

Organisch-chemisches Praktikum für das Lehramt (LA)

Torsten Lasse

Leitung: Dr. P. Reiß

WS 2008/09

Assistent: Tobias Gerhardt

Schulversuch (Gruppe 10/Chromatographie): Natriumglutamat in Brühwürfeln

Mittels Dünnschichtchromatographie wird der Geschmacksverstärker Natriumglutamat in Brühwürfeln nachgewiesen.

Zeitbedarf

Vorbereitung: 20 min

Durchführung: etwa 20 min

Nachbereitung: 5 min

Chemikalien und eingesetzte Substanzen

Eingesetzte Stoffe	Summenformel	Menge	R-Sätze	S-Sätze	Gefahrenkennzeichnung*	Schuleinsatz
Brühwürfel ¹	-	1	-	-	-	- (unbedenklich)
Petroleumbenzin	-	100 mL	11-51/53-65	9-16-23.2-24-33-61-62	F, Xn, N	SI
Methanol	CH ₄ O	5 mL	11-23/24/25-39/23/24/25	7-16-36/37-45	F, T	SI, Hinweise beachten
Dichlormethan	CH ₂ Cl ₂	5 mL	40	23.2-24/25-36/37	Xn	SI, Hinweise beachten
Ammoniaklösung (w=0,25 %)	NH ₃ *H ₂ O	1 mL	36/37/38	26-36/3739-45	Xi	SI
Natriumglutamat	(NaC ₅ NO ₄ H ₈)	1 Spatelspitze	-	-	-	- (unbedenklich)
Ninhydrin-Lösung (Sprühreagenz) (1%ig in 2-Propanol)	C ₉ H ₆ O ₄ * C ₃ H ₈ O	etwa 2 mL	11-36-67	7-16-23.3-24-26-51	F, Xi	SI

* = nach HessGiss 2006/07

Geräte und Materialien

Mörser und Pistill

¹ Sog. Bio-Brühwürfel enthalten oft kein Natriumglutamat und können daher für den Versuch nicht verwendet werden.

Teebeutel
Hefter
Erlenmeyerkolben 100 mL
Pinzette
Reagenzglas 3x
Reagenzglasständer
Pipette mit Piläusball
DC-Kammer
DC-Papier
Sprühflasche
Magnetrührer mit Thermofühler

Versuchsaufbau

~

Durchführung

In der Vorbereitung wurde ein Brühwürfel zunächst im Mörser zerrieben und in einen entleerten Teebeutel gegeben, der daraufhin mit einem Hefter verschlossen wurde (s. Abb. 1).



Abb. 1: Teebeutel, gefüllt mit Brühwürfel

Der Teebeutel wurde in einen 100 mL Rundkolben gelegt, und es wurden etwa 100 mL Petroleumbenzin hinzugefügt. Der Rundkolben wurde nun für etwa 10 Minuten bei 60 °C im Wasserbad auf einem Magnetrührer (mit Thermofühler) erhitzt (s. Abb. 2). Auf diesem Wege konnte ein entfetteter Brühwürfel gewonnen werden.



Abb. 2: Auskochen des Brühwürfels im Teebeutel

Der Inhalt des Brühwürfels wurde ausgeschüttet (s. Abb. 3), und mit einer Pinzette konnten etwa 25 farblose längliche Natriumglutamat-Kristalle isoliert und in ein Reagenzglas überführt werden (s. Abb. 4).



Abb.3: Entfetteter Brühwürfel

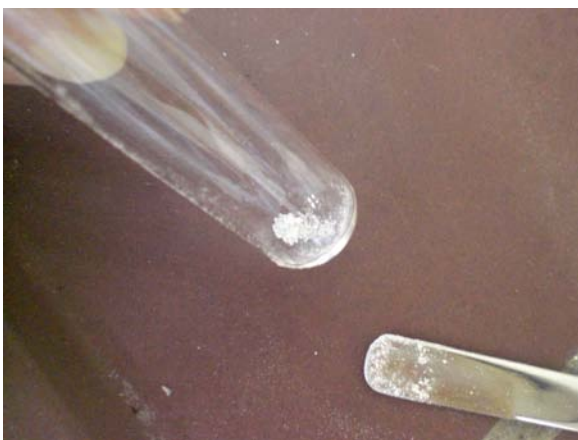


Abb. 4: Etwa 25 Kristalle des Natriumglutamats

In zwei weitere Reagenzgläser wurde jeweils 1 Spatelspitze Brühwürfel und 1 Spatelspitze reines Natriumglutamat (als Referenz) gegeben. Nun wurden in die drei Reagenzgläser jeweils etwa 3 mL Methanol zugefügt und die Ansätze im Wasserbad so lange erhitzt, bis eine vollkommene Lösung der Feststoffe stattgefunden hatte (s. Abb. 5).

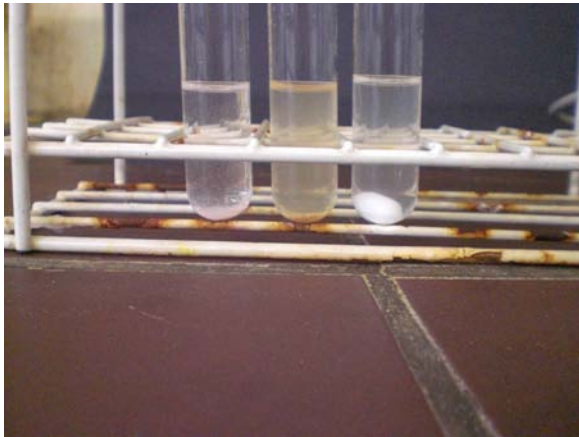


Abb. 5: Lösungen für die Dünnschicht-Chromatographie. Selbst isolierte Natriumglutamat-Kristalle (links), Brühwürfel (Mitte) und reines Natriumglutamat als Referenz (rechts)

Dünnschicht-Chromatographie (DC)

In eine DC-Kammer wurden nacheinander 5 mL Dichlormethan, 5 mL Methanol und 1 mL Ammoniaklösung gegeben. Auf eine DC-Karte erfolgte eine Einzeichnung dreier Startpunkte für die folgende Chromatographie etwa 1 cm oberhalb des unteren Randes der Karte. Nach dem Auftragen von jeweils etwa 3 Tropfen mit der Pasteurpipette auf die Startpunkte wurde die Karte in die Kammer gestellt, sodass für etwa 10 Minuten die Chromatographie stattfinden konnte (s. Abb. 6). Im Anschluss wurde die Karte getrocknet, mit Ninhydrin-Lösung besprüht und kurzzeitig auf der Heizplatte des Magnetrührers erhitzt.



Abb. 6: Durchführung der Dünnschicht-Chromatographie. Auftragungspunkte: Selbst isolierte Natriumglutamat-Kristalle (links), Brühwürfel (Mitte) und reines Natriumglutamat als Referenz (rechts)

Beobachtung

Durch die Ninhydrinfärbung wurden bei allen drei Ansätzen etwa gleiche Banden sichtbar (s. Abb. 7). Weiterhin konnte eine scharf abgegrenzte, weitergelaufene Bande bei der Brühwürfel-Lösung festgestellt werden.

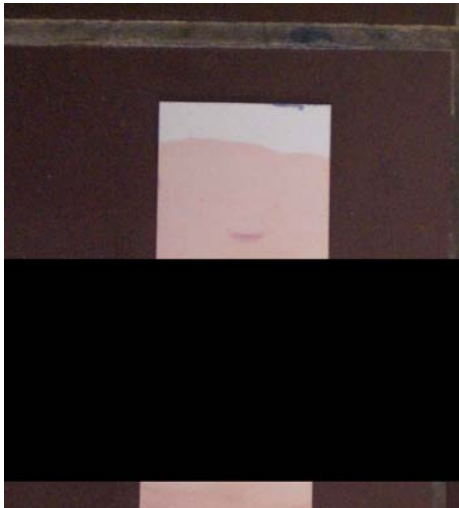


Abb. 7: Ergebnis der Dünnschicht-Chromatographie. Bei allen drei Proben ist eine charakteristische Bande auf gleicher Höhe erkennbar. Bei der Brühwürfel-Lösung ist eine weitere, weiter gelaufene Bande erkennbar. Auftragungspunkte: Selbst isolierte Natriumglutamat-Kristalle (links), Brühwürfel (Mitte) und reines Natriumglutamat als Referenz (rechts)

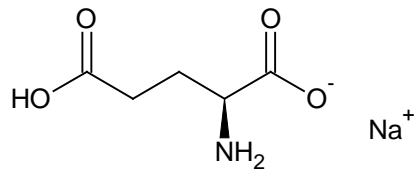
Entsorgung

Alle angefallenen Feststoffe wurden getrocknet im Feststoffabfall entsorgt. Angefallene Lösungen wurden neutralisiert in das Behältnis für organische Lösungsmittelreste gegeben. Die Reste der Ninhydrin-Lösung wurden für weitere Experimente aufbewahrt. Bei Nichtverwendung hätte nach der Neutralisation eine Entsorgung im organischen Lösungsmittelabfall stattgefunden.

Fachliche Analyse

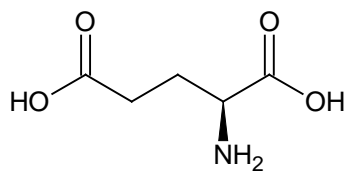
Natriumglutamat ist das Natriumsalz der Glutaminsäure, einer Aminosäure², die neben der typischen Aminogruppe und Carboxylgruppe eine weitere Carboxylgruppe in der Seitenkette trägt. Es handelt sich also um eine Dicarbonsäure.

² Nähere Erläuterungen zum Thema Aminosäuren vgl. Protokoll „Ninhydrin-Färbung von Fingerabdrücken“

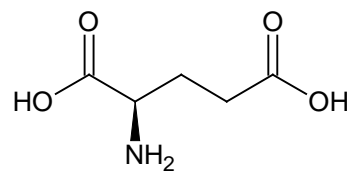


Natriumglutamat

Stereochemisch interessant ist die Tatsache, dass in der Natur vorrangig die L-(+)-Glutaminsäure vorzufinden ist.



L-(+)-Glutaminsäure



D-(-)-Glutaminsäure

Glutaminsäure ist die in der Nahrung mengenmäßig am häufigsten aufgenommene Aminosäure. Sie spielt ebenfalls eine Rolle als Botenstoff bzw. Neurotransmitter im Gehirn.

Natriumglutamat ist heutzutage praktisch allgegenwärtig als Bestandteil von u.a. Gewürzmischungen, Saucen und Fertiggerichten – vor allem in der asiatischen Küche (etwa Soja-Sauce). Besonders bekannt in Deutschland ist das sogenannte Fondor (s. Abb. 8), eine Würzmischung, die einen sehr hohen Anteil dieses Stoffes enthält.



Abb.8: Fondor (Quelle: http://www.kk.com.br/kk_guia/imgs/produtos/maggi_fondor.jpg)

Aber auch in Brühe, bzw. den hier verwendeten Brühwürfeln, ist ein hoher Anteil vorhanden. Das Natriumglutamat dient in all diesen Produkten als Geschmacksverstärker, d.h. es verstärkt den Eigengeschmack von z.B. Fleisch- und Fischgerichten, aber auch von Snacks wie etwa Kartoffelchips. Dabei hat es jedoch einen derart starken Eigengeschmack, dass die Japaner sogar eine eigene Geschmacksrichtung danach benannt haben („Umami“). Bei aufmerksamem Verzehr kann in der Tat nicht nur eine Geschmacksverstärkung der ‚normalen‘ Inhaltsstoffe, sondern auch der m.E. enorme Eigengeschmack dieses Stoffes wahrgenommen werden.

Die Glutamate tragen als Lebensmittelzusatzstoffe die Kennzeichnung E 620 – E 625. Das Natriumglutamat wird als Mononatriumglutamat mit der Kennzeichnung E 621 deklariert.

Da das Natriumglutamat heutzutage in vielen Lebensmitteln vorhanden ist, birgt es den Nachteil, dass man bei Nicht-Vorhandensein das Lebensmittel als geschmacklich fade empfindet. Zudem birgt der Stoff gewisse Risiken. Ihm wird nachgesagt, neurotoxisch zu wirken und Epilepsien auszulösen. Die so genannte Glutamat-Unverträglichkeit („Chinarestaurant-Syndrom“) beschreibt eine Vergiftung mit Glutamaten, die auf eine immunologische Reaktion des Körpers zurückzuführen ist. Jedoch sind bis heute etwaige Gesundheitsrisiken nicht ausreichend wissenschaftlich belegt, sodass meistens lediglich Indizien für derartige Gefahren bestehen.

Dünnschichtchromatographie (DC oder TLC, Thin Layer Chromatography)

Zur so genannten Dünnschichtchromatographie werden (je nach zu untersuchender Stoffgruppe) häufig Kieselgelplatten verwendet. Meist findet sich hierbei das Kieselgel in Form einer stationären Phase als dünne Schicht (etwa 0,2 mm) auf einer Glasplatte oder einer Aluminiumfolie. Die zu analysierenden Proben werden meist in einem leicht flüchtigen Lösungsmittel gelöst. Vielfach wird hierfür Chloroform oder Hexan verwendet.

Durch ein geeignetes Mischungsverhältnis von polaren und unpolaren Lösungsmitteln (und damit der Gesamtpolarität des Laufmittels) lässt sich die Wanderungsgeschwindigkeit abhängig von den polaren Eigenschaften der zu untersuchenden Probe und damit die Polarität des Laufmittels steuern. In diesem Fall wurde eine 1:1 Mischung aus Dichlormethan (unpolar) und Methanol (polar) sowie wenig Ammoniaklösung (polar) verwendet. Dies erwies sich für die erforderliche Auftrennung als geeignet.

In die Dünnschichtchromatographie-Kammer (DC-Kammer) wird nun Laufmittel gegeben, sodass die später vertikal eingesetzte Kieselgelplatte nur im untersten Bereich mit der Lösung in Kontakt tritt. Die zu untersuchende Probe wird nun punktuell auf einem zuvor markierten Startpunkt (ggf. mehrfach) auf die Platte aufgetragen und schließlich (nach der Trocknung der Platte) in die Kammer eingesetzt. Damit einzelne Banden später nicht ineinanderlaufen, sollte ein Abstand von 0,5–1 cm zwischen verschiedenen Probenauftragungen gewahrt werden.

Zudem ist es wichtig, dass die Auftragszone anfänglich nicht mit dem Laufmittel in Kontakt tritt, da ansonsten die Gefahr einer Eluierung in das Laufmittel besteht. Dementsprechend muss der Pegel des Laufmittels in der Kammer gewählt werden.

Förderlich scheint in vielen Fällen eine homogene Sättigung der Atmosphäre der DC-Kammer (mit dem Dampf des Laufmittels) zu sein, sodass die Kammer häufig durch eine Glasplatte

abgedeckt wird und zusätzliche Filterpapierstreifen in die Kammer gestellt werden (hier nicht durchgeführt).

Infolge der Kapillarkräfte beginnt nach Beginn der Chromatographie das Laufmittel in der Kieselgelschicht nach oben zu wandern. Dabei werden einzelne Komponenten des aufzutrennenden Gemisches entsprechend einer Affinität zur stationären Phase unterschiedlich stark vom Laufmittel mitgeschleppt (mobile Phase). Dabei gilt im Allgemeinen, dass im unpolaren Laufmittel polare Substanzen weniger gut transportiert werden (und umgekehrt).

Die entstehenden Banden können im einfachsten Fall unmittelbar beobachtet und zusätzlich farblich voneinander unterschieden werden (so z.B. bei der Auftrennung des Chlorophylls). Vielfach beinhalten die Kieselgelplatten einen Fluoreszenzmarker, der unter entsprechender Anregung die Banden sichtbar macht.

Zum Vergleich verschiedener Dünnschichtchromatographien können bei Bedarf die so genannten R_f -Werte (Retentionsfaktor, ‚ratio of fronts‘) berechnet werden. Dabei wird das Verhältnis der Wanderung(sstrecke) der aufgetragenen Substanz (S) zur Wanderungsstrecke des Lauf- bzw. Lösungsmittels (L) in Beziehung gesetzt.

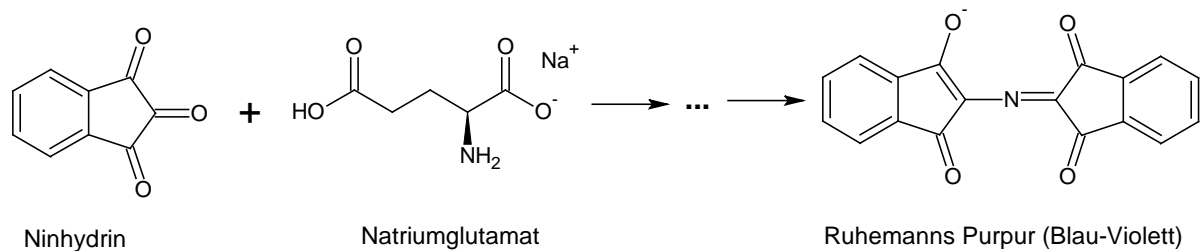
$$R_f = S/L$$

Bei der Verwendung des gleichen Laufmittels (sowie gleicher DC-Platten) können die R_f -Werte daher als Stoffkonstanten angesehen werden.

In diesem Fall wurde für die Visualisierung der Banden die spezifische Färbung von Aminosäuren durch Ninhydrin ausgenutzt. Dabei reagiert das Ninhydrin mit dem Natriumglutamat (und einem weiteren Molekül Ninhydrin) zum blau-violetten „Ruhemanns Purpur“³.

Das selbst isolierte Natriumglutamat erzeugte eine Bande auf gleicher Höhe wie das (reine) Natriumglutamat, das als Referenz eingesetzt wurde. Die Brühwürfel-Lösung zeigte diese Bande ebenfalls, sodass als Fazit die erfolgreiche Isolierung des Natriumglutamats beobachtet werden konnte. Interessanterweise zeigte die Brühwürfel-Lösung eine zusätzliche, weiter gelaufene distinkte Bande, die auf eine oder mehrere weitere Aminosäure(n) in dem Brühwürfel hindeutet – vermutlich auf einen Bestandteil der Würze des Brühwürfels. Vereinfacht lässt sich folgende Übersicht darstellen:

³ Nähere Erläuterungen zur Ninhydrin-Färbung im Protokoll „Ninhydrin-Färbung von Fingerabdrücken“.



Methodisch-didaktische Analyse

Der Versuch eignet sich zur Demonstration eines chromatographischen Verfahrens und stellt zudem durch den Nachweis des Natriumglutamates als nahezu omnipräsentem Geschmacksverstärker einen Bezug zum Alltag her.

Als Natriumsalz der Glutaminsäure ist mit dem Natriumglutamat somit der Bezug zum Themengebiet der Aminosäuren gegeben, welches nach Lehrplan in der Jahrgangsstufe 11 (Grund- und Leistungskurse) behandelt wird. Die Dünnschichtchromatographie wird lehrplanmäßig bereits in der Jahrgangsstufe 7 behandelt, Hintergrundinformationen zum Verfahren können jedoch problemlos im Rahmen des Versuches rekapituliert werden. Das Vorwissen der Schüler sollte den Aufbau der Aminosäuren (Peptidbindungen) beinhalten, ist jedoch für das Verständnis des Versuches zwar anzuraten, aber nicht zwingend erforderlich.

Der begrenzte Aufwand des Versuches ermöglicht eine Durchführung im Rahmen einer Einzelstunde. Durch die notwendige Entfettung des Brühwürfels sowie die aufwändige Isolierung der Natriumglutamat-Kristalle mit der Pinzette sind für die Vorbereitung etwa 20 Minuten einzuplanen. Die Durchführung erfordert etwa 20 Minuten, wobei die Wartezeit während der Chromatographie (sowie der Ninhydrin-Färbung) sinnvoll durch die Vermittlung theoretischer Hintergrundinformationen seitens der Lehrperson genutzt werden kann. Für die Nachbereitung sind etwa 5 Minuten einzuplanen. Die verwendeten Chemikalien sollten an jeder Schule vorhanden sein. Ninhydrin sollte aufgrund der Anwendungsmöglichkeiten in vielen Schulversuchen in keinem Chemikalienlager einer Schule fehlen und daher bei Nicht-Vorhandensein (nach)bestellt werden.

Der erste Teil des Versuches ist auch als Schülerversuch unproblematisch, bei der Durchführung der Chromatographie sollte jedoch zumindest auf die Gefahren durch die Verwendung des giftigen Methanols (und Dichlormethans) hingewiesen werden.

Die Isolierung der einzelnen Natriumglutamat-Kristalle erwies sich als relativ langwierig. Entscheidend für die erfolgreiche Überführung in ein Reagenzglas ist eine sehr feine Pinzette, da ansonsten die winzigen Kristalle nicht stabil aufgenommen werden können.

Um die Chromatographie-Ergebnisse (noch) deutlicher erscheinen zu lassen, wäre in Zukunft eine etwas längere Laufzeit der Chromatographie zu erproben. Dies würde gegebenenfalls auch die Auflösung der chromatographischen Banden erhöhen. Die isolierte, einzelne Bande bei der Brühwürfel-Lösung kann vermutlich nur durch Methoden identifiziert werden, die den Rahmen eines Schulversuches – zumindest mit der hier angedachten Zielsetzung – sprengen würden.

Literatur

Peter K , Vollhardt C, Schore NE: Organische Chemie, 4. Auflage, 1. korrigierter Nachdruck 2007, Wiley-VCH, Weinheim

Lottspeich F, Zorbas H (Hrsg.): Bioanalytik, 1998, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin

Idee aus:

http://www.chids.de/dachs/praktikumsprotokolle/PP0008Identifizierung_von_Naglutamat_mittels_DC.pdf; Zugriff am 11.12.08

Weitere Quellen:

Hessisches Gefahrstoffinformationssystem Schule; <http://www.hessgiss.de/>; Version 2006/07

Hessischer Lehrplan Chemie G8; unter <http://www.kultusministerium.hessen.de/>; Zugriff am 15.12.08

<http://nutrition.a-w.de/dge/ger/lexikon/LN001550.htm>; Zugriff am 04.03.09

<http://www.eufic.org/article/en/page/FTARCHIVE/artid/monosodium-glutamate/>; Zugriff am 04.03.09