kaliumjodidlösung nach Lugol. <https://www.carlroth.com/medias/FSDB-N052-DE-DE.pdf> (letzter Zugriff am 12.5.2020).
- [43] Richtlinie zur Sicherheit im Unterricht (RiSU) (letzter Zugriff am 26.8.2019).
- [44] Ruppertsberg, K. (2020). So viele Chemikalien in der Sammlung. Nachr. Chem. **68**/3, 16–20.
- [45] Madhu, S., Evans, H. A., Doan-Nguyen, V. V. T., Labram, J. G., Wu, G., Chabiny, M. L., Seshadri, R., Wudl, F. (2016). Infinite Polyiodide Chains in the Pyrroloperylene-Iodine Complex. Insights into the Starch-Iodine and Perylene-Iodine Complexes. Angew. Chem. Int. Ed. **55**/28, 8032–8035.
- [46] Groth, H., Knippenberg, A., Leiding, U. (Hrsg.) (2016). Biologie heute aktuell - Gesamtband. Ein Lehr- und Arbeitsbuch, S I, Rheinland-Pflaz. Schroedel, Braunschweig.
- [47] Molisch, H. (1886). Zwei neue Zuckerreactionen. Monatshefte für Chemie **7**/1, 198–209.
- [48] Bredereck, H. (1931). Zur Molisch-Reaktion. Ber. dtsh. Chem. Ges. A/B **64**/11, 2856–2859.
- [49] Ohta, M., Iwasaki, M., Kouno, K., Ueda, Y. (1985). Mechanism of the Molisch reaction. Chem. Pharm. Bull. **33**/7, 2862–2865.
- [50] RAL (2021). RAL Violettöne (RAL Classic) | RALfarbpalette.de. <https://www.ralpalette.de/ral-classic/violettone> (letzter Zugriff am 25.2.2021).
- [51] GESTIS-Stoffdatenbank (2020). 1-Naphthol. [http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis\\_de/000000.xml?f=templates&fn=default.htm&vid=gestisdeu:sdbdeu](http://gestis.itrust.de/nxt/gateway.dll/gestis_de/000000.xml?f=templates&fn=default.htm&vid=gestisdeu:sdbdeu) (letzter Zugriff am 17.9.2020).

- [52] Rautenstrauch, H., Gudenschwager, S., Rebenstorff, A., Ruppertsberg, K. (2021). Eine verbesserte Molischprobe. in Begutachtung.
- [53] Wieland, H., Scheuing, G. (1921). Die Fuchsinschweflige Säure und ihre Farbreaktion mit Aldehyden. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 10, 2527–2555.
- [54] Wenck, H., Brandl, H., Glöckner, W., Bader, H. J. (Hrsg.) (2013). Handbuch der experimentellen Chemie. Sekundarbereich II. Aulis-Verl., Köln.
- [55] Akademie für Lehrerfortbildung und Personalplanung (Hrsg.) (2020). Chemie - aber sicher! Experimente kennen und können. Akademiebericht 475, 5. Aufl. Dillingen an der Donau.
- [56] Proske, W., Walter, F. (2013). Reagenzglasversuche zur Chemie der Kohlenhydrate. Skript zum Vortrag auf der MNU-Tagung Bremerhaven 2013. Bremerhaven.
- [57] Haase, T. (2017). Schiffsche Probe. Jugend forscht.
- [58] Bertsche, I. (2017). Königsblau statt krebserregend. CHEMKON **24**/2, 73–76.
- [59] Seliwanoff, T. (1887). Notiz über eine Fruchtzuckerreaction, 181–182.
- [60] Shuklov, I. A., Boeck, G. (2015). Die Selivanov-Probe auf Fructose. Chemie in unserer Zeit **49**/2, 106–112.
- [61] Amine, A., Moscone, D., Palleschi, G. (2000). Rapid Determination of Lactulose in Milk Using Seliwanoff's Reaction. Analytical Letters **33**/1, 125–135.
- [62] Tollens, B. (1882). Ueber ammon-alkalische Silberlösung als Reagens auf Aldehyd. Ber. Dtsch. Chem. Ges. 15, 1635–1639.
- [63] Wollrab, A. (2014). Organische Chemie. Eine Einführung für Lehramts- und Nebenfachstudenten, 4. Aufl. Springer Spektrum, Berlin.
- [64] Wilke, T., Bodensiek, O., Ruppertsberg, K. (2018). Gold aus Elektronikschrott. Chem. Unserer Zeit **52**/5, 342–349.
- [65] Wöhlk, A. (1904). Über eine neue Reaktion auf Milchzucker (und Maltose). Fresenius J. Anal. Chem. **43**/11, 670 - 679.
- [66] Ruppertsberg, K., Herzog, S., Kussler, M. W., Parchmann, I. (2019). How to visualize the different lactose content of dairy products by Fearon's test and Woehlk test in classroom experiments and a new approach to the mechanisms and formulae of the mysterious red dyes. Chemistry Teacher International **0**/0, 1–11.
- [67] Ruppertsberg, K., Klemeyer, H. (2020). Lactose-Schnelltest: Wie kann man in 60 Sekunden Milchzucker nachweisen? CHEMKON **27**/4, 199–202.
- [68] Ruppertsberg, K. (2021), Nachweis von Lactose (und Maltose), Dissertation, EUF Flensburg, OpenAccess: <https://www.zhb-flensburg.de/?id=49587>