

Unterrichts- und Lernmaterialien geprüft vom PARSEL-Konsortium  
im Rahmen des EC FP6 geförderten Projekts: SAS6-CT-2006-042922-PARSEL

Kooperierende Institutionen und Universitäten des PARSEL-Projekts:



**Anregungen für Schülerinnen und Schüler:**

## Chemie (in) der Extra-Klasse: Bausteine des Lebens - eine Einführung in die Biochemie der Proteine

Ein Modul für den naturwissenschaftlichen Unterricht – insbesondere für den Unterricht  
im Fach Chemie – der Jahrgangsstufen 11 bis 13



### Zusammenfassung

Alles was wir essen, hat einmal gelebt oder stammt von einem lebendigen Organismus – also von Pflanzen oder Tieren. Und alles was lebt, ist aus den gleichen biochemischen Grundbausteinen aufgebaut; vor allem aus Kohlenhydraten, Fetten, Eiweißen und Nukleinsäuren. Diese Biomoleküle machen also im Wesentlichen unsere Nahrung aus und gehören so in ganz unterschiedlicher Ausführung zu unserem Speiseplan. Im PARSEL-Modul **„Bausteine des Lebens – eine Einführung in die Biochemie“** habt ihr die Möglichkeit, mit eben den „Bausteinen des Lebens“ zu experimentieren, und dabei zentralen Fragen wie „Wie gelangt eigentlich Hühnereiweiß in meine Muskeln?“ auf den Grund zu gehen. Ihr werdet die Verdauung von Eiweißen im menschlichen Organismus untersuchen: Dabei werdet ihr u.a. verdünntes Hühnereiweiß in ein Dialysegefäß gegeben und ein Enzym (Protease) hinzu geben, welches das Eiweiß aufspaltet. Die von dem Polymer abgetrennten Aminosäuren sind klein genug, um durch die Poren eines Dialysegefäßes zu gelangen, so dass ihr die Aminosäuren isolieren könnt. Anschließend werdet ihr die gewonnen Aminosäuren durch UV-Spektroskopie detektieren. Dieser experimentelle Aufbau und die Ergebnisse aus den Versuchen kann man auf die Vorgänge im menschlichen Organismus übertragen, um z.B. Stoffwechselprozesse zu erklären.

# Chemie (in) der Extra-Klasse: Bausteine des Lebens - eine Einführung in die Biochemie der Proteine

Arbeitsbogen von: .....

## 1. Qualitativer Nachweis von Proteinen in Milch und Kartoffeln

**HINWEIS:** *Innerhalb einer Zweiergruppe führt eine Person Versuch a) und die zweite Person die Versuche b) und c) durch.*

### Materialien:

- 3 x 150 ml Bechergläser (weit)
- Magnetheizrührer
- Rührfisch
- kleiner Glastrichter
- 2 Faltenfilter
- Stativ mit Rundhalterung
- 4 Reagenzgläser
- Reagenzglasständer
- Feinwaage, Trockenschrank (nur für Versuch b)
- kleiner Spatel
- Glasstab
- Pasteurpipette
- Wasserbad (100°C)
- einige Ninhydrin-Kristalle
- 65 % Salpetersäure
- 100 ml Vollmilch
- ca. 0.5 ml 20 % Zitronensäure

### 1.1 Proteinnachweis in der Milch:

#### Durchführung:

100 ml Milch werden in ein beschriftetes Becherglas (I) gegeben und so lange unter Rühren mit Zitronensäure versetzt, bis kein weiterer Niederschlag mehr entsteht.

Die Mischung wird über einen Faltenfilter und einen am Stativ befestigten Glastrichter in ein zweites Becherglas (II) filtriert (Rückstand I aufheben!).

Das Filtrat im Becherglas II wird auf dem Heizrührer so lange erhitzt, bis kein weiterer Niederschlag mehr entsteht. Auch dieser Niederschlag (Rückstand II) wird abfiltriert.

Kleine Mengen der Rückstände I und II werden **in je zwei** Reagenzgläser überführt; einmal mit einem Tropfen Salpetersäure und einmal mit einigen Kristallen Ninhydrin versetzt und nach Zugabe von etwas destilliertem Wasser erhitzt (dauert ein bisschen, Wasserbad muss kochen!).

**Beobachtungen:**

---

---

---

**Auswertung:**

---

---

---

---

---

**1.2 Quantitative Proteinbestimmung in der Milch:**

**Durchführung (Fortsetzung):**

Die beiden Faltenfilter werden vor dem Versuch gewogen. Durchführung wie a bis zur Filtration des zweiten Niederschlages.

Beide Niederschläge werden samt Filterpapier im Trockenschrank bei 50°C vollständig getrocknet und anschließend wird die Masse erneut bestimmt.

**Beobachtung:**

Niederschlag I = \_\_\_ g entspricht \_\_\_ g Protein/ 100 ml Milch

Niederschlag II = \_\_\_ g entspricht \_\_\_ g Protein/ 100 ml Milch

**Auswertung:**

---

---

---

### 1.3 Woher kommt der weiße Schaum beim Kartoffeln kochen?

**zusätzliche Materialien:**

- 600 ml Becherglas
- 2 mittelgroße Kartoffeln
- Spatellöffel
- kleiner Spatel
- 2 Reagenzgläser
- Reagenzglasständer
- Glasstab
- 

**Durchführung:**

Zwei mittelgroße geschälte Kartoffeln werden in einem großen Becherglas so lange gekocht, bis auf dem Kochwasser weißer Schaum schwimmt.

Der Schaum wird abgeschöpft, auf zwei beschriftete Reagenzgläser aufgeteilt und mit Ninhydrin auf Proteine untersucht (siehe a).

Im zweiten Reagenzglas wird Salpetersäure zum Schaum dazugegeben, erhitzt, nach der Farbveränderung etwas gekühlt und mit einigen Tropfen 2 N NaOH versetzt.

**Beobachtungen:**

---

---

**Auswertung:**

---

---

---

---

---

Literaturhinweise:

Vers. 1.1: verändert nach: [www.ueg-leer.de/Matnat/Biologie/milch2.htm](http://www.ueg-leer.de/Matnat/Biologie/milch2.htm)

Vers. 1.2: verändert nach: <http://cc.upb.de/studienarbeiten/seidel/allgem-chem/versuche/kartoffel-st.html>

## 2. Kalorimetrische Methode zur quantitativen Proteinbestimmung

Aufgabe: Ermittle den Proteingehalt von Bananen und Eiklar!

### Materialien:

- Albumin-Lösung (20 mg/ml) (benötigt werden 3,6 ml pro Versuchsreihe)
- Biuret-Reagenz:  
1.5 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  und 6 g K-Na-tartrat in 500 ml dest. Wasser lösen, unter Rühren 300 ml 10 %ige (w/v) NaOH-Lösung zufügen und auf 1 l mit dest. Wasser auffüllen (50 ml Reagenzlösung werden pro Versuchsansatz benötigt)
- 1 Banane
- 1 Eiklar
- 24 große Reagenzgläser
- Permanentstift
- Vortex
- elektrische Pumpe mit Vakuumschlauch
- Saugflasche mit Nutsche und Saugring
- verstellbare Abwurfpipetten (100  $\mu\text{l}$ , 200  $\mu\text{l}$  und 1 ml) mit passenden Spitzen
- Rundfilter
- 10 ml Glaspipette mit Peleusball
- Stoppuhr
- Photometer
- 100 ml Becherglas
- Gabel
- Millimeterpapier, Bleistift, Lineal

### Durchführung (Teil I): Herstellung der Albumin Eichlösungen

14 Reagenzgläser werden beschriftet (siehe Tabelle) und jeweils zwei wässrige Lösungen mit folgenden Albuminmengen hergestellt (Doppelbestimmung):

Reagenzglas Nr.	0/0a	1/1a	2/2a	3/3a	4/4a	5/5a	6/6a
Albuminkonz./ $\mu\text{l}$ Albumin	0	1	2	3	4	5	6
	0	50	100	150	200	250	300

Alle Reagenzgläser werden mit destilliertem Wasser auf das Gesamtvolumen von 500  $\mu\text{l}$  aufgefüllt und gevortext.

### Durchführung (Teil II): Herstellung der Probelösungen

- a) Eiklar: Eiklar 1:10 mit Wasser verdünnen (1 ml Eiklar und 9 ml dest. Wasser), mischen, 100  $\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{l}$  und 500  $\mu\text{l}$  jeweils in einem Reagenzglas auf 500  $\mu\text{l}$  mit destilliertem Wasser auffüllen und vortexen (doppelte Ansätze, d.h. insgesamt 6 Ansätze; Reagenzgläser beschriften!!!)
- b) Banane: ca.  $\frac{1}{2}$  Banane wiegen, in einem Becherglas mit einer Gabel zerquetschen und mit 10 ml destilliertem Wasser versetzen; Gemisch homogenisieren und über eine Nutsche unter Vakuum filtrieren; von dem Filtrat 100  $\mu\text{l}$ , 250  $\mu\text{l}$  und 500  $\mu\text{l}$  jeweils in einem Reagenzglas auf 500  $\mu\text{l}$  mit destilliertem Wasser auffüllen und vortexen (doppelte Ansätze, d.h. insgesamt 6 Ansätze; Reagenzgläser beschriften).

### Durchführung (Teil III): Konzentrationsbestimmung

In jedes Reagenzglas werden nun 2,5 ml Biuret-Reagenz pipettiert, die Lösung im Vortext-Gerät gemischt und 20-30 min bei Raumtemperatur stehen gelassen. Die Absorption wird bei 540 nm gegen den Leerwert (0 mg Albumin/ml) bestimmt und die Absorptionswerte werden in der Tabelle (umseitig) notiert.

#### Beobachtung:

---



---

Probe	1. Bestimmung	2. Bestimmung
0 mg Albumin		
1 mg Albumin		
2 mg Albumin		
3 mg Albumin		
4 mg Albumin		
5 mg Albumin		
6 mg Albumin		
100 µl Eiklar (1:10)		
250 µl Eiklar (1:10)		
500 µl Eiklar (1:10)		
100 µl Banane (1: )		
250 µl Banane (1: )		
500 µl Banane (1: )		

#### Auswertung

Die Proteinmengen der Eichlösungen werden gegen die Absorption bei 540 nm aufgetragen (nutze dazu das Programm Excel oder das Millimeterpapier!) und aus dem Graph die Proteinkonzentration im Eiklar und in der Banane abgelesen (Graph auf die Rückseite des Blattes kleben).

- Eiklar enthält \_\_\_\_\_ mg Protein pro 100 g Eiklar.
- Bananen enthalten \_\_\_\_\_ mg Protein pro 100 g Banane.

### 3. Nachweis des Aufbaus der Proteine im Eiklar aus niedermolekularen Bestandteilen mittels enzymatischer Spaltung

#### **Materialien:**

- Eiklar aus einem Hühnerei
- 10 ml Protease -Lösung (0,45 mg/ml in Phosphatpuffer)
- 0,1 M Phosphatpuffer pH 7,5  
(pro Versuch werden 180 ml benötigt; 6 Teile 0,1 M  $K_2HPO_4$  und 1 Teil 0,1 M  $KH_2PO_4$ )
- verstellbare Abwurfpipette mit passenden Einmalspitzen (1ml)
- 2 kleine Bechergläser (10 ml)
- UV-Spektrometer
- Schere
- Einmalhandschuhe
- 3 x 100 ml Bechergläser
- 250 ml Becherglas
- Dialyseschlauch
- Magnetrührer und Magnetfisch

#### **Durchführung:**

*Die Ansätze I, II und III müssen gleichzeitig angesetzt werden!*

Ausreichend Dialyseschlauch wird für 10 min in Wasser (250 ml Becherglas) eingeweicht und an einem Ende zugeknotet.

#### **Durchführung (Teil I):**

In den Dialyseschlauch werden 3 ml Eiklar(hochviskos, Pipettenspitze abschneiden) und 1 ml Protease-Lösung gegeben und gut gemischt („kneten“).

Nun wird das zweite Ende des Dialyseschlauchs zugeknotet oder mit einer Klammer geschlossen und der Dialyseschlauch in ein Becherglas mit 60 ml Phosphatpuffer gegeben.

Das Becherglas wird auf den Magnetrührer gestellt und die Lösung stark gerührt. Nach 0, 15, 30, 45 und 60 min werden jeweils 3 ml der Außenlösung entnommen und bei 280 nm die Extinktion bestimmt.

#### **Durchführung (Teil II):**

Wie I jedoch ohne Eiklar, stattdessen 3 ml Pufferlösung in den Dialyseschlauch füllen (Kontrolle 1)

#### **Durchführung (Teil III):**

Wie I jedoch ohne Proteaselösung, stattdessen 1 ml Phosphatpuffer in den Dialyseschlauch füllen (Kontrolle 2)

**Beobachtung:**

---

---

Zeitpunkt	Extinktion a)	Extinktion b)	Extinktion c)
0 min			
15 min			
30 min			
45 min			
60 min			

**Auswertung:**

Die Extinktion wird in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen (Grafik auf die Rückseite kleben).

Erklärung des Versuchsergebnisses:

---

---

---

---

---

---

**Literaturhinweise:**

Grundkurs Tierphysiologie; Teil Biochemie und Stoffwechselfysiologie der FU Berlin im Fach Biologie; 2001.