

BIOCHEMISCHES PRAKTIKUM

für Landwirtschafts-, Forstwirtschafts- und
Ernährungswissenschaften

VON

S. HEILENZ • W. HÖFNER • K. H. NEUMANN

INSTITUT FÜR PFLANZENERNÄHRUNG DER
UNIVERSITÄT GIESSEN



BIBLIOGRAPHISCHES INSTITUT • MANNHEIM/WIEN/ZÜRICH

HOCHSCHULT ASCHENBÜCHER-VERLAG

Inhaltsverzeichnis

Biochemisches Praktikum I

Teil I - Einführung

1.	Durchführung und Ziel des Praktikums.	1
2.	Unfallschutz im chemischen Labor.	1
3.	Erklärung und Demonstration der wichtigsten Laborgeräte	7
3.1.	Gefäßmaterial und Gefäße.	23
3.1.1.	Glas.	23
3.1.2.	Porzellan.	24
3.1.3.	Kunststoffe.	24
3.1.4.	Platin.	25
3.1.5.	Hartmaterial.	25
3.2.	Heizgeräte.	26
3.3.	Waagen.	26
3.3.1.	Analysenwaagen.	26
3.3.2.	Mach'sche Waage.	28
3.3.3.	Technische Waagen.	29
4.	Chemisches Rechnen.	29
4.1.-	Vorbemerkung.	29
4.2.	Rechenhilfsmittel (Erklärung, Demonstration, Übung)	30
4.2.1.	Tabellensammlungen.	30
4.2.2.	Rechenmaschinen.	31
4.2.3.	Rechenschieber.	31
4.3.	Rechenbeispiele.	32
4.3.1.	Vorbemerkung.	32
4.3.2.	Berechnung eines analytischen Faktors.	32
4.3.3.	Stöchiometrisches Rechnen.	34
5.	Vorbemerkung zu quantitativem Arbeiten.	36
6.	Vorübungen zum quantitativen Arbeiten.	36
6.1.	Reinigen von Gefäßen.	36
6.2.	Üben des Filtrierens.	37

Teil II - Gravimetrie

1.	Prinzip der Gravimetrie.	41
2.	Voraussetzungen der Gravimetrie	41

3.	1. Versuch - Quantitative Bestimmung von SO_4 im K_2SO_4	41
3.1.	Prinzip der Analyse.	41
3.2.	Arbeitsvorschrift.	42
3.3.	Rechnung.	46
4.	2. Versuch - Quantitative Bestimmung von Ca in Pflanzensubstanz.	47
4.1.	Prinzip der Analyse.	47
4.2.	Arbeitsvorschrift.	47
4.3.	Rechnung.	51

Teil III - Maßanalyse

1.	Vorbemerkung zu Maßanalyse (Volumetrie).	53
2.	Vorbemerkung zu Neutralisationsanalysen.	58
3.	Üben des Titrierens — Erkennen des Umschlagpunktes	60
4.	3. Versuch - Bestimmen des Normalfaktors einer n/4 H_2SO_4 , die durch Verdünnen aus einer handelsüblichen Schwefelsäure hergestellt wurde.	61
4.1.	Prinzip der Bestimmung.	62
4.2.	Arbeitsvorschrift.	63
4.3.	Rechnung.	64
5.	4. Versuch — Bestimmen des Faktors einer n/4 NaOH, die aus festem NaOH hergestellt wurde.	65
5.1.	Prinzip der Bestimmung.	65
5.2.	Arbeitsvorschrift.	65
5.3.	Rechnung.	65
6.	5. Versuch - Bestimmung der „vorübergehenden“ Härte des Leitungswassers (Karbonathärte).	66
6.1.	Vorbemerkung und Prinzip der Analyse.	66
6.2.	Arbeitsvorschrift.	67
7.	6. Versuch — Bestimmung der basisch wirkenden Stoffe im Düngekalk.	68
7.1.	Vorbemerkung und Prinzip der Analyse.	68
7.2.	Arbeitsvorschrift.	68
7.3.	Rechnung.	69
8.	7. Versuch — N-Bestimmung nach Kjeldahl in Pflanzensubstanz.	69
8.1.	Prinzip der Analyse.	69
8.2.	Benötigte Reagenzien.	70
8.3.	Arbeitsvorschrift.	71
8.4.	Rechnung.	73

9.	Bestimmung des N in Düngemitteln — Prinzipien der Analysenverfahren	74
9.1.	Prinzip der Nitratreduktionen nach Devarda und nach Arndt	74
9.2.	Titrimetrische Bestimmung des NH_4	74
10.	Theoretische Vorbemerkungen zu Oxydations- und Reduktionsverfahren	75
10.1.	Oxydation - Reduktion	75
10.2.	Spannungsreihe	76
10.2.1.	Halbelement - Einzelpotential	76
10.2.2.	Galvanisches Element	76
10.2.3.	Potentialmessung	77
10.2.4.	Wasserstoffelektrode — Wasserstoffhalbelement — Normal- element	78
10.2.5.	Praktische Potentialmessung — Demonstration	78
10.2.6.	Oxydations- und Reduktionspotential	79
10.3.	Manganometrie — Vorbemerkung	81
11.	8. Versuch — Bestimmen des Faktors einer n/10 KMnO_4 - Lösung	81
11.1.	Vorbemerkung	81
11.2.	Prinzip der Bestimmung - Reaktionsverlauf	82
11.3.	Arbeitsvorschrift	84
11.4.	Rechnung	85
12.	9. Versuch — Bestimmung des Fe in Mohr'schem Salz	85
12.1.	Prinzip der Bestimmung - Reaktionsgleichung	85
12.2.	Arbeitsvorschrift	86
12.3.	Rechnung	86
13.	10. Versuch — Quantitative Bestimmung des Ca in Pflanzensubstanz	87
13.1.	Prinzip der Analyse	87
13.2.	Arbeitsvorschrift	87
13.3.	Rechnung	88

Teil IV - Flammenfotometrie

1.	Theoretische Vorbemerkung	89
2.	Prinzip flammenfotometrischer Bestimmungen	93
2.1.	Vorteile flammenfotometrischer Bestimmungen	93
2.2.	Nachteile flammenfotometrischer Bestimmungen	94
3.	Flammenfotometer (auch Spektralfotometer genannt)	95
3.1.	Anregungsteil	95
3.2.	Monochromator	95
3.3.	Meßanordnung	96

4.	11. Versuch - Aufstellen von Eichkurven für die flammenfotometrische Bestimmung von Na-Konzentrationen . . .	98
4.1.	Herstellen von Stamm-, Standard- und Eichlösungen . . .	99
4.2.	Flammenfotometrische Messung	99
4.2.1.	Grobeinstellung des Gerätes auf die Wellenlänge 589 nm . . .	100
4.2.2.	Feineinstellung des Gerätes auf die Wellenlänge 589 nm . . .	100
4.2.3.	Messung	103
4.3.	Zeichnen der Eichkurven — Auswertung	104
5.	12. Versuch — Aufstellen von Eichkurven für die flammenfotometrische Bestimmung von K-, Mg- und Ca-Konzentrationen	105
5.1.	Arbeitsvorschrift	105
5.1.1.	Herstellen von Stamm-, Standard- und Eichlösungen . . .	105
5.1.2.	Flammenfotometrische Messung	105
5.1.3.	Zeichnen der Eichkurven — Auswertung	105
6.	Vorbemerkung zum Arbeiten mit Ionenaustauschern . . .	106
6.1.	Anwendung von Ionenaustauschern	107
6.2.	Praxis analytischer Austauscheranwendung	108
6.2.1.	1.Beispiel - Anionentabtrennung	108
6.2.2.	2.Beispiel - Kationentrennung	110
7.	13. Versuch — Flammenfotometrische Bestimmung von Na - K - Mg - Ca in Pflanzensubstanz unter Verwendung eines Kationenaustauschers.	112
7.1.	Prinzip der Analyse.	112
7.2.	Benötigte Reagenzien	114
7.3.	Arbeitsvorschrift	114
7.3.1.	Vorbereiten der Analysesubstanz	114
7.3.2.	Vorbereiten der Austauschersäule	114
7.3.3.	Anionenabtrennung	115
7.4.	Flammenfotometrische Messung	116
7.4.1.	Konzentrationstest.	116
7.4.2.	Präzisionsmessung.	117
7.4.3.	Kurzanweisung zur Durchführung einer flammenfotometrischen Konzentrationsbestimmung.	118
7.5.	Auswertung der Meßergebnisse.	119
8.	14. Versuch— a) Aufnahmen von Elutionskurven b) Kationentrennung mittels Austauscher (Modellversuch).	121
8.1.	Arbeitsvorschrift	121
8.1.1.	Regenerieren.	121
8.1.2.	Beladen und Eluieren.	121
8.1.3.	Messen.	122
8.1.4.	Auswertung.	124

9.	Spektrochemie — Hinweis auf Methodik und Anwendungsmöglichkeiten für biochemische Zwecke.	125
10.	Atomare Absorptions-Spektrofotometrie (AAS).	128
10.1.	Prinzip.	128
10.2.	Bauweise von Atom-Absorptions-Spektrofotometern . . .	128
10.3.	Vorzüge der AAS.	131

Teil V - Kolorimetrie

1.	Theoretische Vorbemerkung.	133
2.	Prinzip kolorimetrischer Bestimmungen.	137
2.1.	Vorteile kolorimetrischer Verfahren.	138
2.2.	Nachteile kolorimetrischer Verfahren.	138
3.	Kolorimeter.	139
3.1.	Lichtquelle.	139
3.2.	Monochromator.	140
3.3.	Meßanordnung.	142
4.	Kolorimetrische Messung — Prinzip.	142
4.1.	Direkte Intensitätsmessung.	142
4.2.	Kompensationsmessung.	143
4.3.	Aufnehmen einer Absorptionskurve.	146
4.4.	Extinktionsmessung.	146
5.	15. Versuch — Kolorimetrische P_2O_5 -Bestimmung in Pflanzensubstanz (einschließlich der Aufstellung von Eichkurven).	146
5.1.	Prinzip der Analyse.	146
5.2.	Benötigte Reagenzien.	147
5.3.	Arbeitsvorschrift.	148
5.3.1.	Aufstellen der Eichkurve.	148
5.3.2.	Durchführung der Analyse.	148
6.	16. Versuch — Kolorimetrische Mn-Bestimmung in Pflanzensubstanz (einschließlich der Aufstellung von Eichkurven) .	150
6.1.	Prinzip der Analyse.	150
6.2.	Benötigte Reagenzien.	151
6.3.	Arbeitsvorschrift.	152
6.3.1.	Aufstellen der Eichkurven.	152
6.3.2.	Durchführung der Analyse.	153
7.	Die Verwendung organischer Verbindungen in der analytischen Chemie — Vorbemerkung zum 17. Versuch.	154
7.1.	Na-DDTC - Verdrängungsreaktionen.	155
7.2.	Weitere Selektionsmöglichkeiten.	158

8.	17. Versuch — Kolorimetrische Cu-Bestimmung in Pflanzen- substanz (einschließlich der Aufstellung von Eichkurven)	158
8.1.	Prinzip der Analyse.	158
8.2.	Benötigte Reagenzien.	159
8.3.	Arbeitsvorschrift	161
8.3.1.	Aufstellen der Eichkurven.	161
8.3.2.	Durchführung der Analyse.	163

Biochemisches Praktikum II

Teil VI - Chromatographische Methoden

1.	Einleitung	165
1.1.	Adsorptionschromatographie.	166
1.2.	Verteilungschromatographie.	167
2.	Chromatographische Arbeitsverfahren.	167
2.1.	Papierchromatographie.	168
2.2.	Säulenchromatographie.	168
2.3.	Dünnschichtchromatographie (DC).	169
2.4.	Papierelektrophorese.	169
2.5.	Gaschromatographie.	171
3.	Einleitung zum experimentellen Teil	172
4.	18. Versuch - Aufarbeitung des Pflanzenmaterials und Fraktionierung der einzelnen Stoffgruppen mit Hilfe der Austauschersäulenchromatographie.	174
4.1.	Aufarbeitung des Pflanzenmaterials.	174
4.2.	Fraktionierung der löslichen Fraktion unter Verwendung von Anionen- und Kationenaustauschersäulen.	175
4.2.1.	Vorbemerkungen.	175
4.2.2.	Wirkungsweise von Ionenaustauschern.	176
4.2.3.	Benötigte Reagenzien, Glassachen u.a.	177
4.2.4.	Arbeitsvorschrift.	178
5.	19. Versuch — Papierchromatographie der Aminosäure- fraktion (quantitativ); der Fraktion der organischen Säuren und der Zuckerfraktion (qualitativ).	183
5.1.	Vorbemerkungen.	183
5.2.	Benötigte Reagenzien und Glassachen.	185
5.3.	Trennung von org. Säuren mit Hilfe der eindimensionalen Chromatographie.	186

5.4.	Trennung und quantitative Bestimmung von Aminosäuren (AS) mit Hilfe der zweidimensionalen Papierchromatographie.	189
5.4.1.	Vorversuche und Auftragen der AS-Lösung auf das Chromatogramm.	189
5.4.2.	Entwickeln.	190
5.4.3.	Anfärben.	191
5.4.4.	Messen der Extinktion.	194
5.4.5.	Berechnung der auf dem Chromatogramm gefundenen AS	194
6.	20. Versuch — Trennung von Cholin und CCC (ChlorchoBnchlorid) mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (DC) .	195
6.1.	Vorbemerkungen.	195
6.2.	Benötigte Reagenzien, Glassachen u.ä.	197
6.3.	Arbeitsvorschrift.	197
7.	21. Versuch — Extraktion von Nukleinsäuren (NS) aus Karottenwurzeln und deren Reinigung mit Sephadex G-25	198
7.1.	Vorbemerkung.	198
7.2.	Wirkungsweise von Sephadex.	199
7.3.	Benötigte Reagenzien, Glassachen u.ä.	201
7.4.	Arbeitsvorschrift.	202
8.	Literaturangabe.	203

Teil VII - Radiochemischer Teil des Praktikums

1.	Vorbemerkung.	204
1.1.	Zweck der Verwendung von Radionukliden.	204
1.2.	Strahlenschutz.	204
2.	Grundbegriffe.	205
3.	Radioaktivität.	206
3.1.	Formen der Radioaktivität.	206
3.2.	Zerfallsarten.	206
3.2.1.	α -Zerfall.	206
3.2.2.	β -Zerfall.	206
3.2.3.	Protonenumwandlung.	207
3.2.4.	Elektroneneinfang.	207
3.2.5.	Durch Neutroneneinfang eingeleiteter Zerfall.	207
3.3.	Zerfallsgesetz.	207
4.	Versuch 22 — Messung eines unbekanntes radioaktiven Präparates zur Ermittlung der Halbwertszeit.	208
4.1.	Vorbereitung.	208
4.2.	Meßvorgang.	209
4.3.	Auswertung.	209

5.	Versuch 23 — Absorptionsmessung von β - und γ -Strahlung	210
5.1.	Ausführung	210
5.2.	Auswertung	210
6.	Meßeinheiten radioaktiver Strahlung	210
6.1.	Aktivität	210
6.2.	Spezifische Aktivität	210
6.3.	Strahlungsenergie	211
6.4.	Strahlungs-dosis	211
7.	Versuch 24 - Herstellung und Messung eines aktiven Standards	212
7.1.	Ausführung	212
7.2.	Auswertung	212
8.	Messung radioaktiver Strahlung	212
8.1.	Ionisationskammer	213
8.2.	Zählrohr	213
8.2.1.	Proportionalzählrohr	215
8.2.2.	Geiger-MOUer-Zählrohr	215
8.2.3.	Halbleiter-Sperrschichtzähler	216
8.3.	Szintillationszähler	217
9.	Versuch 25 — Ermittlung der Charakteristika verschiedener Detektoren	
	Detektoren	218
9.1.	Messung	218
9.2.	Auswertung	218
10.	Versuch 26 — Bestimmung der Auflösungszeit einer Meßanordnung durch die „Zweiquellenmethode“	218
10.1.	Ausführung	218
10.2.	Auswertung	219
11.	Versuch 27 - Aufnahme eines ^{60}Co - und eines ^{137}Cs -Spektrums mit Einkanal-7-Spektrometer	220
11.1.	Ausführung	220
11.2.	Auswertung	220
12.	Versuch 28 - Aufnahme einer ^{32}P -markierten Nährlösung durch Sonnenblumen-Keimpflanzen	221
12.1.	Vorbereitung	221
12.2.	Ausführung	221
12.3.	Auswertung	221

13.	Versuch 29 — Verteilung einer ^{59}Fe-markierten Nährlösung in Buschbohnen (<i>Phaseolus vulg.</i>) nach Applikation auf die Blattspreite.	222
13.1.	Vorbereitung.	222
13.2.	Ausführung.	222
13.3.	Auswertung.	222
14.	Versuch 30 — Anfertigung einer Autoradiographie eines ^{59}Fe-enthaltenden Blattes.	222
14.1.	Vorbemerkung.	223
14.2.	Ausführung.	223