

1.5 Nachweisreaktionen für Fette und Bestimmung von Iodzahl und Verseifungszahl

Fette sind neben Proteinen und Kohlenhydraten eine wichtige Stoffgruppe lebender Materie. Im Gegensatz zu den Proteinen und Kohlenhydraten lösen sie sich jedoch nicht in Wasser. Fette gehören zur Stoffklasse der Lipide. Die hydrophoben Eigenschaften sind ein gemeinsames Merkmal dieser Verbindungen. Eine Möglichkeit zur Einteilung der Lipide gibt folgende Tabelle wieder:

Lipide		
neutral		polar (Lipoide)
hydrolisierbar: Fettsäure-Derivate	nicht hydrolisierbar: Isopren-Derivate	Phospholipide Glycolipide
Fette Wachse	Terpene, Carotinoide, Steroide, fettlösliche Vitamine	Sphingolipide

Lipide findet man u.a. als Phospholipide in der Membran tierischer Zellen. Fette dienen dem Organismus als Energielieferant und -speicher, als Schutzmantel für Organe (Leber, Niere) oder als Wärmeisolator.

Aufgabenstellung

Mit den bereitgestellten Untersuchungsmaterialien sind die Nachweisreaktionen gemäß Versuchstabelle durchzuführen sowie die Verseifungszahl und die Iodzahl zu bestimmen.

Untersuchungsmaterialien: Öl, Cholesterin, Eigelb

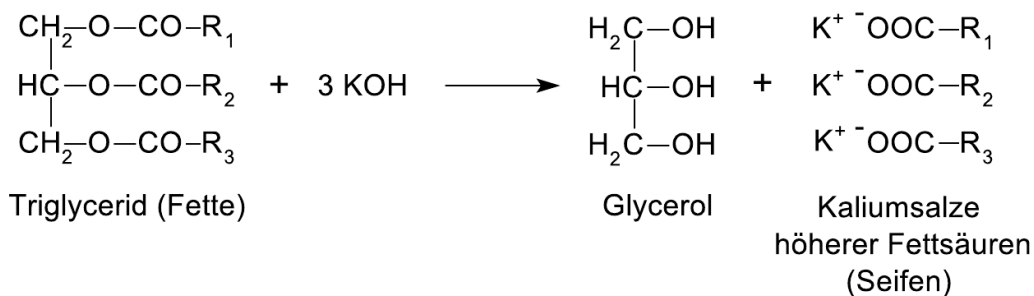
Stoffklasse	Nachweisreaktion
Lipide	Verseifungszahl Iodzahl Cholesterin-Nachweis nach SALKOWSKI und LIEBERMANN

a) Löslichkeitsuntersuchungen

Durchführung: Zu 2 ml der nachfolgenden Lösungsmittel (Ethanol, Aceton, Petrol-ether, Chloroform, Toluol, Wasser) wird ein Tropfen Öl gegeben, anschließend geschüttelt und die Löslichkeit beobachtet.

b) Verseifung der Fette

Prinzip: Fette sind Ester und werden mittels Laugen in Glycerin und die Salze der Fettsäuren (Seifen) gespalten („Verseifung“).



Durchführung: Man versetzt 5 Tropfen Öl mit 10 ml alkoholischer Kalilauge (Schutzbrille!) und erwärmt 2 min im siedendem Wasserbad, kühlt ab und verteilt die Lösung auf 4 Reagenzgläser. Man gibt zum

1. Glas 2 ml Wasser
2. Glas 1 ml 2%ige CaCl₂-Lösung
3. Glas 0,3 ml 5%ige Bleiacetat-Lösung (Vorsicht, Gift!)
4. Glas 2 M Schwefelsäure (tropfenweise)

Es bilden sich die Kaliumseife, die Calcium- und Bleiseife bzw. die freie Fettsäure. Bleihaltige Abfälle werden getrennt gesammelt!

Reagenzien:

- 2 M alkoholische Kalilauge
- 2 M Schwefelsäure
- 2%ige CaCl₂-Lösung
- 5%ige (CH₃COO)₂Pb-Lösung

c) Bestimmung der Verseifungszahl

Prinzip: Die Verseifungszahl gibt die Menge an Lauge (in mg KOH) an, die bei der Hydrolyse von 1 g Fett zur vollständigen Verseifung der Fettsäuren verbraucht wird. Sie liefert zugleich einen Anhaltspunkt über die mittlere Kettenlänge der am Aufbau des Fettes beteiligten Fettsäuren. Sie erfasst sowohl die freien als auch die veresterten Säuren in einem Fett.

Durchführung: Etwa 2 g der Fettprobe werden in einem speziellen Probengläschen exakt eingewogen (Analysenwaage), in einen 250-ml-Erlenmeyerkolben mit Schliff



überführt und mit genau 25 ml ethanolischer Kalilauge (Schutzbrille!) versetzt. Nach Zugabe eines Rührfisches und Aufsetzen eines Rückflusskühlers wrd dieses Gemisch 30 min. auf der Heizplatte zum Sieden erhitzt. Anschließend wird die noch warme Lösung mit einigen Tropfen Phenolphthalein versetzt und mit Salzsäure bis zur Entfärbung des Indikators titriert. Zusätzlich ist ein Blindversuch vorzunehmen. Berechnung der Verseifungszahl:

$$VZ = \frac{(b-a) 28,05}{E}$$

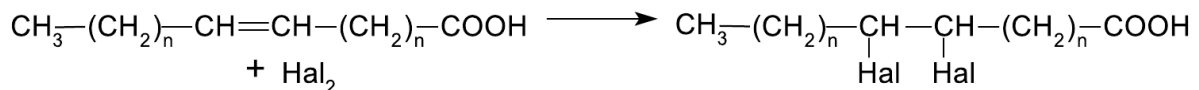
- a verbrauchte Salzsäure zur Rücktitration [ml]
 b verbrauchte Salzsäure im Blindversuch [ml]
 E Einwaage [g]

Reagenzien:

- 0,5 M ethanolische KOH (Ethanol > 90%)
- 0,5 M HCl
- Phenolphthaleinlösung

d) Bestimmung der Iodzahl

Prinzip: Die Reaktionsfähigkeit sowie die Konsistenz der Fette wird maßgeblich durch den Sättigungsgrad der Fettsäuren beeinflusst. Durch Wasserstoffanlagerung (Hydrierung) können ungesättigte Fettsäuren in gesättigte überführt werden („Fetthärtung“). Zur Bestimmung des Sättigungsgrades eines Fettes wird die Addition eines Halogens genutzt:



Die **Iodzahl** gibt die Menge Halogen (berechnet in Gramm Iod) an, die zur Sättigung aller Doppelbindungen pro 100 g Fett erforderlich ist (g Iod / 100 g Fett). Sie ist damit ein Maß für den Gehalt an ungesättigten Fettsäuren.

Durchführung: Etwa 0,1 g bis 0,2 g Fett werden in ein Miniaturbecherglas genau eingewogen (Analysenwaage) und anschließend in einen 250-ml-Erlenmeyerkolben mit Schliffstopfen gebracht. Nach Auflösung des Fettes in 10 ml Chloroform gibt man genau 25 ml einer Bromlösung (Abzug! Handschuhe und Schutzbrille!) hinzu, mischt kurz und lässt das Gemisch 2 Stunden verschlossen im Dunkeln stehen. Nach Zugabe von 15 ml Kaliumiodidlösung wird mit Natriumthiosulfatlösung bis zur fast vollständigen Entfärbung titriert. Nun werden etwa 5 Tropfen einer Stärkelösung zugesetzt und bis zur Entfärbung weitertitriert. Dieser Ansatz ist in Doppelbestimmung durchzuführen. Zusätzlich ist ein Blindversuch vorzunehmen.

$$IZ = \frac{(b-a) 1,269}{E}$$



- a verbrauchte 0,1 M Natriumthiosulfatlösung [ml]
 b entsprechender Verbrauch im Blindversuch [ml]
 E Einwaage [g]

Reagenzien:

- Chloroform
- Bromlösung: 5,2 ml Br₂ in 1 l einer 12%igen Natriumbromidlösung in Methanol
- 10%ige Kaliumiodidlösung
- 2%ige Stärkelösung
- 0,1 M Natriumthiosulfatlösung

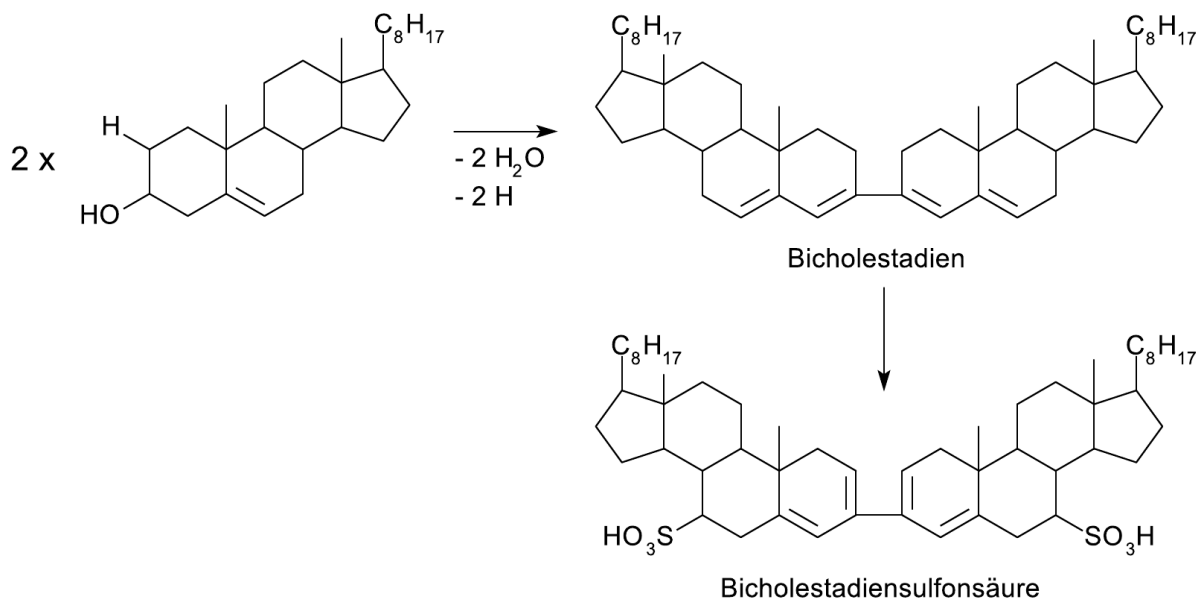
Fragen:

- 1) Wie verhalten sich Verseifungszahl und mittlere Kettenlänge der Fettsäuren zu einander?
- 2) Erläutern Sie die Rolle von Natriumbromid, Kaliumiodid, Stärke und Natriumthiosulfat bei der Iodzahlbestimmung. Formulieren Sie die Reaktionsgleichung.
- 3) Leiten Sie die Faktoren 1,269 für die Iodzahlbestimmung und 28,05 für die Verseifungszahl in den entsprechenden Formeln her.
- 4) Warum sind flüssige Fette gegenüber Oxidationseinflüssen besonders gefährdet?



e) Cholesterin-Nachweis nach SALKOWSKI und LIEBERMANN

Prinzip: Aus Cholesterin entsteht nach Zugabe von konz. Schwefelsäure unter Wasserabspaltung Bicholestadien, welches ein oder zwei Moleküle Schwefelsäure anlagern kann. Die Bicholestadiendisulfonsäure stellt eine rote Verbindung dar (SALKOWSKI-Reaktion), die Bicholestadienmonosulfonsäure ist grün (LIEBERMANN-Reaktion), Essigsäureanhydrid dient als Lösungsmittel und zur Entfernung des gebildeten Wassers.



Durchführung:

Cholesterin-Isolation aus Hühnerei

Aus einem hartgekochten Hühnerei wird das Eigelb isoliert, zerkleinert und in einem 200-ml-Erlenmeyerkolben unter Rühren mit 50 ml Chloroform (Abzug!) extrahiert. Das Eigelb wird durch einen mittleren chloroformfeuchten Filter vom Extrakt getrennt. Letzterer wird am Rotationsverdampfer auf ein Volumen von ca. 20 ml eingeeengt. Mit dieser Lösung werden die oben genannten Nachweise durchgeführt, wobei mit dem Blindwert zu vergleichen ist.

Nachweis nach SALKOWSKI

Einige Cholesterinkristalle werden in 1 ml Chloroform gelöst und vorsichtig mit 1 ml konz. Schwefelsäure (Schutzbrille!) unterschichtet. Es entsteht ein roter Ring.



Nachweis nach LIEBERMANN

Einige Cholesterinkristalle (Wasserspuren stören) werden in 1 ml Chloroform gelöst, mit einigen Tropfen konz. Schwefelsäure (Schutzbrille!) und danach mit einigen Tropfen Essigsäureanhydrid versetzt. Bei vorsichtigem Schütteln wird die Lösung kurz rotviolett, dann blau und später dunkelgrün.



Reagenzien:

- Chloroform
- konz. Schwefelsäure
- Essigsäureanhydrid