

Philipps-Universität Marburg

Fachbereich Chemie

Wintersemester 2005/2006

Seminar: Übungen im Experimentalvortrag

Leitung: Prof. Dr. M. Bröring, Prof. U. Koert,

Prof. Dr. B. Neumüller, Dr. P. Reiß



# Vitamine



Vorgetragen am 24.11.2005

Vorgelegt von:  
Christina Schmidt

# Inhaltsverzeichnis:

<b>1</b>	<b>Funktionen der Nahrung</b> .....	S. 03
<b>2</b>	<b>Was sind Vitamine?</b> .....	S. 04
<b>3</b>	<b>Einteilung der Vitamine</b> .....	S. 05
<b>4</b>	<b>Wasserlösliche Vitamine</b> .....	S. 06
	<b>4.1 Thiamin</b> .....	S. 06
	<b>Versuch 1:</b> Halbquantitativer Thiaminnachweis in Mehl .....	S. 08
	<b>4.2 Riboflavin</b> .....	S. 13
	<b>Versuch 2:</b> Reduktion und Reoxidation von Riboflavin.....	S. 14
	<b>4.3 L-Ascorbinsäure</b> .....	S. 18
	<b>Versuch 3:</b> L-Ascorbinsäure als Reduktionsmittel .....	S. 19
	<b>Versuch 4:</b> Quantitative L-Ascorbinsäure-Bestimmung .....	S. 23
<b>5</b>	<b>Fettlösliche Vitamine</b> .....	S. 28
	<b>5.1 Retinol</b> .....	S. 28
	<b>Versuch 5:</b> Qualitativer Vitamin A-Nachweis in Lebertran .....	S. 29
	<b>5.2 <math>\beta</math>-Carotin (Provitamin A)</b> .....	S. 33
	<b>Versuch 6:</b> $\beta$ -Carotin als Radikalfänger .....	S. 35
	<b>5.3 Tocopherole</b> .....	S. 38
<b>6</b>	<b>Literatur- &amp; Bildverzeichnis</b> .....	S. 39

# 1 Funktionen der Nahrung

Die Nahrung, die wir täglich zu uns nehmen, erfüllt im Körper im Wesentlichen drei Aufgaben. Die erste Aufgabe ist die Versorgung des Organismus mit Betriebsstoffen. Als Betriebsstoffe dienen Kohlenhydrate, Lipide und Proteine, deren Monomere bei der Zellatmung zur Erzeugung von Energie genutzt werden. Meist werden für die Energiegewinnung jedoch allein Kohlenhydrate und Lipide verwendet. Erst wenn diese Substanzen nur noch in geringen Mengen vorhanden sind werden Proteine als Betriebsstoffe abgebaut. Besonders energiereich sind Fette: sie enthalten in etwa doppelt so viel Energie wie Kohlenhydrate oder Proteine. Die zweite Aufgabe der Nahrung ist die Lieferung von Rohmaterial für die Biosynthese. Aus organischen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen werden im Körper auf diese Weise eine Vielzahl weiterer Verbindungen hergestellt, die beispielsweise für Wachstum, Erneuerung oder Reproduktion benötigt werden. Die dritte Funktion, die die Nahrung erfüllt, ist die Versorgung des Körpers mit essenziellen Nährstoffen. Unter dieser Bezeichnung werden Verbindungen zusammengefasst, die ein Organismus zwar zum Leben benötigt, die er aber nicht selbst herstellen kann. Diese Substanzen müssen daher in bereits fertigem Zustand aus der Umwelt zugeführt werden. Je nach Tierart variieren die essenziellen Nährstoffe stark voneinander. Während eine Verbindung für die eine Art essenziell ist, kann es durchaus sein, dass eine andere Art in der Lage ist diese Verbindung selbst herzustellen.

Die essenziellen Nährstoffe werden in vier Klassen unterteilt. Die erste Klasse sind die essenziellen Aminosäuren. Beim erwachsenen Menschen sind dies insgesamt acht Aminosäuren, nämlich Tryptophan, Methionin, Valin, Threonin, Phenylalanin, Leucin, Isoleucin und Lysin. Bei Abwesenheit einer oder mehreren essenziellen Aminosäuren in der Nahrung kommt es zu Proteinmangel. Die zweite Klasse der essenziellen Nährstoffe sind einige ungesättigte Fettsäuren. Eine für den Menschen essenzielle Fettsäure ist beispielsweise die Linolensäure, die für die Synthese von Phospholipiden beim Membranaufbau benötigt wird. Die dritte Gruppe essenzieller Nährstoffe sind die Spurenelemente. Dies sind anorganische Mineralstoffe, die nur in sehr geringen Mengen benötigt werden. Für den Menschen essenziell ist hier insbesondere die Aufnahme von Calcium und Phosphor für den Aufbau und den Erhalt der Knochen.

Aber auch Schwefel-, Kalium-, Chlor-, Natrium-, Magnesium-, Eisen-, Fluor-, Zink-, Kupfer-, Mangan-, Iod-, Cobalt-, Selen-, Chrom- und Molybdän-Verbindungen werden vom Menschen für verschiedenste Funktionen benötigt. Die vierte Klasse der essenziellen Nährstoffe ist schließlich die Gruppe der Vitamine.

## 2 Was sind Vitamine?

Nach der heutigen Definition sind Vitamine essenzielle - also lebensnotwendige - organische Verbindungen, die im Stoffwechsel nicht oder nicht in ausreichendem Maße hergestellt werden können. Diese Definition ist allerdings sehr allgemein und kann noch dadurch ergänzt werden, dass Vitamine oft an katalytischen oder steuernden Funktionen im Körper beteiligt sind. Daraus ergibt sich, dass die Aufnahme geringer Mengen oftmals bereits ausreichend ist. Die Definition der Vitamine bezieht sich somit allein auf ihre Funktion und Wirkung im Körper. Chemisch betrachtet unterscheiden sie sich hingegen sehr stark voneinander.

Der Ursprung des Begriffes „Vitamin“ stammt aus dem Jahre 1911. In diesem Jahr gelang es dem polnischen Biochemiker Casimir Funk in London, aus ungeschälten Reiskörnern ein Amin zu isolieren, von dem er annahm, dass es gegen die damals häufige Krankheit Beriberi wirksam sei. Seine Arbeit veranlasste ihn zur Einführung der Bezeichnung „vital amine“, aus der sich später der Begriff „Vitamine“ für diese Gruppe der essenziellen Nährstoffe entwickelte – auch wenn es sich bei den meisten anderen Vitaminen funktionell gesehen nicht um Amine handelt.



**Abb.1** Casimir Funk

Untersuchungen des von Casimir Funk isolierten Amins zeigten später allerdings, dass dieses – entgegen seiner Vermutung – nicht gegen Beriberi wirksam war.

Nachdem weitere Verbindungen mit Vitamincharakter isoliert worden waren, wurde die Kennzeichnung der Vitamine mit Buchstaben eingeführt. Eine aus Milch isolierte fettlösliche Verbindung erhielt den Namen Vitamin A, eine wasserlösliche aus Milch isolierte Verbindung den Namen Vitamin B. Zusätzlich erhielt eine Substanz, die gegen die Krankheit Skorbut wirksam war, den Namen Vitamin C. Alle weiteren entdeckten Verbindungen mit Vitamincharakter wurden in den folgenden Jahren in diese ABC-Nomenklatur integriert.

Wasserlösliche Vitamine wurden mit B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> usw. gekennzeichnet, fettlösliche Vitamine erhielten die Buchstaben D, E und K. Heute sind insgesamt 13 Verbindungen bzw. Komplexe mit Vitamincharakter bekannt. Die IUPAC empfiehlt allerdings die ursprüngliche ABC-Nomenklatur zu vermeiden und stattdessen die Trivialnamen, wie beispielsweise Ascorbinsäure oder Retinol, zu verwenden.

Neben den Vitaminen kann zusätzlich die Gruppe der Provitamine definiert werden. Bei diesen handelt es sich um Vorstufen von Vitaminen, die mit der Nahrung aufgenommen werden und erst im Organismus in Vitamine überführt und damit aktiv werden. Ein bekanntes Beispiel für ein Provitamin ist das  $\beta$ -Carotin, welches im Körper in Retinol (Vitamin A) überführt wird.

### 3 Einteilung der Vitamine

Die Einteilung der Vitamine erfolgt in die Gruppe der wasserlöslichen Vitamine und die Gruppe der fettlöslichen Vitamine. Grund hierfür ist, dass gerade die Lösungseigenschaften der Vitamine viel über ihr Verhalten bei biochemischen Prozessen – wie Resorption, Transport, Speicherung und Ausscheidung – aussagen. So können wasserlösliche Vitamine in der Regel nur schlecht gespeichert werden und werden dafür leicht mit dem Harn ausgeschieden; fettlösliche Vitamine hingegen können gut gespeichert werden, wohingegen die Ausscheidung überschüssiger Mengen erschwert ist, so dass hier Überdosierungen möglich sind.

Zu den wasserlöslichen Vitaminen gehören alle B-Vitamine – also die Vitamine Thiamin (Vitamin B<sub>1</sub>), Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>), Niacin (Vitamin B<sub>3</sub>), Pantothensäure (Vitamin B<sub>5</sub>), die B<sub>6</sub>-Vitamine (Pyridoxin, Pyridoxal und Pyridoxamin), Biotin (Vitamin B<sub>7</sub>), Folsäure (Vitamin B<sub>9</sub>) und die Cobalamine (Vitamin B<sub>12</sub>) – sowie die Ascorbinsäure (Vitamin C). Zu den fettlöslichen Vitaminen zählen Retinol (Vitamin A), die D-Vitamine (Ergocalciferol und Cholecalciferol), die Tocopherole (Vitamin E) und die K-Vitamine (Phyllochinon, Menanchinon-7 und Menadion).

## 4 Wasserlösliche Vitamine

### 4.1 Thiamin

#### Beriberi:

Mitte des 19. Jahrhunderts wurde in Ostindien bei Soldaten und Gefangenen der holländischen Kompanie häufig die Krankheit Beriberi festgestellt. Die Hauptnahrung dieser Männer war polierter Reis – also Reis bei dem die Samenhülle und die übrigen Hüllschichten entfernt worden waren, um ihn besser lagern zu können. Die Symptome dieser Krankheit waren bereits seit dem Altertum bekannt und sind schon in Schriften aus China um 2000 v. Chr. dokumentiert. Unklar war allerdings lange Zeit, wodurch die Erkrankung hervorgerufen wurde. Die landläufige Meinung war damals zunächst, dass es sich bei Beriberi um eine Infektionskrankheit handele.

Den Namen erhielt die Krankheit von Einheimischen auf Java, in deren Sprache „Beri beri“ so viel wie Schafsgang hieß, womit einige Symptome, wie beispielsweise der wackelige Gang und die zitternden Knie der Erkrankten, beschrieben wurden. Weitere Symptome des Beriberi sind zu Beginn Teilnahmslosigkeit, Nervenlähmungen, erhöhte Reizbarkeit und Appetitlosigkeit. Schwerere, sich anschließende Symptome sind Störungen des Herz-Kreislaufsystems und weitere Nervenlähmungen, die letztendlich zum Herzversagen führen können.



**Abb.2** Beriberi-Patient

Nachdem auch vermehrt japanische Seeleute an Beriberi erkrankten, führte der japanische Arzt Kanehiro Takaki in den 80er Jahren des 19. Jahrhunderts eine Untersuchung mit zwei japanischen Kriegsschiffen durch. Takaki hatte eine englische Ausbildung genossen und vermutete, dass es sich bei Beriberi nicht um eine Infektionskrankheit, sondern um eine ernährungsbedingte Krankheit handele. Während die Besatzung des einen Schiffes die übliche Nahrung – in erster Linie geschälten Reis – erhielt, bekam die Besatzung des zweiten Schiffes ausgewogene Nahrung mit Gemüse, Fleisch und Fisch. Ergebnis seiner Studie war, dass bei Ernährung der Seeleute mit ausgewogener Kost die Zahl der Erkrankungen stark zurückging. Als Folge wurden in der japanischen Armee Ernährungsrichtlinien eingeführt, die zu einem starken Rückgang der Krankheit führten.

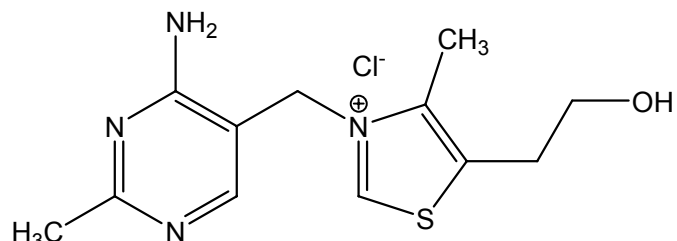


**Abb.3** Christiaan Eijkman

In der Landbevölkerung änderte sich jedoch zunächst nichts und es traten weiterhin zahlreiche Erkrankungen auf. Ende des 19. Jahrhunderts wurde der Holländer Christian Eijkman nach Indonesien geschickt, um die Krankheit näher zu erforschen. Durch Zufall beobachtete er, dass in einem Militärhospital auch die Hühner im Hof an Beriberi erkrankten, wenn sie mit geschältem Reis gefüttert wurden. Bei Fütterung mit unpoliertem Reis erkrankten die Hühner hingegen nicht, beziehungsweise konnten sie wieder geheilt werden. Aufgrund dieser Beobachtung erhielten auch die Beriberi-Patienten unpolierten Reis als Nahrung, wodurch die Symptome verschwanden. Später zeigte sich, dass ein Thiamin-Mangel für den Ausbruch der Krankheit verantwortlich ist. Im Jahre 1926 wurde Thiamin schließlich aus der Hülle von Reiskörnern isoliert, zehn Jahre später erfolgte die Synthese durch Williams. Für seine Entdeckungen bezüglich des Beriberi erhielt Christian Eijkman 1929 den Medizin-Nobelpreis. Dies war zugleich der erste Nobelpreis der an die Vitaminforschung vergeben wurde.

### Allgemeines zu Thiamin:

Chemisch betrachtet besitzt Thiamin zwei heterozyklische Ringe, einen Pyrimidinring und einen Thiazolring, die über eine Methylenbrücke miteinander verbunden sind. Seinen Trivialnamen



erhielt das Thiamin aufgrund seiner chemischen Struktur („Thi-“ für das Schwefelatom, „-amin“ aufgrund dem enthaltenen Amin). Thiamin kommt häufig in Schweinefleisch, Hülsenfrüchten, Weizenkeimlingen, Erdnüssen und Hefe vor. Die deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt Erwachsenen eine Aufnahme von 1,0 – 1,2 mg/Tag. Diese Menge ist beispielsweise in 240 g Haferflocken oder 10 g Bierhefe enthalten. Bei einem Thiaminmangel kann es zu Beriberi kommen, Überdosierungen sind hingegen unbekannt. Thiamin ist empfindlich gegen Hitze und Sauerstoff. Durchschnittliche Verarbeitungsverluste liegen bei ungefähr 30%.

## Versuch 1: Halbquantitativer Thiamin-Nachweis in Mehl

### Chemikalien:

Substanz	Gefahrenzeichen	R-Sätze	S-Sätze
HCl <sub>(aq)</sub> (c = 2 mol/L)	---	---	---
NaOH <sub>(aq)</sub> (c = 2 mol/L)	C	35	26-36/37/39-45
K <sub>3</sub> [Fe(CN) <sub>6</sub> ] <sub>(s)</sub>	---	---	---
NaOH <sub>(s)</sub>	C	35	26-36/37/39/45
2-Methyl-1-propanol	Xi	10-37/38-41-67	7/9-13-26-37/39-46
Weizenmehl-Typ 405	---	---	---
Vollkornweizenmehl	---	---	---

### Geräte:

Spatel, Becherglas (250 mL), Glasflasche mit Schliff (100 mL), Messzylinder, Waage, 2 Bechergläser (100 mL), Messpipette (25 mL), 2 Glasstäbe, Bunsenbrenner, Dreifuß mit Netz, 2 Zentrifugengläser, Zentrifuge, Eppendorfpipette mit Spitzen, 2 Reagenzgläser mit Stopfen, 2 Pasteurpipetten, pH-Papier, Reagenzglasständer, Messpipette (5 mL), Pelusball, UV-Lampe

### Durchführung:

In einem Becherglas werden 0,2 g Kaliumhexacyanoferrat(III) (K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>]<sub>(s)</sub>) und 5 g Natriumhydroxid (NaOH<sub>(s)</sub>) abgewogen und anschließend in 100 mL entionisiertem Wasser gelöst (die Lösung kann in einer Glasflasche mit Schliff (Plastikstopfen!) längere Zeit aufbewahrt werden). Anschließend werden je 5 g Weizenmehl-Typ 405 beziehungsweise Vollkornweizenmehl mit 20 mL Salzsäure (c = 2 mol/L) versetzt. Die so erhaltenen Suspensionen werden unter gelegentlichem Rühren mit dem Bunsenbrenner bis zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen werden die Suspensionen in Zentrifugengläser überführt und zentrifugiert, bis sich ein trüber Überstand über den Zentrifugaten gebildet hat. Von diesen Überständen wird mit Hilfe einer Eppendorf-Pipette jeweils 1 mL in Reagenzgläser überführt und mit etwas Natronlauge (c = 2 mol/L) neutral bis alkalisch eingestellt. Zu diesen Lösungen werden jeweils 10 Tropfen der vorbereiteten Reagenzlösung (alkalische Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung) hinzu gegeben. Anschließend werden die Lösungen für 30 Minuten stehen gelassen.



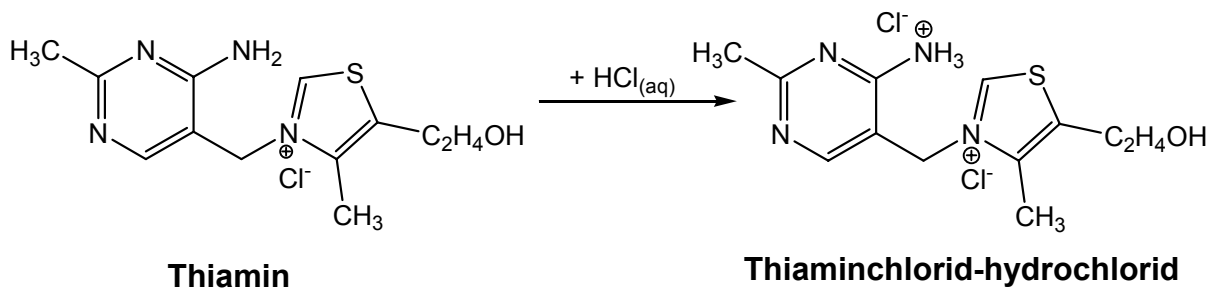
Nach dieser Zeit werden die wässrigen Lösungen mit jeweils 5 mL 2-Methyl-1-propanol ausgeschüttelt. Nach der Phasentrennung werden die Lösungen unter der UV-Lampe betrachtet.

**Beobachtung:**

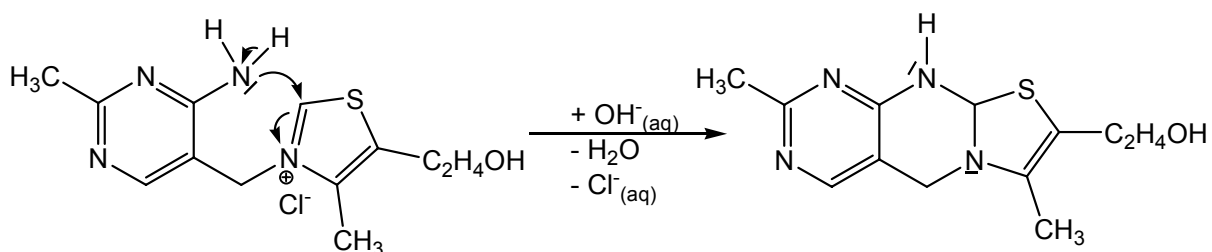
In beiden Reagenzgläsern fluoreszieren die organischen Phasen unter der UV-Lampe hellblau. Die blaue Fluoreszenz ist bei der Vollkornweizenmehlprobe allerdings stärker als bei der Weizenmehlprobe-Typ 405.

**Auswertung:**

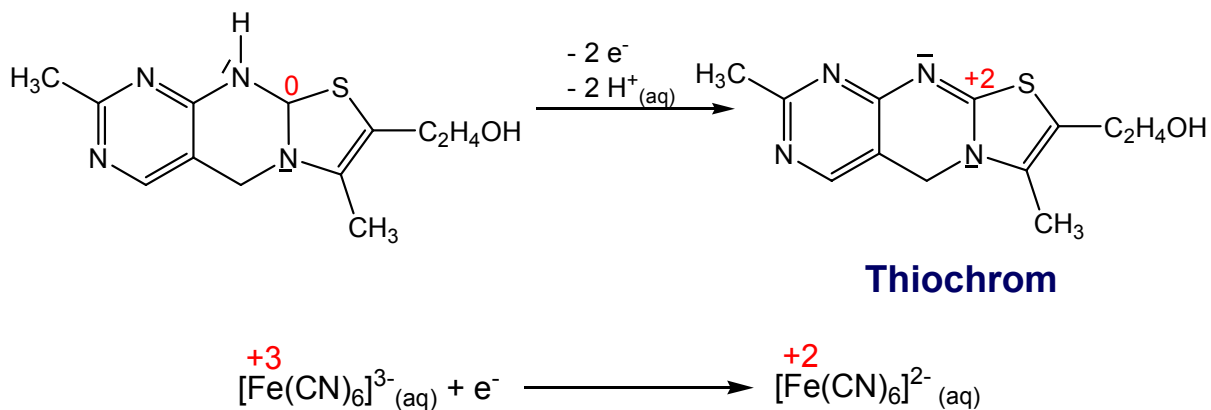
Durch das Aufkochen mit Salzsäure wird das im Mehl enthaltene Thiamin zunächst gelöst. Es bildet sich dabei das Thiaminchlorid-hydrochlorid aus.



Bei Zugabe von Natronlauge wird das zuvor gebildete Thiaminchlorid-hydrochlorid deprotoniert und es entsteht wieder Thiamin. Durch den Angriff eines weiteren Hydroxid-Ions wird das Amin deprotoniert und das Stickstoffatom greift mit seinem freien Elektronenpaar am Kohlenstoffatom (C2) zwischen Schwefel- und Stickstoffatom des Thiazolrings an. Es kommt so zu einem Ringschluss in dessen Folge ein Dreiringsystem entsteht.



Bei Zugabe von Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung kommt es im nächsten Schritt zu einer Redoxreaktion. Hierbei wird das zuvor gebildete Dreiringsystem unter Abgabe von zwei Elektronen und zwei Protonen oxidiert. Bei dieser Oxidation wird zwischen dem Kohlenstoffatom (C2) und dem Stickstoffatom eine Doppelbindung ausgebildet. Zugleich wird das Eisen(III)-Ion im Hexacyanoferrat(III) zum Eisen(II)-Ion reduziert.



Das bei dieser Reaktion entstandene Thiochrom löst sich bei Zugabe des 2-Methyl-1-propanols in diesem und zeigt aufgrund seines konjugierten  $\pi$ -Systems eine blaue Fluoreszenz. Bei dieser Reaktion handelt es sich um einen spezifischen Nachweis auf Thiamin.

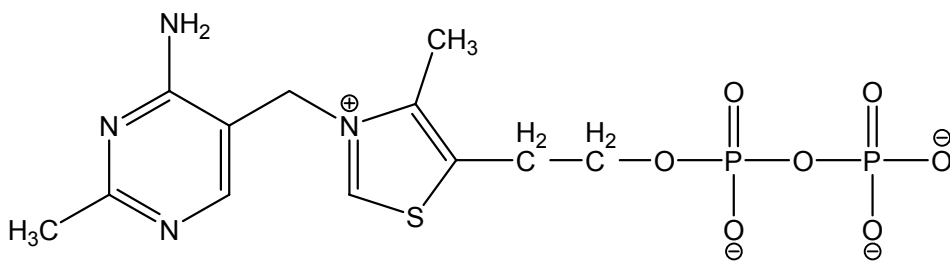
Die unterschiedliche Intensität in der Fluoreszenz bei der Weizenmehlprobe-Typ 405 und der Weizenvollkornmehlprobe ist darauf zurückzuführen, dass die beiden Mehlsorten einen unterschiedlichen Ausmahlungsgrad besitzen. Der Ausmahlungsgrad ist definiert als die Menge des Mahlproduktes in Bezug auf die Menge des eingesetzten Getreides. Mehl des Typs 405 besitzt einen Ausmahlungsgrad von gerade einmal 40 – 65 %, was bedeutet, dass aus 1000 g Getreide gerade einmal 400 – 650 g Mehl erhalten werden. Was in diesem Mehl fehlt sind die dunkleren Bestandteile aus den Randschichten des Kornes. Doch gerade in diesen äußeren Schichten des Weizenkorns ist der Thiamingehalt besonders hoch, so dass im Weizenmehl-Typ 405 nur sehr wenig Thiamin vorhanden ist. Im Vergleich dazu beträgt der Ausmahlungsgrad bei Mehl des Typs 1050 bereits 84 – 87 %. In dieser Mehlsorte ist der Anteil der Randschichten des Kornes bereits wesentlich höher und damit auch der durchschnittliche Vitamingehalt.

Mehl-Typ	Ausmahlungsgrad	Thiamingehalt (in mg/100g)
Typ 405	40 – 65 %	0,06
Typ 550	64 – 71 %	0,11
Typ 1050	84 – 87 %	0,43
Ganzes Korn	---	0,48

## Biochemische Wirkung des Thiamins:

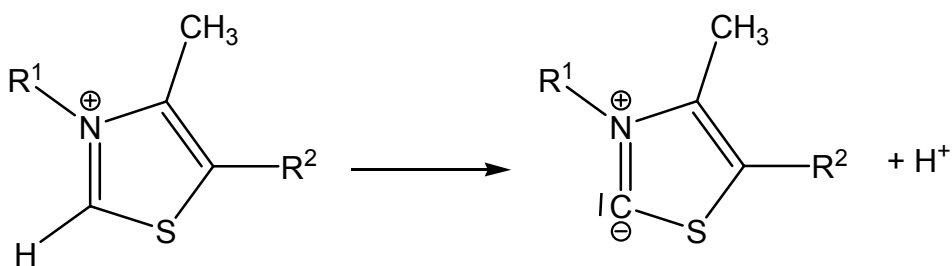
Thiamin spielt in seiner biologisch aktiven Form im Körper eine wichtige Funktion als Coenzym. Ein Coenzym ist eine verhältnismäßig niedermolekulare Verbindung, die bei enzymatisch katalysierten Reaktionen eine Übertragungsrolle spielt. Sie wird bei der Reaktion zunächst chemisch verändert, im Anschluss jedoch in einem kurzen Zyklus wieder regeneriert. Die Bindung an das an der Reaktion beteiligte Enzym erfolgt stets reversibel.

Nach der Aufnahme mit der Nahrung wird das Thiamin im Darm über einen  $\text{Na}^+$ -abhängigen aktiven Transport zunächst resorbiert. In der Leber erfolgt dann die Phosphorylierung des Thiamins unter Verbrauch von ATP, wodurch Thiaminpyrophosphat gebildet wird. Das an dieser Reaktion beteiligte Enzym ist die Thiaminkinase.

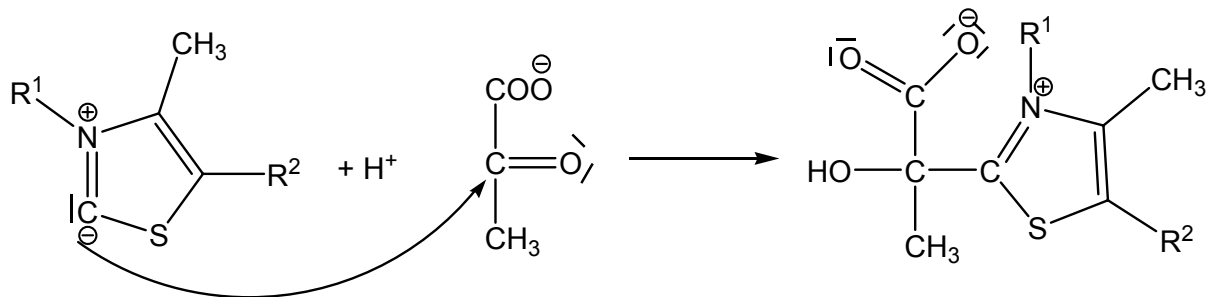


**Abb.5** Thiaminpyrophosphat (TPP)

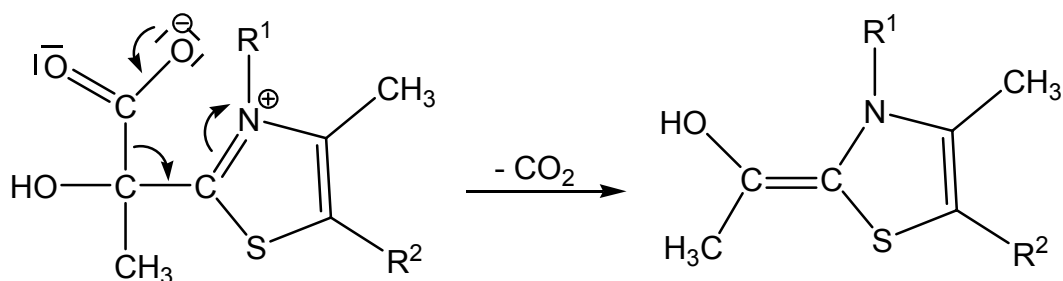
Das Thiaminpyrophosphat (TPP) spielt eine wichtige Rolle beim Kohlenhydratabbau. Kohlenhydrate werden zunächst über die Glykolyse abgebaut. Aus einem Molekül Glucose entstehen hierbei in mehreren Schritten zwei Moleküle Pyruvat und eine geringe Menge ATP. Unter aeroben Bedingungen schließt sich an die Glykolyse der Citratzyklus und die Atmungskette an. Bevor das Pyruvat allerdings in den Citratzyklus eingeschleust wird, wird es oxidativ decarboxyliert. Ein daran beteiligtes Enzym ist die Pyruvat-Dehydrogenase, die TPP als katalytischen Cofaktor besitzt. Die Wirkung des TPP beruht darauf, dass das Kohlenstoffatom zwischen dem Stickstoff- und dem Schwefelatom des Thiazolringes leicht azid ist und so leicht deprotoniert werden kann.



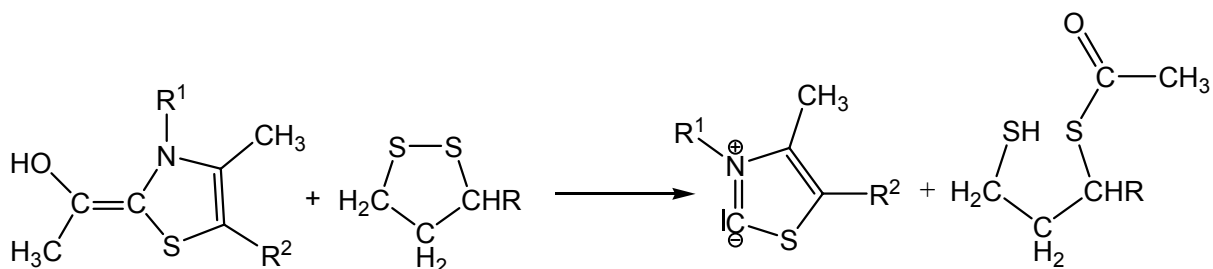
Das entstandene Carbanion kann mit seinem freien Elektronenpaar als Nucleophil am Kohlenstoffatom der Carbonylgruppe des Pyruvats angreifen. Bei dieser Reaktion wird die C-O-Doppelbindung aufgebrochen und es entsteht nach Protonierung eine Alkoholgruppe.



In der entstandenen Verbindung wirkt das Stickstoffatom aufgrund seiner positiven Ladung stark elektronenziehend, was die Abspaltung von  $\text{CO}_2$  ermöglicht. Bei dieser Reaktion wird die C-C-Einfachbindung zwischen dem Kohlenstoffatom der Carboxylgruppe und dem benachbarten Kohlenstoffatom aufgebrochen und stattdessen eine C-C-Doppelbindung zum Kohlenstoffatom des Thiazolringes ausgebildet. Zugleich wird die Kohlenstoff-Stickstoff-Doppelbindung des Thiazolringes aufgebrochen und das Stickstoffatom erhält ein freies Elektronenpaar.



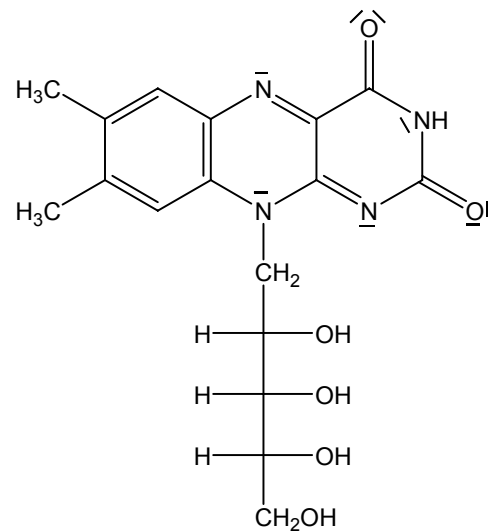
Die entstandene Verbindung ist das Hydroxyethyl-TPP. Die Hydroxyethylgruppe wird im nächsten Schritt oxidiert und zugleich auf einen weiteren Cofaktor, das Liponamid, übertragen. Bei dieser Reaktion wird das TPP wieder in seine Carbanion-Form überführt.



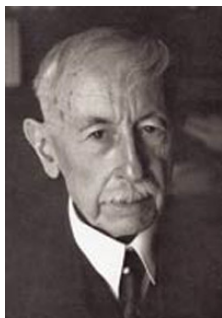
## 4.2 Riboflavin

### Allgemeines zu Riboflavin:

Ein weiteres wasserlösliches B-Vitamin ist das Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>). Seinen Namen erhielt das Riboflavin aufgrund seiner chemischen Struktur und zwar besteht es aus einem Flavin-Ringsystem und einem D-Ribitylrest. Erstmals isoliert wurde das Riboflavin 1933 aus verschiedenen Substanzen. Kuhn und György isolierten Riboflavin aus Eiern und nannten es daher zunächst Ovoflavin, Ellinger und Koschara extrahierten das Riboflavin aus Milch und bezeichneten es als Lactoflavin und Karrer



**Abb.6** Riboflavin



**Abb.7** Paul Karrer

Dass es sich bei allen drei Stoffen um die gleiche Substanz handelte, stellte sich erst später heraus. 1934 gelang Paul Karrer und Richard Kuhn die Strukturaufklärung und Synthese des Riboflavins. Für seine Untersuchungen auf dem Gebiet der Carotinoide, Flavine und den Vitaminen A und B<sub>2</sub> erhielt Paul Karrer 1937 den Nobelpreis für Chemie. Ein Jahr später erhielt Richard Kuhn diese Auszeichnung für seine Forschungen über die Vitamine A und B<sub>2</sub> und die Carotinoide.

Riboflavin kommt hauptsächlich in Milch und Milchprodukten, sowie Gemüse vor. Die deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt Erwachsenen eine Aufnahme von 1,2 – 1,4 mg/Tag. Diese Menge ist beispielsweise in 0,9 L Milch oder 640 g Spinat enthalten. Überdosierungen sind beim Menschen nicht bekannt, da Riboflavin extrem untoxisch ist. Bei Riboflavin-Mangel kommt es zu Hautausschlag um die Nase, zu Mundwinkelrissen und Zungenschleimhautentzündung. Riboflavin ist intensiv gelb und wird daher auch als Lebensmittelfarbstoff E 101, beispielsweise in Vanillepuddingpulver eingesetzt. Es ist lichtempfindlich aber dafür hitzestabil. Die durchschnittlichen Verarbeitungsverluste liegen bei ungefähr 20 %.

Mit Hilfe des folgenden Versuches kann Riboflavin in Puddingpulver nachgewiesen werden und zugleich können die Redoxeigenschaften demonstriert werden.

## Versuch 2: Reduktion und Reoxidation von Riboflavin

### Chemikalien:

Substanz	Gefahrenzeichen	R-Sätze	S-Sätze
Puddingpulver (Vanille)	---	---	---
$\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4(\text{s})$	Xn	7-22-31	7/8-26-28.1-43.6

### Geräte:

Waage, Spatel, Becherglas (250 mL), Magnetrührer mit Rührfisch, Messzylinder (250 mL), Stativmaterial, Filtriring, Glastrichter mit Filterpapier, Erlenmeyerkolben (500 mL), Alufolie, UV-Lampe, Becherglas (50 mL), Glasflasche mit Schliff (50 mL), Tropfpipette

### Durchführung:

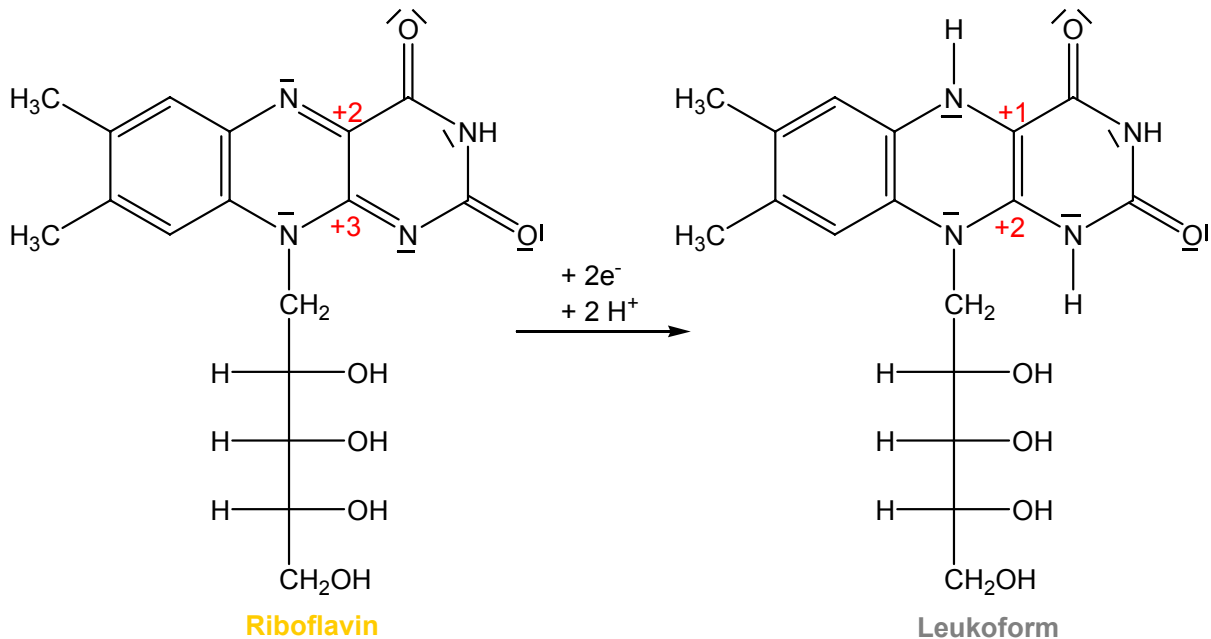
8 g Puddingpulver werden abgewogen, in einem Becherglas mit 200 mL entionisiertem Wasser aufgeschlämmt und 5 Minuten auf dem Magnetrührer gerührt. Anschließend wird die Suspension filtriert und der Extrakt in einem Erlenmeyerkolben aufgefangen. Weiter werden ca. 2 g Natriumdithionit in 10 mL entionisiertem Wasser gelöst. Der gewonnene Puddingextrakt wird mit der UV-Lampe bestrahlt. Es wird dann tropfenweise Natriumdithionit-Lösung hinzu gegeben und der Extrakt dabei unter der UV-Lampe betrachtet. Hat sich die Lösung entfärbt wird der unverschlossene Kolben kräftig geschwenkt.

### Beobachtung:

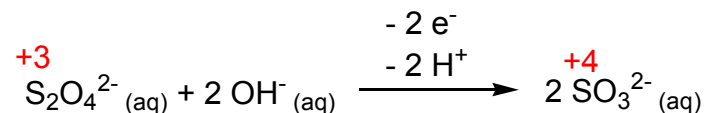
Unter dem UV-Licht zeigt der Puddingextrakt zunächst eine leuchtende gelb-grüne Fluoreszenz. Bei Zugabe der Natriumdithionit-Lösung entfärbt sich die Lösung. Wird der unverschlossene Kolben anschließend kräftig geschwenkt, fluoresziert die Lösung unter UV-Bestrahlung wieder kräftig gelbgrün.

### Auswertung:

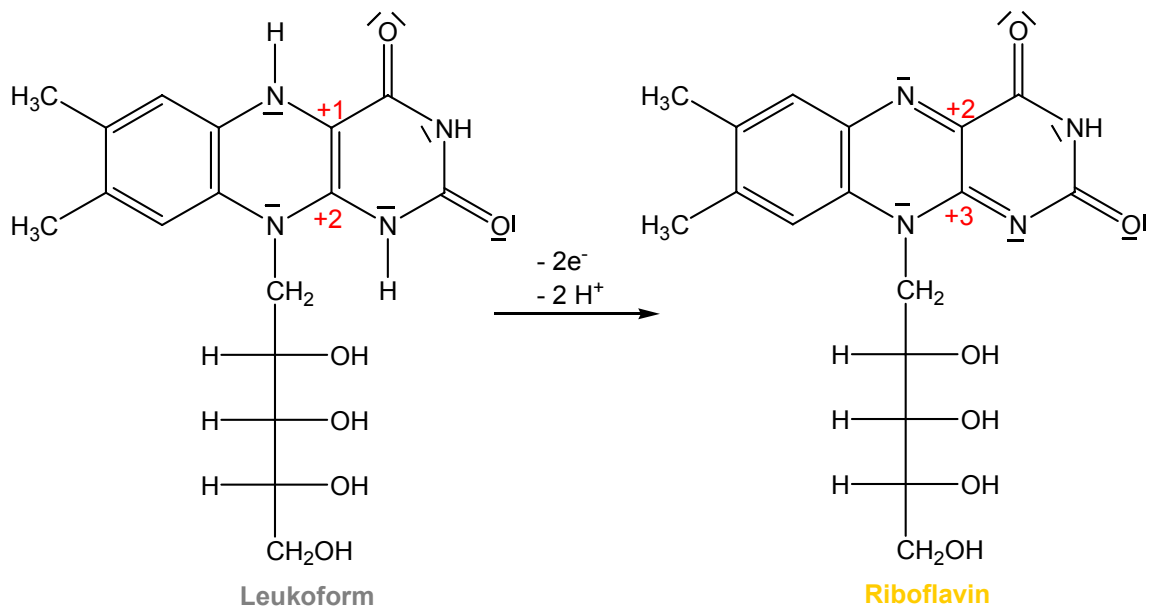
Aufgrund des delokalisierten  $\pi$ -Elektronensystems zeigt Riboflavin unter dem UV-Licht zunächst eine gelbgrüne Fluoreszenz. Bei Zugabe der Natriumdithionit-Lösung erfolgt eine Redoxreaktion. Das Riboflavin wird dabei unter Aufnahme von zwei Elektronen und zwei Protonen reduziert und geht dabei in die Leukoform über:



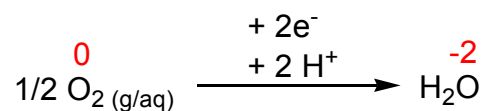
Bei dieser Reduktion ändern sich die Oxidationszahlen zweier Kohlenstoffatome von +2 nach +1 bzw. von +3 nach +2. Zugleich wird zwischen diesen beiden Kohlenstoffatomen eine Doppelbindung ausgebildet. Da in dieser Verbindung kein delocalisiertes  $\pi$ -Elektronensystem mehr vorhanden ist, erscheint sie farblos. Die zugehörige Oxidationsreaktion ist die Reaktion von Dithionit zu Sulfid:



Die Schwefelatome im Dithionit werden dabei unter Abgabe eines Elektrons oxidiert. Wird der Kolben geschwenkt, erfolgt eine Rückoxidation der Leukoform zum Riboflavin unter Abgabe von zwei Protonen und zwei Elektronen. Als Folge ist wieder die gelb-grüne Fluoreszenz des Riboflavins zu beobachten.



Die zugehörige Reduktionsreaktion ist die Reduktion des Sauerstoffes aus der Luft. Der Sauerstoff ändert dabei seine Oxidationszahl von 0 nach -2 und es entsteht Wasser.

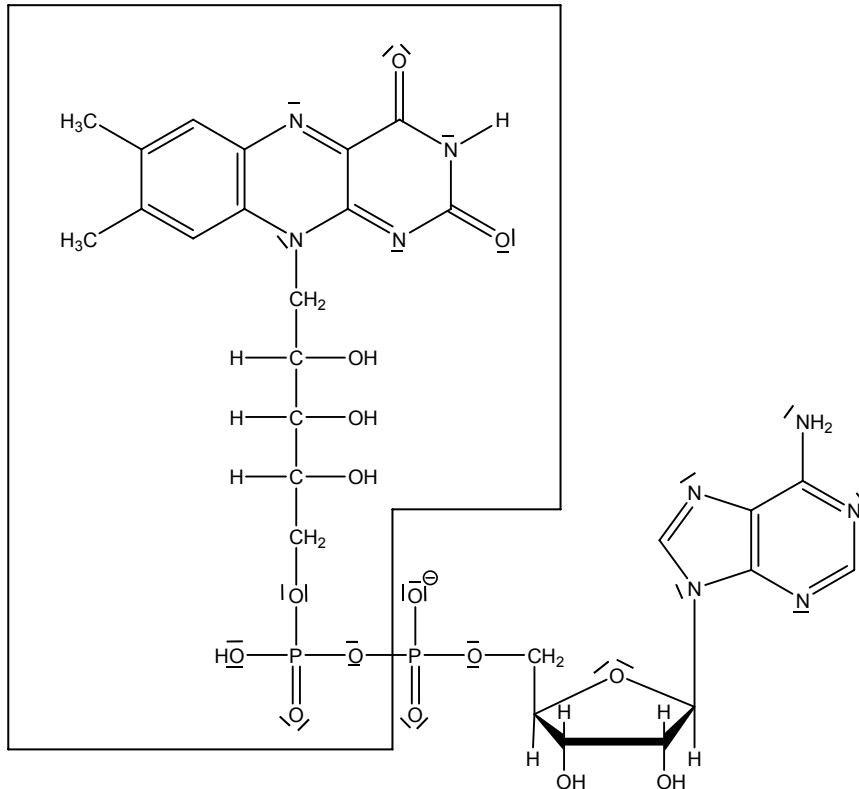


Der beschriebene Versuch zeigt das Redoxverhalten des Riboflavins. Er kann daher zugleich als Modellexperiment für die biologische Wirkung des Riboflavins dienen.

### Biochemische Wirkung des Riboflavins:

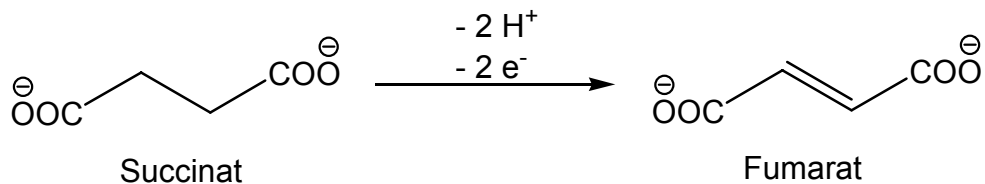
Die Wirkformen des Riboflavins sind zum einen das Flavinmononucleotid (FMN), zum anderen das Flavinadenindinucleotid (FAD). Das Flavinmononucleotid wird im Körper zunächst durch Phosphorylierung eines Riboflavins unter Verbrauch von ATP hergestellt. In einem nächsten Schritt kann aus einem zweiten ATP-Molekül eine AMP-Einheit auf das FMN übertragen werden, wodurch das FAD gebildet wird. Sowohl FMN als auch FAD dienen bei H-übertragenden Flavinenzymen als Coenzyme. Als reaktiver Teil des FAD fungiert auch hier das Flavin-Ringsystem. Wie im Modellversuch oben nimmt das Ringsystem bei diesen Reaktionen zwei Elektronen und zwei Protonen auf.





**Abb.8** FAD und FMN (Kasten)

Ein Beispiel für die Wirkung von FAD als Coenzym ist die Oxidation von Succinat im Citratzyklus. Das beteiligte Flavinenzym ist die Succinat-Dehydrogenase.



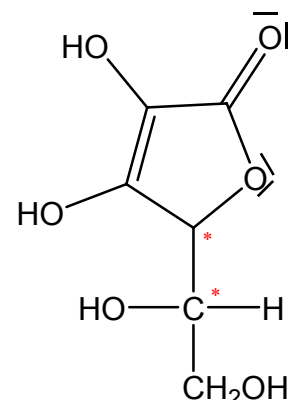
Unter Abgabe von zwei Elektronen und zwei Protonen entsteht bei dieser Reaktion aus Succinat Fumarat. Unter Aufnahme von zwei Elektronen und zwei Protonen geht FAD dabei in FADH<sub>2</sub> über, welches anstatt des Riboflavinrestes die Leukoform des Riboflavins (s.o.) besitzt. FMN spielt in der Atmungskette eine Rolle als Elektronenakzeptor.

## 4.3 L-Ascorbinsäure

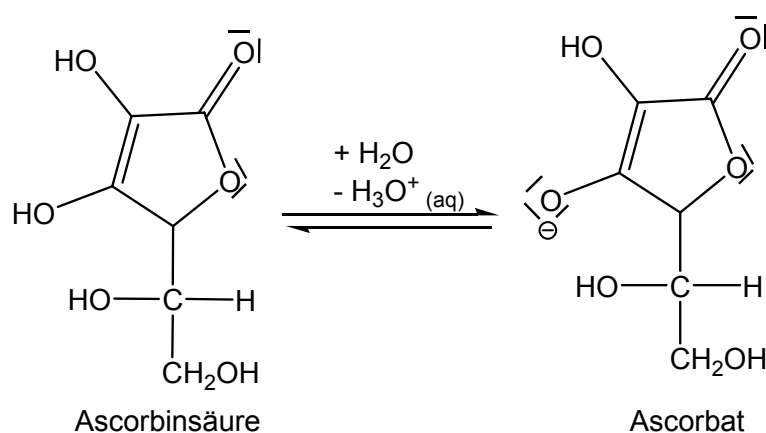
### Allgemeines zur L-Ascorbinsäure:

Das in der Bevölkerung wohl bekannteste wasserlösliche Vitamin ist die L-Ascorbinsäure. Sie kommt in allen Pflanzen vor, in besonders hohen Konzentrationen jedoch in Acerola (1550 mg/100 g), Hagebutten (1250 mg/100 g) und Sanddorn (450 mg/100 g). In Zitronen sind hingegen „nur“ 53 mg/100 g enthalten. Die Empfehlungen der deutschen Gesellschaft für Ernährung liegen bei einer täglichen Ascorbinsäure-Zufuhr von 100 mg für Erwachsene. Für Schwangere und Stillende erhöht sich der Wert auf 110 mg/Tag beziehungsweise 150 mg/Tag. Diese Menge L-Ascorbinsäure ist durchschnittlich bereits in 50 g schwarzen Johannisbeeren enthalten. L-Ascorbinsäure ist empfindlich gegenüber Sauerstoff, Hitze und Metallkontakt. Die durchschnittlichen Verarbeitungsverluste liegen bei ca. 30 %.

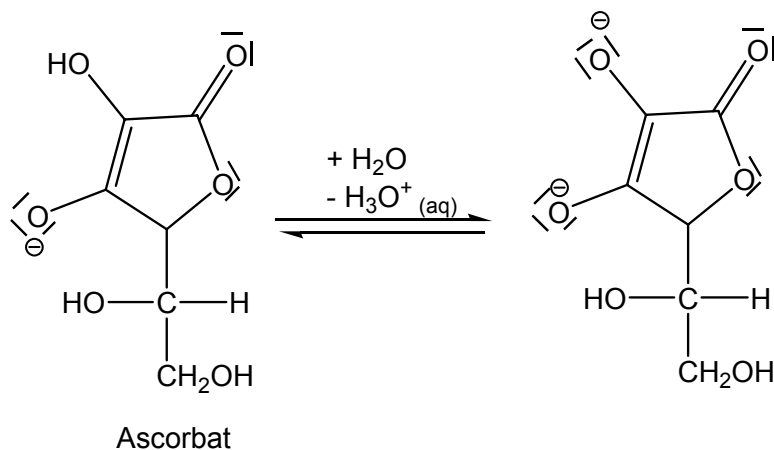
Chemisch betrachtet stellt die L-Ascorbinsäure ein Lacton dar. Sie besteht aus einem heterozyklischen Fünfring und verfügt zusätzlich zu der zyklischen Esterfunktion über eine Endiolgruppe im Ring. Die L-Ascorbinsäure besitzt zwei Stereozentren (C4 und C5), somit also vier Stereoisomere und ist optisch aktiv. Von den vier Stereoisomeren ist allein die L-Ascorbinsäure biologisch wirksam. Ihren Namen erhielt die L-Ascorbinsäure zum einen aufgrund ihrer Wirkung gegen den Skorbut (**anti-scorbutische** Wirkung), eine früher häufig vorkommende Krankheit, zum anderen aufgrund ihrer Säureeigenschaften.



### Eigenschaften der L-Ascorbinsäure:



Die Ascorbinsäure ist eine mittelstarke vinyloge Säure. In wässriger Lösung gibt die OH-Gruppe am C3 des Ringes leicht ein Proton ab und bildet so das Ascorbat. Der  $pK_S$ -Wert für diese Säuregruppe liegt bei 4,2. Folglich ist die L-Ascorbinsäure eine etwas stärkere Säure als Essigsäure. Das resultierende Ascorbat ist mesomeriestabilisiert. Das Ascorbat kann noch ein weiteres Proton abgeben.



Die weiter negative Ladung ist nicht mehr mesomeriestabilisiert. Der  $pK_S$ -Wert des Ascorbats liegt bei 11,6. Zusätzlich zu den Säureeigenschaften besitzt die L-Ascorbinsäure auch ausgeprägte Eigenschaften als Reduktionsmittel. Dies kann mit Hilfe des folgenden Versuches gezeigt werden.

### Versuch 3: L-Ascorbinsäure als Antioxidans

#### **Chemikalien:**

Substanz	Gefahrenzeichen	R-Sätze	S-Sätze
L-Ascorbinsäure	---	---	---
Methylenblau	Xn	22	---

#### **Geräte:**

Reagenzglasständer, 2 Reagenzgläser, Spatel, Becherglas (250 mL), Magnetrührer mit Rührfisch

### Durchführung:

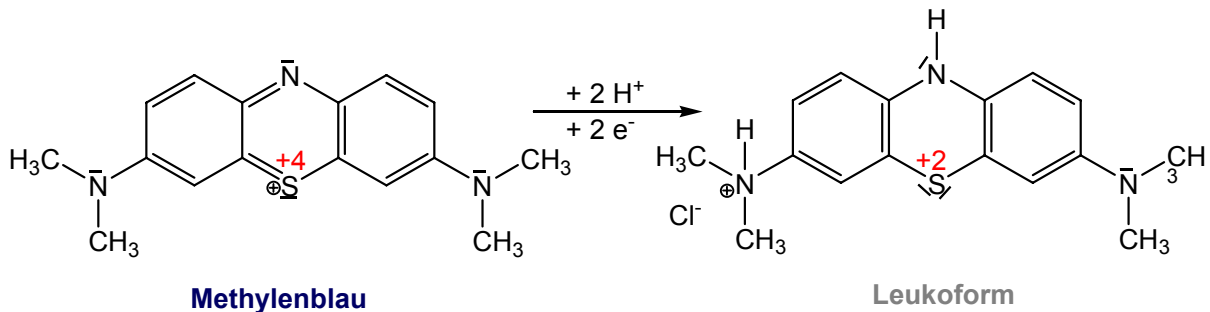
Eine Spatelspitze L-Ascorbinsäure wird in einem Reagenzglas in etwas entionisiertem Wasser gelöst (Füllhöhe ca. 3 cm). In einem zweiten Reagenzglas wird eine Spatelspitze Methyleneblau in etwas entionisiertem Wasser gelöst (Füllhöhe ca. 5 cm). Anschließend wird die L-Ascorbinsäure-Lösung zu der Methyleneblau-Lösung gegeben und das Reagenzglas in heißes Wasserbad gestellt.

### Beobachtung:

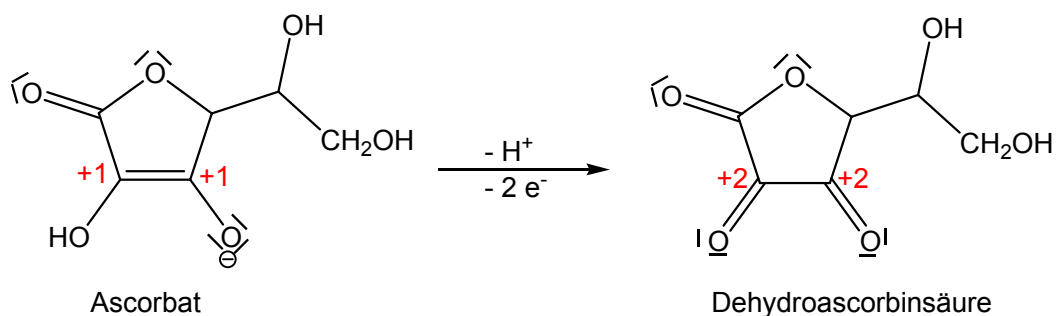
Im Wasserbad entfärbt sich die durch das Methyleneblau blau gefärbte Lösung schnell.

### Auswertung:

Bei der Reaktion handelt es sich um eine Redoxreaktion. Das Methyleneblau wird bei dieser Reaktion unter Aufnahme von zwei Protonen und zwei Elektronen reduziert. Das Schwefelatom im Methyleneblau ändert dabei seine Oxidationszahl von +4 nach +2.



Die bei dieser Reaktion entstandene Leukoform verfügt über kein delokalisiertes  $\pi$ -Elektronensystem und ist daher farblos. Die zugehörige Oxidationsreaktion ist die Reaktion des, in wässriger Lösung gebildeten Ascorbats zur Dehydroascorbinsäure unter Abgabe von zwei Elektronen und einem Proton. Dabei ändern die beiden Kohlenstoffatome der Endiolgruppe ihre Oxidationszahl von +1 nach +2.

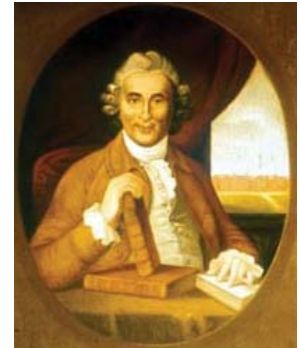


Das Ascorbat dient bei dieser Reaktion als Reduktionsmittel oder – wie bei biologischen Prozessen gesagt wird – als Antioxidans. Aufgrund ihrer antioxidativen Wirkung wird die Ascorbinsäure auch als Lebensmittelzusatzstoff E 300 verwendet.

### **Skorbut und die Geschichte der L-Ascorbinsäure:**

Die Mangelkrankheit der L-Ascorbinsäure ist der Skorbut. Diese Krankheit ist, ebenso wie Beriberi, bereits seit dem Altertum bekannt. Erwähnt wurde sie bereits im 16. Jahrhundert v. Chr. in Ägypten und auch Hippokrates beschrieb in seinem Buch „Hippocratum“ im 4. oder 5. Jahrhundert v. Chr. die Symptome der Krankheit. Wodurch die Krankheit ausgelöst wurde, war allerdings lange Zeit unbekannt. Im Mittelalter war der Skorbut bei Seeleuten sogar die Haupttodesursache.

Symptome der Krankheit sind insbesondere Zahnfleischbluten, Zahnausfall, erhöhte Anfälligkeit gegen Infektionskrankheiten, Müdigkeit und Erschöpfung, schlechte Wundheilung und Fieber. Allerdings treten diese Symptome erst einige Zeit nach Einsetzen des Vitamin C-Mangels auf. Ohne Behandlung endete die Krankheit oft in Tod durch Herzschwäche. 1752 fand der englische Schiffsarzt James Lind heraus, dass Zitrusfrüchte die bereits ausgebrochene Krankheit heilen können. In der Folge profitierte unter anderem der Seefahrer James Cook von dieser Erkenntnis, indem er der Besatzung seiner Schiffe Zitronensaft und Sauerkraut verordnete. Die Verabreichung von Zitronensaft hatte zur Folge, dass der englische Seemann den Spitznamen



„limey“ erhielt. Trotz aller Fortschritte in der Bekämpfung des **Abb.10** James Lind Skorbutus konnte erst zu Beginn des 20. Jahrhunderts nachgewiesen werden, dass Skorbut eine ernährungsbedingte Krankheit ist. 1919 schlug der Engländer Sir Jack Drummer vor, den antiskorbutischen Faktor Vitamin C zu nennen. Ein Jahr später erfolgte erstmals die Isolierung des Vitamin C durch Zilva aus Zitronen, 1927 durch Szent-Györgyi aus Kohl und Paprikaschoten. Sechs Jahre später gelang es Sir Walter Norman Haworth, Paul Karrer, Sir Edmund Langley Hirst und Fritz Micheel etwa gleichzeitig die Konstitution der L-Ascorbinsäure aufzuklären. Noch im selben Jahr synthetisierten sowohl Haworth als auch Tadeus Reichstein erstmals die L-Ascorbinsäure, wobei Reichstein in seiner Synthese bereits eine mikrobielle Oxidationsreaktion verwendete.



**Abb.11** Sir Walter Norman Haworth

1937 erhielt Sir Walter Norman Haworth den Nobelpreis für Chemie für seine Forschungen über die Kohlenhydrate und das Vitamin C. Heute werden weltweit ca. 35.000 – 40.000 t Vitamin C/Jahr hergestellt. Skorbut tritt in den westlichen Industrieländern nicht mehr auf, da ganzjährig frisches Obst und Gemüse – und somit Vitamin C-reiche Nahrung – verfügbar sind. Wie kommt es bei einem L-Ascorbinsäure-Mangel nun aber zu den Symptomen des Skorbut?

### **Biochemische Wirkung der L-Ascorbinsäure:**

Beinahe alle Symptome des Skorbut sind in einer fehlerhaften Biosynthese des Kollagens begründet. Kollagen ist das häufigste Protein bei Säugetieren und zugleich das Hauptprotein im Bindegewebe des Menschen. Es ist der wichtigste Faserbestandteil von Haut, Knochen, Sehnen, Knorpel und Zähnen. Kollagen setzt sich aus drei helikalen Polypeptidketten zusammen, wobei jede Kette beinahe 1000 Aminosäurereste besitzt. Eine im Kollagen häufig auftretende Aminosäure ist 4-Hydroxyprolin, welche ansonsten im Körper kaum angetroffen wird. Die Biosynthese des Kollagens erfolgt so, dass zunächst ein Prokollagen gebildet wird, welches anstatt der Aminosäure 4-Hydroxyprolin die Aminosäure Prolin enthält. In einem nächsten Schritt werden dann die Prolinreste auf der Aminoseite von Glycinresten hydroxyliert. Die Hydroxylierung erfolgt durch die Einführung eines Sauerstoffatoms, welches aus einem  $O_2$ -Molekül stammt. Das andere Sauerstoffatom aus dem  $O_2$ -Molekül wird dabei auf das  $\alpha$ -Ketoglutarat übertragen, wobei unter  $CO_2$ -Abspaltung Succinat entsteht. Das an dieser Reaktion beteiligte Enzym ist die Prolin-Hydroxylase. Dieses Enzym besitzt im aktiven Zentrum ein Eisen(II)-Ion, welches eine Aktivierung des Sauerstoffes bewirkt. Die Prolin-Hydroxylase überträgt jedoch auch ein Sauerstoffatom auf das  $\alpha$ -Ketoglutarat ohne das Prolin dabei zu hydroxylieren. Es entsteht hierbei ein  $Fe^{3+}-O^-$ -Komplex, der das Enzym inaktiviert. Um das Enzym wieder in seine aktive Form zu überführen, wird Ascorbat benötigt. Ascorbat reduziert das Eisen(III)-Ion wieder zum Eisen(II)-Ion und wird dabei selbst zur Dehydroascorbinsäure oxidiert. Folge ist, dass das Enzym wieder in seinem aktiven Zustand ist und die Kollagen-Biosynthese weiter fortschreiten kann.

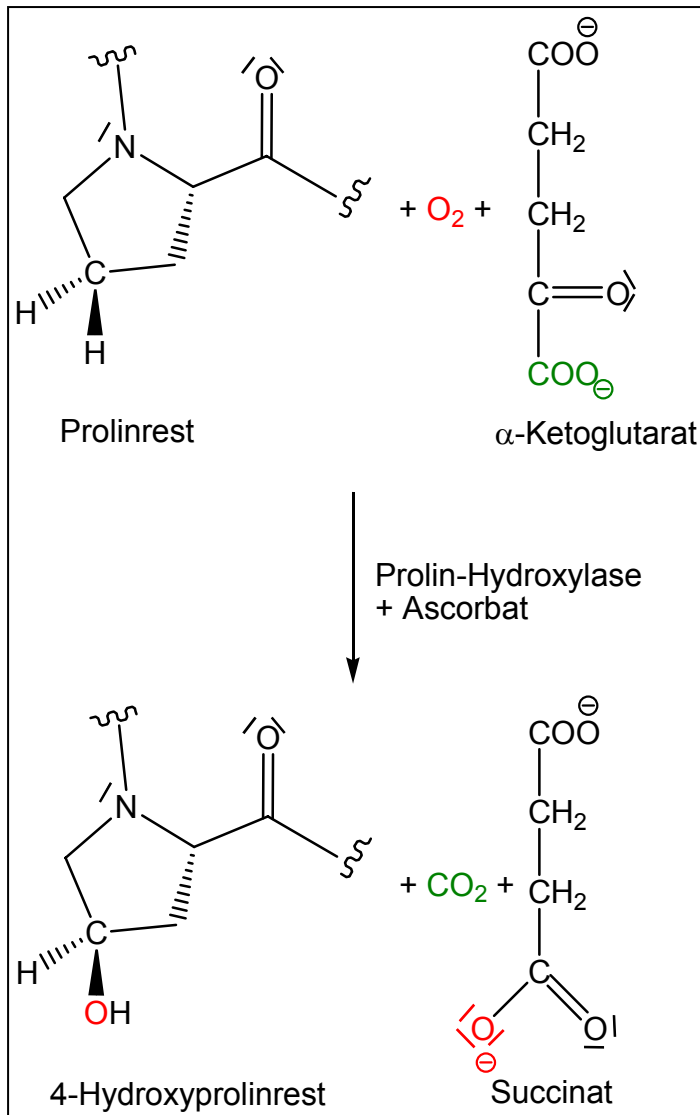


Abb.12 Hydroxylierung der Prolinreste (schematisch)

Fehlt nun aber Vitamin C, so kann die Hydroxylierung der Prolinreste nicht stattfinden. Das Hydroxyprolin wird allerdings zur Stabilisierung der Tripelhelix des Kollagens benötigt, da es zwischen den Strängen Wasserstoffbrücken-Bindungen ausbildet. Die bei L-Ascorbinsäure-Mangel gebildeten abnormalen Fasern können somit ihre Aufgabe als Stützproteine nicht wahrnehmen und es kommt zu den bei Skorbut beobachteten Blutungen und Zahnausfall.

Mit Hilfe des folgenden Versuches kann der Vitamin C-Gehalt in Multivitamin-Präparaten bestimmt werden.

## Versuch 4: Quantitative L-Ascorbinsäure-Bestimmung

### Chemikalien:

Substanz	Gefahrenzeichen	R-Sätze	S-Sätze
2,6-Dichlorphenolindophenol Natriumsalz-Dihydrat	---	---	---
$H_2C_2O_4 \cdot 2 H_2O$ (s)	Xn	21/22	24/25
L-Ascorbinsäure	---	---	---
Multivitamin-tabletten	---	---	---

### **Geräte:**

Analysenwaage, Spatel, Becherglas (100 mL), Messzylinder, Rührfisch, Magnetrührer mit Heizplatte, Thermometer, Messkolben (500 mL), Glastrichter, Filterpapier, Becherglas (1000 mL), Waage, Glasflasche mit Schliff (1000 mL), Messkolben (100 mL), 5 Erlenmeyerkolben (100 mL), Vollpipette (20 mL), Eppendorfpipette mit Spitzen, Mikrobürette, Stativmaterial, Papier (weiß), Messkolben (250 mL), Mörser, Rührfische

### **Durchführung:**

#### Vorbereitung:

200 mg 2,6-Dichlorphenolindophenol-Natriumsalz-Dihydrat werden in ein Becherglas eingewogen. Nach Zugabe von ca. 80 mL entionisiertem Wasser wird das Ganze unter Rühren auf 50 °C erwärmt. Nach dem Abkühlen wird die tiefblaue Lösung in einen 500 mL Messkolben filtriert und mit Wasser bis zur Eichmarke aufgefüllt. Des Weiteren werden ca. 600 mL einer Oxalsäure-Lösung ( $w = 0,02$ ) angesetzt.

#### Titerbestimmung:

Zur Titerbestimmung werden genau 200 mg L-Ascorbinsäure in einen 100 mL-Messkolben eingewogen und mit Oxalsäure-Lösung ( $w = 0,02$ ) bis zur Eichmarke aufgefüllt. In einen 100 mL-Erlenmeyerkolben werden 20 mL Oxalsäure-Lösung ( $w = 0,02$ ) und 0,2 mL der Ascorbinsäure-Standardlösung pipettiert. Das Ganze wird mit Dichlorphenolindophenol-Lösung bis zur deutlichen Rosafärbung titriert. Die Titerbestimmung wird dreimal durchgeführt.

#### Blindwertbestimmung:

Zur Bestimmung des Blindwertes wird wie bei der Titerbestimmung verfahren. Anstatt der Ascorbinsäure-Standardlösung werden jedoch 0,2 mL entionisiertes Wasser eingesetzt.

#### L-Ascorbinsäure-Bestimmung in Multivitamin-tabletten:

In einem Mörser wird eine Multivitamin-tablette ( $m = 4,5$  g) in etwas Oxalsäure-Lösung ( $w = 0,01$ ) gelöst. Das Ganze wird anschließend in einen 250 mL-Messkolben quantitativ überführt und mit Oxalsäure-Lösung bis zur Eichmarke aufgefüllt.



1 mL der frisch angesetzten Multivitamin-tabletten-Lösung überführt man mit Hilfe einer Eppendorfpipette in einen 100 mL-Erlenmeyerkolben und versetzt die Lösung mit 20 mL Oxalsäure-Lösung ( $w = 0,02$ ). Die Lösung wird mit Dichlorphenolindophenol-Lösung bis zur deutlichen Rosafärbung titriert.

**Beobachtung:**

Titerbestimmung:

Verbrauchte Volumina an Dichlorphenolindophenol-Lösung:

$$V_1 = 11,92 \text{ mL}$$

$$V_2 = 11,85 \text{ mL}$$

$$V_3 = 11,88 \text{ mL}$$

Blindwertbestimmung:

Verbrauchtes Volumen an Dichlorphenolindophenol-Lösung:

$$V_{\text{Blind}} = 0,34 \text{ mL}$$

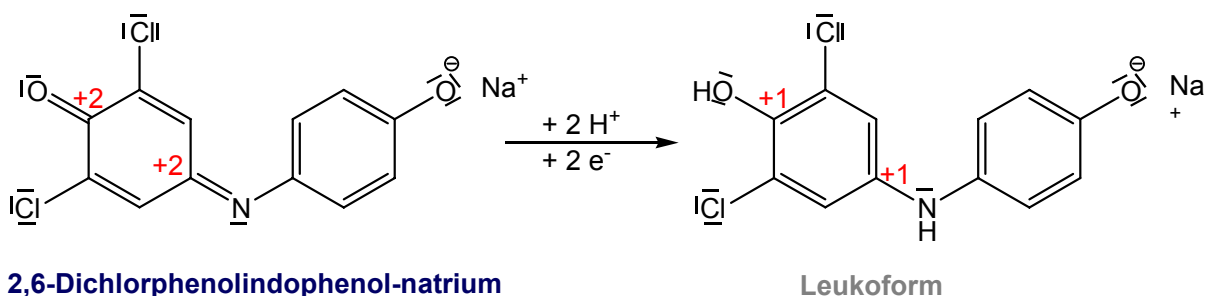
L-Ascorbinsäure-Bestimmung in Multivitamin-tabletten:

Verbrauchtes Volumen an Dichlorphenolindophenol-Lösung:

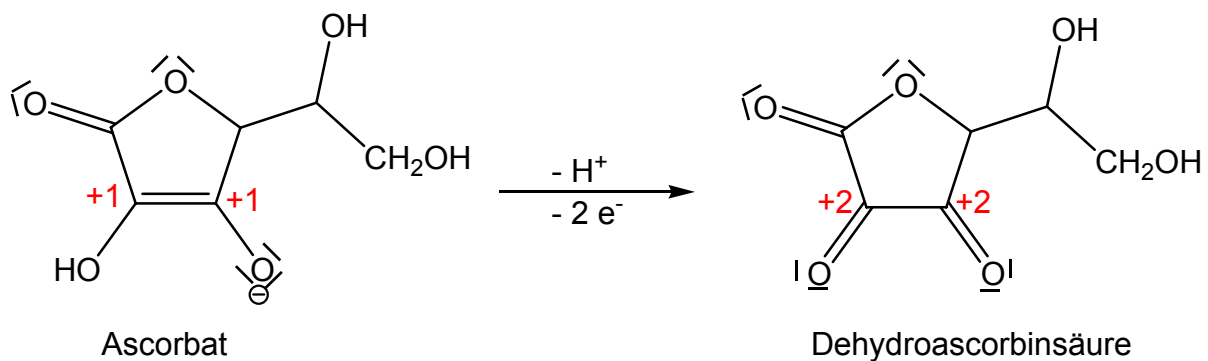
$$V = 7,54 \text{ mL}$$

**Auswertung:**

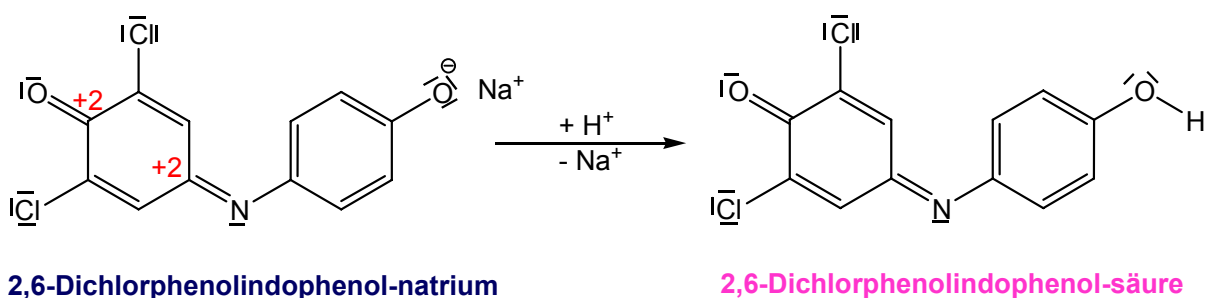
Während der Titration läuft eine Redoxreaktion ab. Das 2,6-Dichlorphenolindophenol-natrium wird unter Aufnahme von zwei Protonen und zwei Elektronen reduziert.



Es entsteht bei dieser Reaktion die Leukoform, die farblos ist. Im Gegenzug wird die in der Multivitamin-Tablette vorliegende Ascorbinsäure, beziehungsweise das Ascorbat unter Abgabe von zwei Elektronen und einem Proton oxidiert. Es entsteht wie im Versuch zuvor die Dehydroascorbinsäure.



Bei der Titration wird also das zugegebene 2,6-Dichlorphenolindophenolat sofort durch die in der Multivitamin-Tabletten-Lösung vorliegende Ascorbinsäure reduziert. Diese Reduktion ist mit einer Entfärbung der Lösung verbunden, da das blaue 2,6-Dichlorphenolindophenolat zur farblosen Leukoform reagiert. Ist keine Ascorbinsäure mehr in der Vorlage vorhanden, so ist bei Zugabe von 2,6-Dichlorphenolindophenol-natrium-Lösung ein Farbumschlag nach rosa zu beobachten. Grund hierfür ist, dass im sauren Milieu gearbeitet wird und das Dichlorphenolindophenolat sofort protoniert wird, wobei die rosa Dichlorphenolindophenol-säure entsteht.



Titerbestimmung:

Theoretische Konzentration der 2,6-Dichlorphenolindophenol-natrium-Lösung:

$$c(\text{DCPIP}) = 1,23 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Konzentration der Ascorbinsäure-Lösung (Standard):

$$c(\text{Asc}) = 0,0114 \frac{\text{mol}}{\text{L}}$$

Für die Umsetzung von 0,2 mL Ascorbinsäure-Standardlösung theoretisch benötigtes Volumen 2,6-Dichlorphenolindophenol-natrium-Lösung ( $n(\text{Asc}) = n(\text{DCPIP})$ ):

$$V(\text{DCPIP}) = \frac{n(\text{Asc})}{c(\text{DCPIP})} = \frac{c(\text{Asc}) \cdot V(\text{Asc})}{c(\text{DCPIP})} = \frac{0,0114 \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \cdot 0,2 \text{ mL}}{1,23 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mmol}}{\text{mL}}} = 1,85 \text{ mL}$$

Titerbestimmung:

$$t = \frac{V_{\text{Soll}}}{V_{\text{Ist}} - V_{\text{Blind}}} = \frac{1,85 \text{ mL}}{11,88 \text{ mL} - 0,34 \text{ mL}} = 0,160$$

Der Blindwert muss in die Rechnung mit einbezogen werden, da auch Wasser einen geringen Verbrauch an 2,6-Dichlorphenolindophenol-natrium-Lösung aufweist.

#### L-Ascorbinsäure-Bestimmung in Multivitamin-tabletten:

Die Stoffmenge der Ascorbinsäure in der gesamten Multivitamin-tablettenlösung kann nach folgender Gleichung berechnet werden:

$$\begin{aligned} n_{\text{ges}}(\text{Asc}) &= c(\text{DCPIP}) \cdot t \cdot (V(\text{DCPIP}) - V_{\text{Blind}}) \cdot 250 \\ &= 1,23 \cdot 10^{-3} \frac{\text{mmol}}{\text{mL}} \cdot 0,160 \cdot (7,54 \text{ mL} - 0,34 \text{ mL}) \cdot 250 \\ &= 0,354 \text{ mmol} \end{aligned}$$

Für die Masse der Ascorbinsäure in der gesamten Multivitamin-tabletten-Lösung ergibt sich dann:

$$\begin{aligned} m_{\text{ges}}(\text{Asc}) &= n_{\text{ges}}(\text{Asc}) \cdot M(\text{Asc}) \\ &= 0,354 \text{ mmol} \cdot 176,13 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \\ &= 62,35 \text{ mg} \end{aligned}$$

Das so erhaltene Ergebnis stimmt in etwa mit der Angabe des Herstellers überein. Angegeben ist ein Gehalt an Ascorbinsäure von 60,0 mg/Tablette.

## 5 Fettlösliche Vitamine

### 5.1 Retinol

#### Allgemeines zu Retinol:

Ein Beispiel für ein fettlösliches Vitamin ist Retinol oder auch Vitamin A<sub>1</sub> genannt. Chemisch betrachtet gehört Retinol zu den Diterpenen, was bedeutet, dass es aus

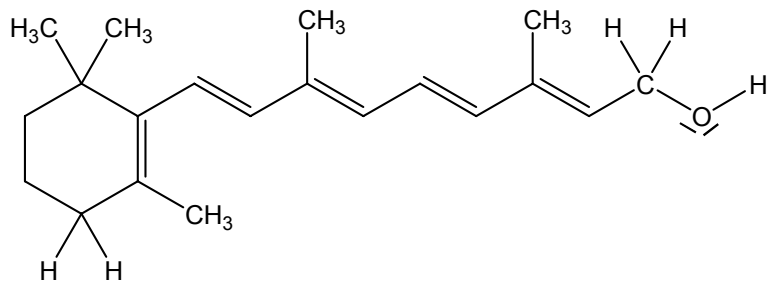


Abb.13 Retinol

vier Isopreneinheiten aufgebaut ist. An der einen Seite des Moleküls sind zwei kettenendständige Isopreneinheiten zu einem  $\beta$ -Iononring kondensiert. An der anderen Seite des Moleküls befindet sich eine primäre Alkoholgruppe. Retinol liegt in der all-*E*-Form vor. In Gegenwart von Sauerstoff ist es empfindlich gegenüber Hitze und Licht. Durchschnittliche Verarbeitungsverluste liegen bei ungefähr 20%.

Retinol ist nur in tierischen Lebensmitteln enthalten. Die deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt eine Aufnahme von 0,8 – 1,0 mg/Tag. Diese empfohlene Tagesdosis ist bereits in 3 g Schweineleber, 130 g Butter oder 220 g Thunfisch enthalten. Bei Unterversorgung kommt es zu trockener und rauer Haut, spröden Haaren und Nägeln, zu einer erhöhten Infektionsanfälligkeit und vermindertem Wachstum bei Kindern. Gravierend sind allerdings die Auswirkungen eines Retinol-Mangels auf das Sehvermögen. Es kann zu Nachtblindheit und bei extremem Retinol-Mangel sogar zum Verlust der Sehkraft kommen. In den westlichen Industrieländern kommt ein Retinol-Mangel allerdings kaum vor.

Da bei den fettlöslichen Vitaminen die Ausscheidung überschüssiger Mengen erschwert ist, kann es bei einer Überdosierung mit Retinol auch zu Hypervitaminosen kommen. Die unbedenkliche, obere Zufuhrmenge für Erwachsene liegt bei 3 mg. Symptome einer akuten Überdosierung sind Kopfschmerzen. Bei einer chronischen Überdosierung kommt es zu Hautveränderungen, Gelbsucht und Lebervergrößerungen. Besonders gefährlich ist eine Überdosierung während der Schwangerschaft, da es hier zu Missbildungen des Fötus kommen kann.

Dass Retinol in tierischen Produkten enthalten ist, kann mit Hilfe eines einfachen Versuches – der Carr-Price-Reaktion – gezeigt werden. Dies ist zugleich der klassische, qualitative Test auf Retinol.

## Versuch 5: Carr-Price-Reaktion

### Chemikalien:

Substanz	Gefahrenzeichen	R-Sätze	S-Sätze
$\text{CHCl}_3$ (l)	Xn	22-38-40-48/20/22	36/37
$\text{SbCl}_3$ (s)	C, N	34-51/53	26-45-61
Vitamin A-Präparat (enthält Retinylpalmitat)	---	---	---
Lebertran	---	---	---

### Geräte:

Becherglas (50 mL), Magnetrührer mit Fisch, Uhrglas, Waage, Messpipette (10 mL), Spatel, 2 Reagenzgläser mit Stopfen, Einwegspritze, Reagenzglasständer, Tropfpipette

### Durchführung:

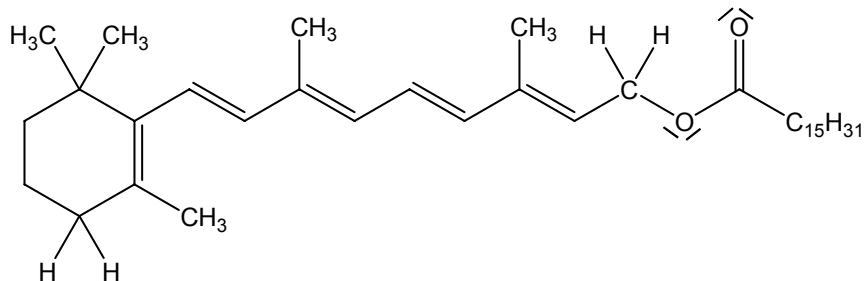
In 10 mL Chloroform werden 2 g Antimon(III)chlorid gelöst. Hierfür wird das Gemisch leicht erwärmt, wobei das Becherglas mit einem Uhrglas abgedeckt wird. Das fertige Carr-Price-Reagenz wird auf zwei Reagenzgläser verteilt. In das erste Reagenzglas wird nun mittels einer Einwegspritze das in den Kapseln enthaltene Retinylpalmitat überführt. Zu dem zweiten Reagenzglas werden einige Tropfen Lebertran hinzu gegeben.

### Beobachtung:

In beiden Reagenzgläsern ist zu beobachten, wie sich die Lösung bei Zugabe des Retinylpalmitats bzw. des Lebertrants blau färbt.

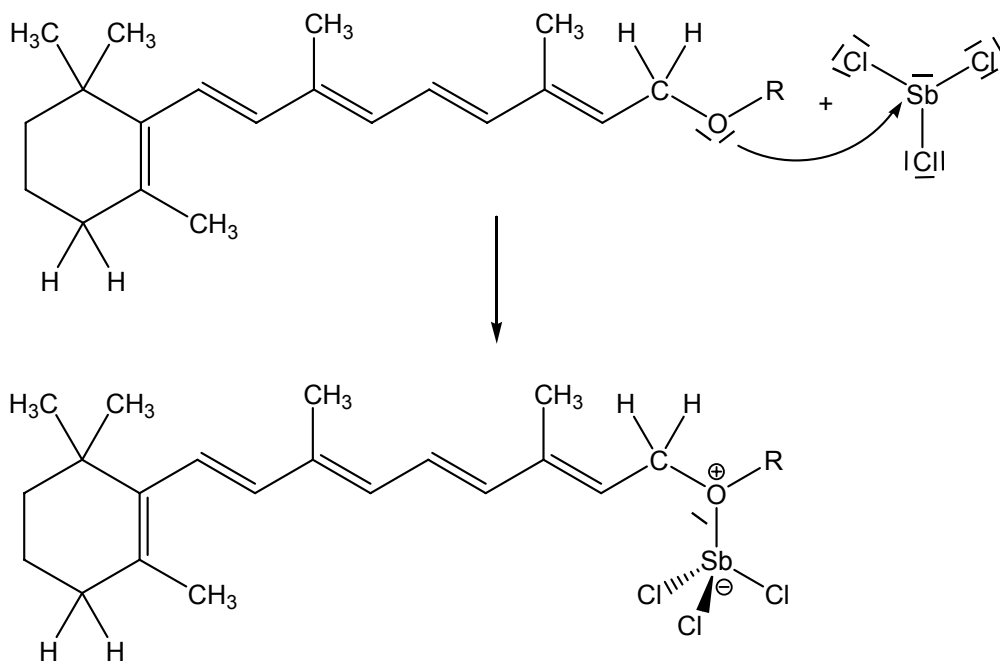
**Auswertung:**

In den meisten Vitamin A-Präparaten ist anstelle von Retinol Retinylpalmitat vorhanden.

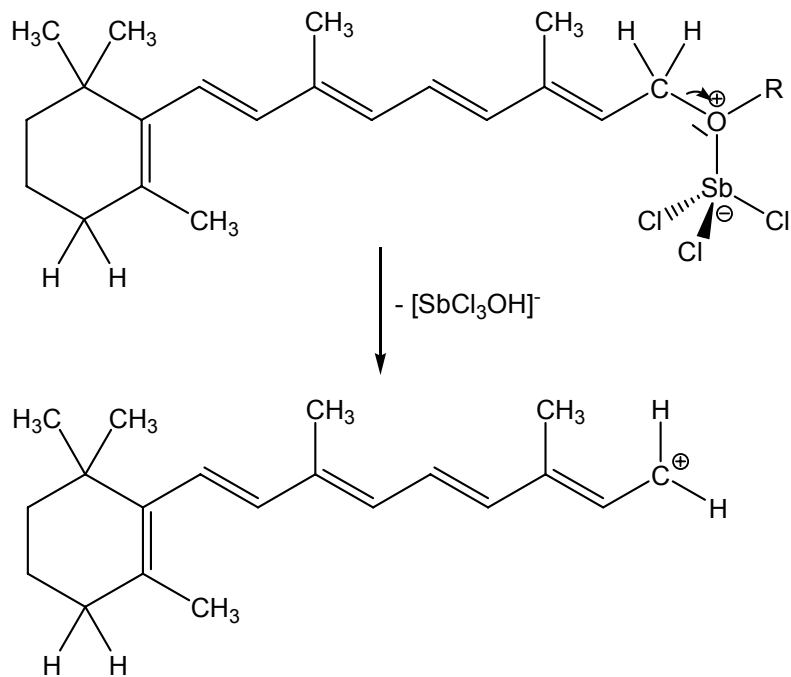


**Abb.14** Retinylpalmitat

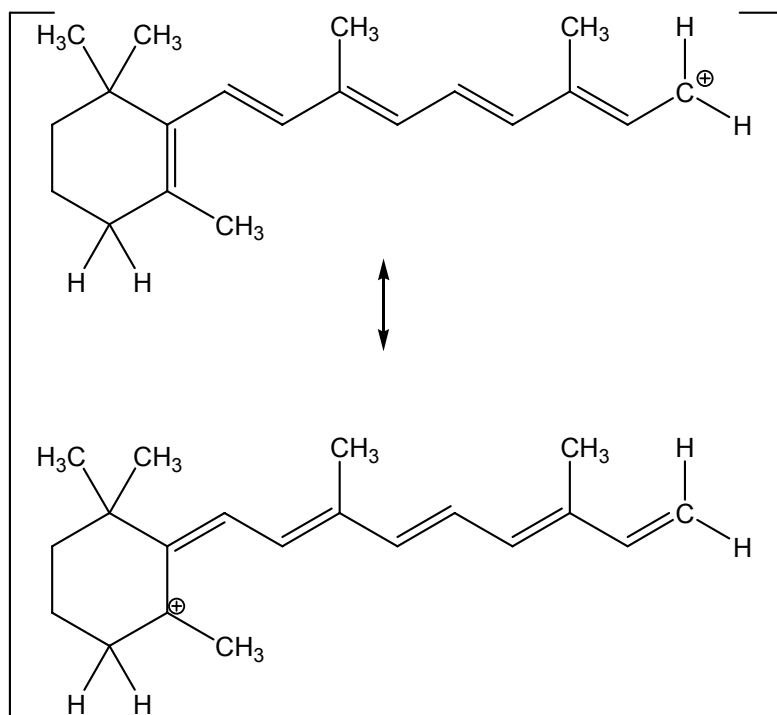
Bei Zugabe des Retinylpalmitats aus den Weichkapseln, beziehungsweise dem Lebertran läuft folgende Reaktion ab:



Das Antimon(III)-chlorid wirkt in diesem Versuch als Lewis-Säure und wird von einem freien Elektronenpaar des Sauerstoffatoms der Alkoholgruppe im Retinol bzw. des Esters im Retinylpalmitat angegriffen. Im nächsten Schritt wird nun Trichlorhydroxoantimonat(III) abgespalten.



Das bei dieser Reaktion entstandene Carbokation ist mesomeriestabilisiert und aufgrund der konjugierten Doppelbindungen blau.



Eine ähnliche Reaktion gehen die Vitamine des D-Komplexes ein. In diesem Fall ist allerdings eine gelb-orange Färbung der Lösung zu beobachten.

## Biochemische Wirkung des Retinol:

Nach der Aufnahme mit der Nahrung wird das all-*E*-Retinol im Körper über mehrere Schritte zunächst in das 11-*Z*-Retinal umgewandelt.

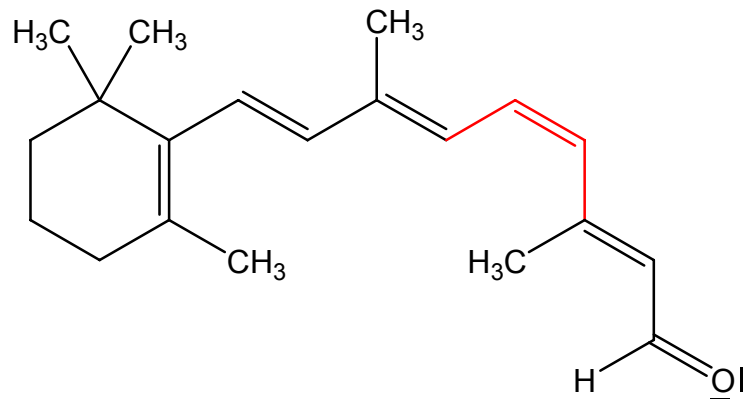
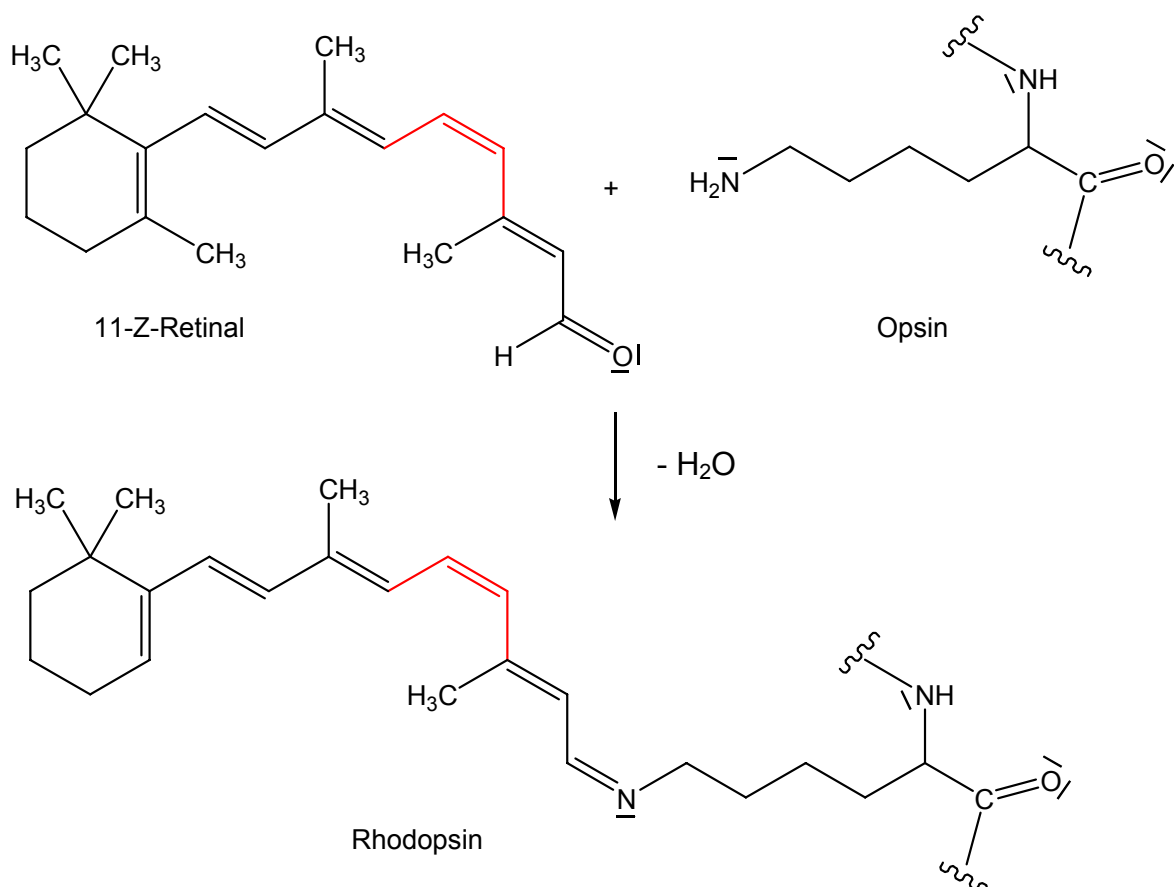


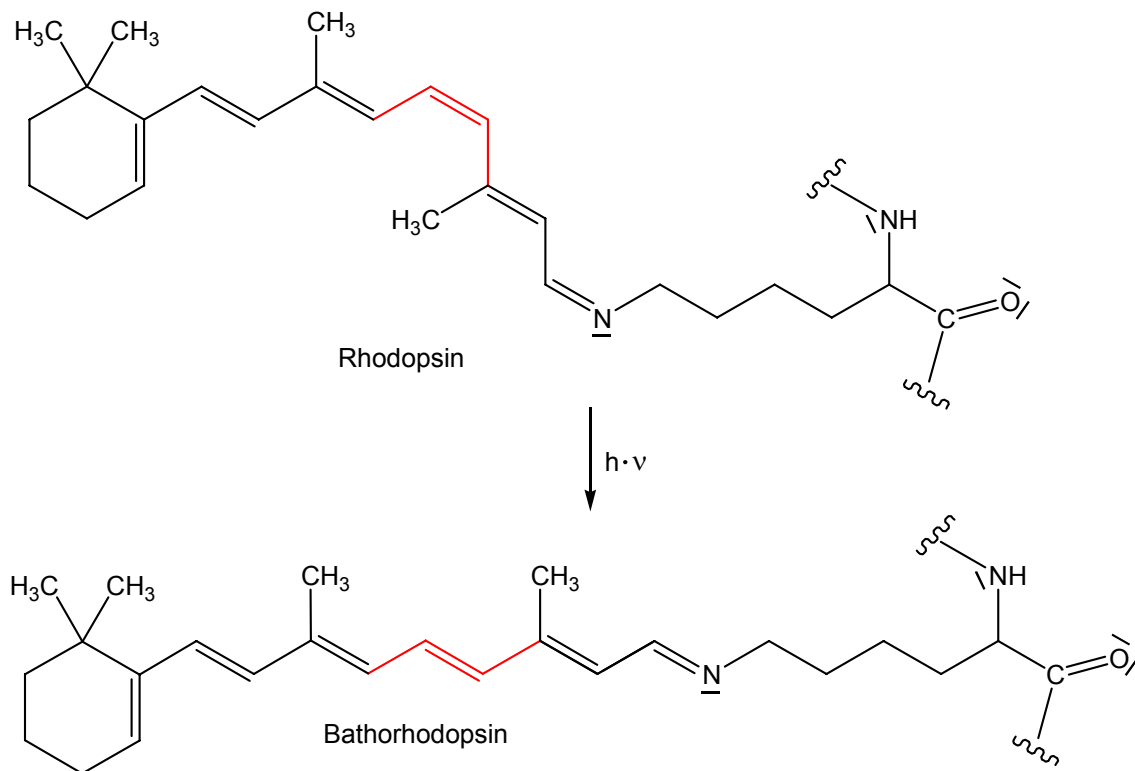
Abb.15 11-*Z*-Retinal

Das 11-*Z*-Retinal spielt eine wichtige Rolle beim Sehprozess des Menschen. Es dient als prosthetische Gruppe und bildet zusammen mit dem Protein Opsin das Rhodopsin, ein Sehpigment im menschlichen Auge. Das Opsin besitzt in seinem aktiven Zentrum die Aminosäure Lysin. Die Aminogruppe des Lysinrestes reagiert mit der Carbonylgruppe des 11-*Z*-Retinal unter Bildung eines Imins.





Das 11-Z-Retinal dient im Rhodopsin als Chromophor und sorgt für eine breite Absorptionsbande im sichtbaren Spektralbereich. Das Absorptionsmaximum des Rhodopsins liegt bei einer Wellenlänge von 500 nm. Bei Lichteinfall kommt es zur Absorption durch das Sehpigment. Damit verbunden ist eine Isomerisierung des 11-Z-Retinal zum all-E-Retinal direkt im Anschluss an die Lichtabsorption.



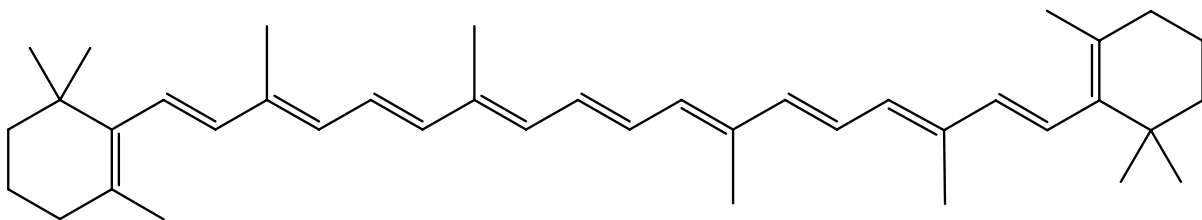
Das bei der Isomerisierung gebildete Bathorhodopsin besitzt eine gespannte all-E-Form des Chromophors. Durch weitere Konformationsänderungen des Retinals und des Proteins wird schließlich eine Enzymkaskade ausgelöst, wobei die Bindung zwischen Opsin und all-E-Retinal hydrolysiert wird. Das all-E-Retinal entfernt sich vom Protein und wird zum all-E-Retinol reduziert, welches anschließend in einer exergonischen Dunkelreaktion wieder zu 11-Z-Retinal oxidiert und isomerisiert wird.

## 5.2 $\beta$ -Carotin (Provitamin A)

### Allgemeines zu $\beta$ -Carotin:

Obwohl Retinol nur in tierischen Produkten enthalten ist, kann die Vitamin A-Versorgung allein durch pflanzliche Produkte gewährleistet werden. Der Grund hierfür sind die Carotinoide, von denen ein Teil als Provitamin A dient und nach der Aufnahme im Körper zu Retinol umgewandelt werden kann.

Die Carotinoide sind Naturfarbstoffe, die in vielen Pflanzen vorkommen, besonders häufig jedoch in farbigen Früchten, Wurzeln und Blättern. Chemisch betrachtet handelt es sich bei den Carotinoiden um Tetraterpene. Sie sind also aus acht Isopreneinheiten aufgebaut, wobei auf beiden Seiten der Kohlenstoffkette je zwei Isopreneinheiten zu einem Ionon-Ring kondensiert sein können. Um biologisch wirksam sein zu können, muss ein Carotinoid über mindestens einen  $\beta$ -Iononring verfügen. Daraus ergibt sich, dass das  $\beta$ -Carotin das Carotinoid mit der höchsten biologischen Wirksamkeit ist, da es über zwei  $\beta$ -Iononringe verfügt, die über neun konjugierte Doppelbindungen – alle in der *E*-Form – miteinander verknüpft sind.



**Abb.16**  $\beta$ -Carotin

Wird der Vitamin A-Haushalt komplett über die Provitamine gedeckt, so empfiehlt die deutsche Gesellschaft für Ernährung eine Aufnahme von ca. 4,8 – 6,0 mg  $\beta$ -Carotin pro Tag. Überdosierungen sind, anders als beim Retinol, im Allgemeinen jedoch nicht bekannt. Wird allerdings über einen Zeitraum von mehr als 30 Tagen mehr als 30 mg täglich aufgenommen, so kommt es zu einer Gelbfärbung der Haut aufgrund von Einlagerungen (Xanthosis).

Provitamin A wurde bereits 1826 erstmals von Wackenroder aus Möhren extrahiert. 1907 wurde von Willstätter zunächst die Summenformel und 1930 durch Paul Karrer (Nobelpreis 1937, s. o.) schließlich die Konstitution ermittelt. Mitte des 20. Jahrhunderts gelang es mehreren Forschern das  $\beta$ -Carotin zu synthetisieren. Seit 1954 wird  $\beta$ -Carotin im großtechnischen Maßstab hergestellt. Aufgrund seiner gelben Farbe wird es auch als gelber Lebensmittelfarbstoff (E160a) verwendet und als Radikalfänger eingesetzt.

## Versuch 6: $\beta$ -Carotin als Radikalfänger

### Chemikalien:

Substanz	Gefahrenzeichen	R-Sätze	S-Sätze
$C_{2}I_{4(s)}$	---	---	---
n-Heptan	F, Xn, N	11-38-50/53-65-67	9-16-29-33-60-61-62
$\beta$ -Carotin-Weichkapseln	---	---	---

### Geräte:

Spatel, Analysenwaage, 2 Becherglas (50 mL), Einwegspritze, Messpipette (20 mL), Kristallisierschale, Magnetrührer, 2 Rührfische, 2 Reagenzgläser mit Stopfen, Tropfpipette, große Küvette mit Einsatz, Projektor

### Durchführung:

0,11 g Tetraiodethen werden in 20 mL n-Heptan gelöst. Dazu wird die Lösung in einem Wasserbad auf maximal 45 °C erhitzt. Anschließend wird der Inhalt einer Weichkapsel (ca. 4 mg  $\beta$ -Carotin) in 10 mL n-Heptan gelöst. Zwei Reagenzgläser werden mit Tetraiodethen-Lösung gefüllt und mit einem Stopfen verschlossen. In das eine Reagenzglas werden zusätzlich einige Tropfen der  $\beta$ -Carotin-Lösung gegeben. Die beiden Reagenzgläser werden dann in eine große, mit Wasser gefüllte Küvette gestellt, die sich im Strahlengang eines Projektors befindet. Es wird nun der Projektor eingeschaltet.

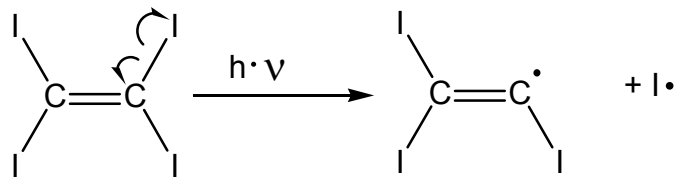
### Beobachtung:

Bereits nach ca. 15 Sekunden kann in dem Reagenzglas ohne  $\beta$ -Carotin eine intensive violette Färbung der Lösung beobachtet werden, während das Reagenzglas mit  $\beta$ -Carotin noch keine Farbänderung zeigt.

### Auswertung:

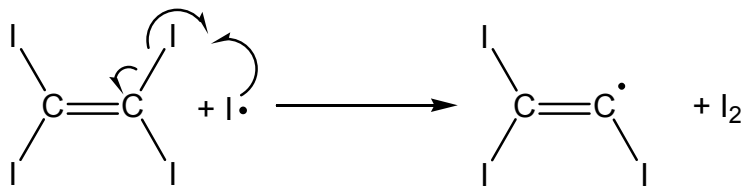
Bei der Reaktion handelt es sich um eine Radikalreaktion. Durch die Belichtung kommt es in der Startreaktion zu einer homolytischen Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Iod-Bindung im Tetraiodethen-Molekül.

Radikalstart:



Das bei dieser Reaktion entstandene Iod-Radikal kann nun in einem nächsten Schritt beispielsweise ein weiteres Tetraiodethen-Molekül angreifen.

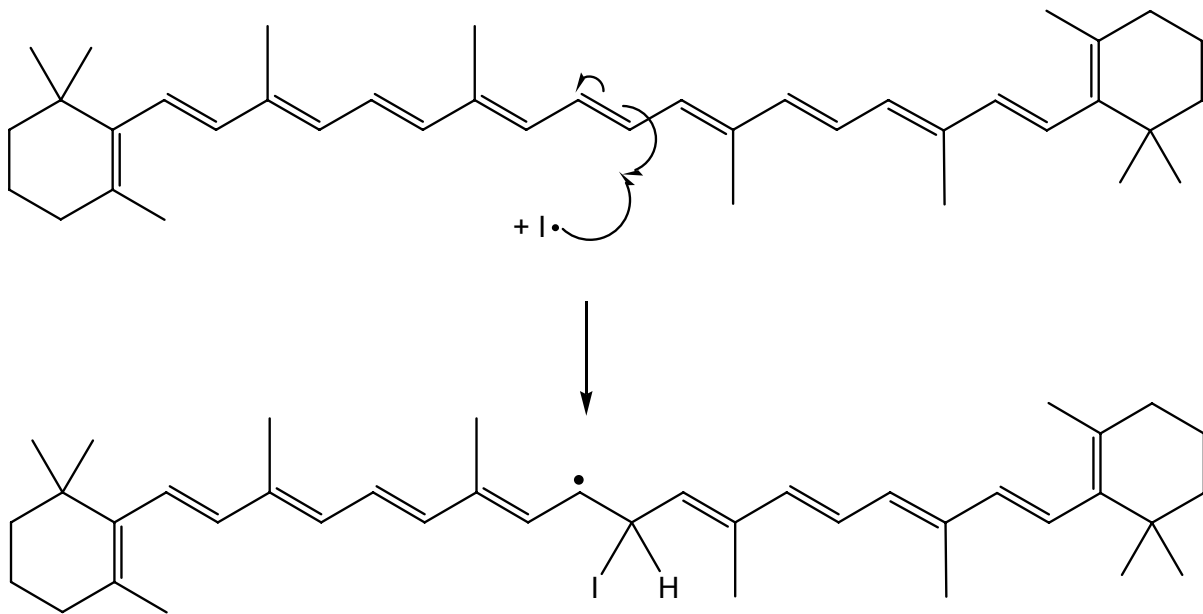
Fortsetzung:



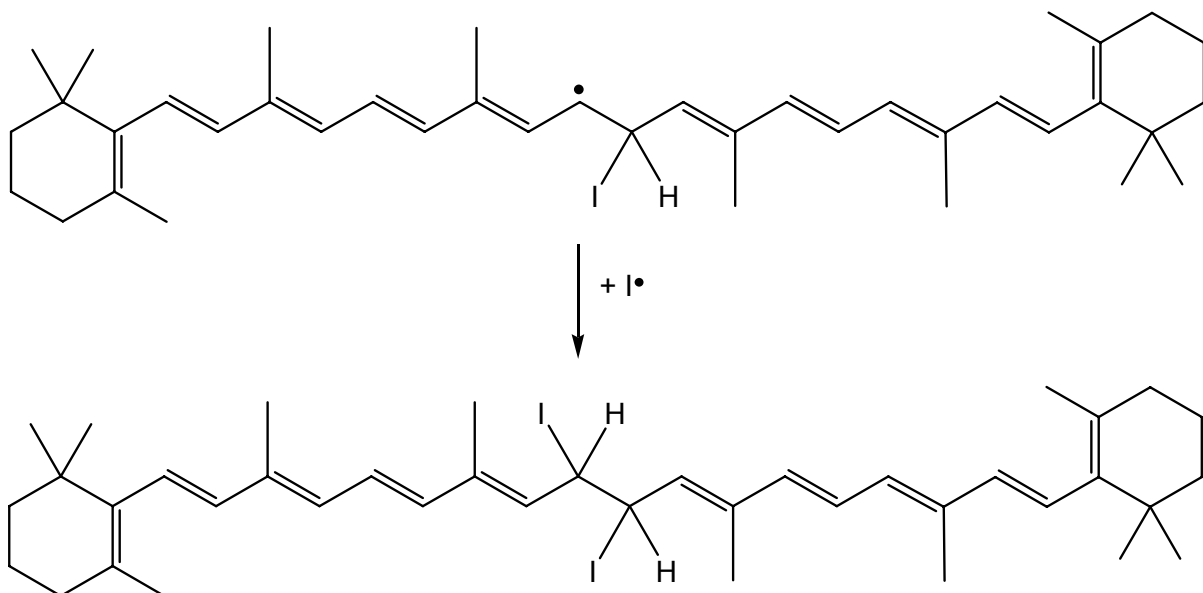
Es kommt hierbei erneut zur homolytischen Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Iod-Bindung und es entsteht  $\text{I}_2$ , welches die violette Farbe der Lösung verursacht.

In dem Reagenzglas, in dem  $\beta$ -Carotin vorhanden ist, kommt es im ersten Schritt ebenfalls zu einer homolytischen Bindungsspaltung der Kohlenstoff-Iod-Bindung im Tetraiodethen-Molekül. Das dabei entstandene Iod-Radikal kann nun aber von einem  $\beta$ -Carotin-Molekül abgefangen werden. Dies geschieht indem das Iod-Radikal die Doppelbindung in der Mitte des Moleküls angreift. Der Grund für den Angriff an dieser Stelle ist, dass das Iod-Radikal als Nucleophil die Doppelbindung mit der geringsten Elektronendichte angreift. Alle anderen Doppelbindungen des  $\beta$ -Carotins haben in unmittelbarer Nachbarschaft eine Methylgruppe, die aufgrund des (+I)-Effektes die Elektronendichte in der Doppelbindung noch weiter erhöht.

Radikalfang:



Die Radikalreaktion verläuft als Additionsreaktion und es entsteht ein Radikal am benachbarten C-Atom der Kohlenwasserstoffkette. Dieses kann potentiell ein weiteres Iod-Radikal aufnehmen, so dass am Ende wieder eine gesättigte Verbindung entsteht.

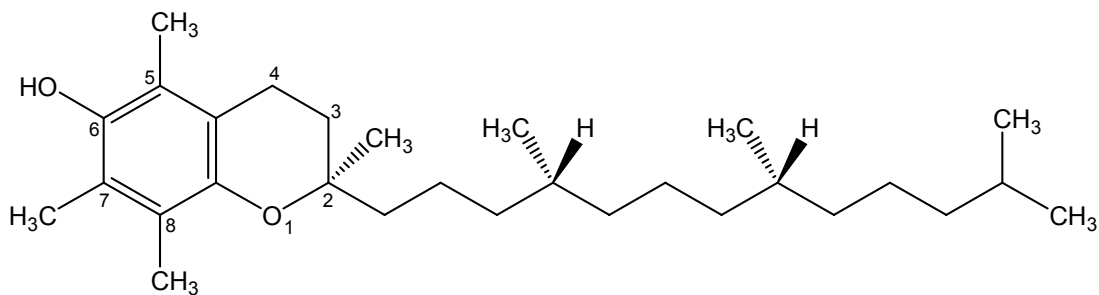


Sind alle  $\beta$ -Carotin-Moleküle in der Lösung „verbraucht“, so bildet sich, ebenso wie im Reagenzglas ohne  $\beta$ -Carotin,  $I_2$  und die Lösung wird auch hier violett.

## 5.3 Tocopherole

### Allgemeines zu den Tocopherolen:

Chemisch betrachtet handelt es sich bei den Tocopherolen (Vitamin E-Komplex) um Substanzen, die sich durch Reste an den Positionen 5, 7 und 8 im Chromanol-System unterscheiden. Zusätzlich besitzen sie in Position 2 eine C<sub>16</sub>-Seitenkette, die bei allen Tocopherolen gesättigt ist. Meist wird  $\alpha$ -Tocopherol als das eigentliche Vitamin E bezeichnet, da es die größte biologische Wirksamkeit besitzt. Es besitzt drei Stereozentren, alle in *R*-Konfiguration.



**Abb.17**  $\alpha$ -(*RRR*)-Tocopherol

Tocopherole kommen vor allem in pflanzlichen Nahrungsmitteln wie Getreide, Nüssen und Samen vor. Darüber hinaus sind sie auch in pflanzlichen Ölen, vor allem in den Keimölen von Weizen und Mais vorhanden. Die deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt Erwachsenen eine Aufnahme von täglich 12 – 15 mg  $\alpha$ -Tocopherol. Dies entspricht in etwa der Aufnahme von 10 g Weizenkeimöl, 60 g Mandeln oder 80 g Margarine.

Isoliert wurde Tocopherol erstmals 1922 aus Weizenkeimöl. Bei Experimenten mit Ratten stellte sich heraus, dass ein Mangel an der isolierten Substanz bei Ratten zu Sterilität führt, die durch Verabreichung dieser Substanz jedoch wieder behoben werden kann. Aufgrund dieser Untersuchung erhielt das Tocopherol seinen Namen, der aus dem Altgriechischen stammt, wo „tokos“ Geburt und „pherein“ soviel wie tragen oder bringen – zusammen also „Geburtbringen“ – bedeutet. Mangelerscheinungen, wie die eben beschriebene sind beim Menschen bisher nicht beobachtet worden, da die gewöhnlich aufgenommene Nahrung von sich aus stets über genügend Vitamin E verfügt. Als unbedenkliche obere Grenze der Vitamin E-Aufnahme gelten 200 mg/Tag. Erst bei sehr viel höheren Dosen (mehr als 800 mg/Tag) kann es zu einer Behinderung beim Zusammenballen der Blutplättchen kommen, wodurch sich bei Verletzungen die Blutungszeit verlängern kann.

## 8 Literatur- und Bildverzeichnis:

### Bücher/Zeitschriften:

- Bässler, Karl Heinz/Lang, Konrad: Vitamine – eine Einführung für Studierende der Medizin, Biologie, Chemie, Pharmazie und Ernährungswissenschaften. Steinkopff-Verlag. Darmstadt. 1981
- Blume, Rüdiger/Bader, Hans Joachim/Plauschinat, Manfred: Neue Aspekte der Ascorbinsäure-Chemie. In: Praxis der Naturwissenschaften-Chemie 10/82. S. 289-298
- Campbell, Neil A.: Biologie. Spektrum, Akademischer Verlag. Heidelberg/Berlin/Oxford. 1997
- Göttel, Werner/Hallstein, Hartmut: Versuche zur Erkennung und Bestimmung von Vitamin C. In: Praxis der Naturwissenschaften-Chemie 10/80 S. 295—304
- Kober, Friedrich: Vitamin C als Lebensmittel. In: Praxis der Naturwissenschaften-Chemie 3/ 37. Jahrgang 1988. S. 27-31
- Koolman, Jan/Röhm, Klaus-Heinrich: Taschenatlas der Biochemie. Georg Thieme Verlag. Stuttgart. 2003
- Kotter, Ludwig: Experimentelle Vitamin Chemie (I) und (II). In: Praxis der Naturwissenschaften 24, 1975. S. 36 – 43. S. 66 – 70
- Laier, Bettina/Pfeifer, Peter: Riboflavin (Vitamin B<sub>2</sub>) – Die Reduktion und Reoxidation – nur ein „Zauberversuch“? In: Naturwissenschaften im Unterricht – Chemie 7 (1996) Nr. 31. S. 28-29
- Pschyrembel – Klinisches Wörterbuch. Walter de Gruyter. Berlin/New York. 1994
- Schlieper, Cornelia A.: Grundfragen der Ernährung. Handwerk und Technik. 2005
- Stryer, Lubert: Biochemie. Spektrum, Akademischer Verlag. Heidelberg/Berlin/Oxford. 1996

### **Internetquellen:**

- <http://dc2.uni-bielefeld.de/> (09.12.2005)
- [http://pharm1.pharmazie.uni-greifswald.de/bednarski\\_web/web/data/personen/Lectures/Vitamine\\_SS02.htm](http://pharm1.pharmazie.uni-greifswald.de/bednarski_web/web/data/personen/Lectures/Vitamine_SS02.htm)
- <http://www.chemie.uni-ulm.de/experiment/edm0108.html> (08.12.2005)
- <http://www.dge.de/> (09.12.2005)
- <http://www.henningsworks.de/Arzneistoffe/arzneistoffe.html> (09.12.2005)
- [http://www.ilct.tugraz.at/virtual\\_teaching/vitamin\\_b1.pdf](http://www.ilct.tugraz.at/virtual_teaching/vitamin_b1.pdf) (08.12.2005)
- <http://www.nobelpreis.org/> (08.12.2005)
- <http://www.sge-ssn.ch/> (09.12.2005)
- <http://www.theochem.uni-duisburg.de/DC/material/carotin/carver.html> (09.12.2005)
- <http://www.uni-hohenheim.de/~wwwin140/vitamine.htm> (09.12.2005)
- [http://www.uni-saarland.de/student/fspharma/downloads/files/seminare/eab/ws\\_04/TTC-Reaktion.pdf](http://www.uni-saarland.de/student/fspharma/downloads/files/seminare/eab/ws_04/TTC-Reaktion.pdf) (09.12.2005)
- <http://www.vitamin-c-forum.de/> (08.12.2005)
- [http://www.vsc-c.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/4/cm/vitamine.vlu/Page/vsc/de/ch/4/cm/vitamine/vorkommen.vscml.html](http://www.vsc.c.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/4/cm/vitamine.vlu/Page/vsc/de/ch/4/cm/vitamine/vorkommen.vscml.html) (09.12.2005)
- <http://www.wikipedia.de> (08.12.2005)

### **Sonstige Quellen:**

- CD Römpp Chemie Lexikon – Version 1.0, Stuttgart/New York: Georg Thieme Verlag 1995
- Emden, Markus: Experimentalvortrag zum Thema Vitamine. WS 2001/2002
- Koert, Ullrich: Grundvorlesung organische Chemie.
- Lehrplan des Landes Hessen



- Rickelt, Elisabeth: Persönliche Aufzeichnungen – Quantitative Bestimmung von Vitamin C in Multivitamin-tabletten.

### **Bilderverzeichnis:**

- <http://www.homepages.hetnet.nl/~b1beukema/vitaminen.html> (08.12.2005)
- <http://www.neuraltherapeuticum.org/biografiasCCB/detalles.aspx?id=7> (08.12.2005)
- [http://www.britannica.com/nobel/micro/187\\_59.html](http://www.britannica.com/nobel/micro/187_59.html) (08.12.2005)
- <http://www.nobelpreis.org/chemie/karrer.html> (08.12.2005)
- <http://www.royal-navy.mod.uk/static/pages/3842.html> (08.12.2005)
- <http://www.nobelpreis.org/chemie/haworth.htm> (08.12.2005)
- [http://www.mathematik.uni-marburg.de/~reuss/Erdferkel/pig-pics/images/15\\_defense-schwein.jpg](http://www.mathematik.uni-marburg.de/~reuss/Erdferkel/pig-pics/images/15_defense-schwein.jpg) (09.12.2005)
- <http://www.vegetarisch-geniessen.com/0503/artikel/saft/> (09.12.2005)
- [http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/20\\_lebensmittel/Karotten.html](http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/20_lebensmittel/Karotten.html) (09.12.2005)
- [http://www.fischverband.de/img/db/pic\\_kabeljau\\_155\\_155\\_60.jpg](http://www.fischverband.de/img/db/pic_kabeljau_155_155_60.jpg) (09.12.2005)
- [http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/20\\_lebensmittel/images/reis\\_parboiled\\_k.jpg](http://www.foodnews.ch/x-plainmefood/20_lebensmittel/images/reis_parboiled_k.jpg) (09.12.2005)
- <http://www.manna.de/hausundgarten/fotos/kartoffeln.jpg> (09.12.2005)
- <http://www.lamotte.de/deutsch/speiseoele2.html> (09.12.2005)
- [http://www.dn-design.de/bilder/portfolio/28\\_zitrone.jpg](http://www.dn-design.de/bilder/portfolio/28_zitrone.jpg) (09.12.2005)
- <http://www.ser.public.lu/maerkte/milch/> (09.12.2005)
- <http://www.lebegesund.de/11/images/prod/max/BROKKOLI-F.jpg> (09.12.2005)