

Chemie der Pilze im Chemieunterricht der Sekundarstufen I und II

Farina Bunjes, Martin Rühl, Peter Fleischmann, Holger Zorn, Verena Pietzner

Einleitung

Das Fach Chemie leistet einen spezifischen Beitrag zur naturwissenschaftlichen Grundbildung. Durch das experimentelle Vorgehen bei der Auseinandersetzung mit der stofflichen Welt und den zahlreichen Bezügen zum Alltag der Lernenden, bietet das Fach Chemie viele Möglichkeiten, einen auf die Lebenswelt der Schülerinnen und Schüler ausgerichteten sowie einen fächerübergreifenden Unterricht zu gestalten. Insbesondere durch die Verwendung von Alltagsstoffen kann der Forderung nach zunehmender Eigentätigkeit der Lernenden beim Experimentieren nachgegangen werden. Gleichzeitig und gleichgewichtig zu der Lebensweltorientierung müssen die dabei erlangten chemischen Fachkenntnisse jedoch so gezielt vertieft werden, dass sie einen systematischen Sachzusammenhang ergeben, den der Lernende auch für andere Kontexte heranziehen kann.



Vor diesem Hintergrund erfüllt das Themengebiet Lebensmittelchemie und im Besonderen das Thema Chemie der Pilze in herausragender Weise die genannten Kriterien. Pilze bieten mit ihrer Vielzahl unterschiedlicher Inhaltsstoffe Anknüpfungspunkte für einen anwendungsbezogenen und gleichzeitig anspruchsvollen Unterricht. Bei der experimentellen Untersuchung der Pilzinhaltsstoffe können die Schüler wichtige Nachweisreaktionen anwenden und anschließend den molekularen Aufbau der Inhaltsstoffe chemisch betrachten. So vertiefen und vernetzen sie ihr chemisches Wissen mit der Thematik „Pilze“.

Fachliche Grundlagen zu Pilzen

Pilze sind weder Pflanzen noch Tiere, sondern nehmen ein eigenes Reich ein. Sie sind eukaryotische Lebewesen, die über echte Zellkerne verfügen. Ihre osmotrophe (absorptive) und heterotrophe Ernährungsweise eint sie mit Pflanzen, aber sie enthalten kein Chlorophyll. Sie sind auf organische Nährstoffe angewiesen, die sie in gelöster Form von dem umgebenden Substrat durch Osmose aufnehmen. Da die Pilze nicht zur Photosynthese befähigt sind, ernähren sich alle Pilze heterotroph, wobei sie ihre Nahrung durch direkte Absorption aus ihrer Umgebung aufnehmen. Sie leben als Saprobionten, Parasiten und Symbionten (Lelley 1976, S. 31; Meixner 1978, S. 3).

Die Mehrzahl der Pilze sind Saprobionten, die ihre Energie im Besonderen aus Kohlenstoff- und Stickstoffverbindungen gewinnen, wobei sie diese durch extra-zelluläre Enzyme, sog. Exoenzyme, direkt aus dem verwendeten toten organischen Material herauslösen. Mit Hilfe der Enzyme werden die zur Verfügung stehenden Kohlenstoffquellen hydrolysiert und in Monosaccharide, vor allem Glucose, zerlegt. Die bedeutendste Fähigkeit der Pilze ist die Zersetzung von Holz sowie anderer pflanzlicher Abfälle, die Cellulose und Lignin enthalten. Zusammen mit den Bakterien sind sie die wichtigsten Zersetzer (Destruenten) der Biosphäre und leisten durch das Mineralisieren hochmolekularer organischer Verbindungen einen wichtigen Beitrag zum Recycling derjenigen Elemente, die von Lebewesen genutzt werden (Lelley 1976, 31; Markl 2006, 738; Meixner 1978, 3).

Ein typischer Speisepilz ist der Kulturechampignon (*Agaricus bisporus*); er gehört zu der Gattung der Basidiomyceten. Die Basidiomyceten oder auch Ständerpilze gehören zu der Klasse der Echten Pilze (*Eumycota*). Sie bilden ihre Sporen auf Sporenständer, die als Basidien bezeichnet werden, woher der Name dieser Pilzgattung stammt. Die Hutpilze setzen sich aus einem sichtbaren Teil, dem Fruchtkörper (Basidiocarp), welcher über der Erde wächst, und dem für das Auge mehr oder weniger im Substrat verborgenen Mycel zusammen. Das Mycel stellt die Gesamtheit unzähliger, verzweigter, spinnwebartiger Fäden von mikroskopischem Durchmesser dar. Diese einzelnen Fäden werden als Hyphen bezeichnet. Sie durchwachsen weitflächig das Substrat, wie beispielsweise Holz, Erde oder sonstiges Material. Bei einigen Pilzarten und im Besonderen in Intensivkulturen (z. B. beim Champignon- und Austernpilz-Anbau) wächst das Mycel auf die Substratoberfläche hinauf, wo es sich dem Betrachter als ein „Schimmelbelag“ präsentiert. Bei holzbewohnenden Pilzen wird das Mycel sichtbar, wenn die Rinde des befallenen Baumes entfernt wird. Im Volksmund wird der Fruchtkörper als „Pilz“ bezeichnet (Lelley 1976, 24; Teuscher 2011a, 19).

Pilze enthalten eine Vielzahl an Nähr- und Mineralstoffen. So ist Glucose als zentraler Bestandteil des Kohlenhydratstoffwechsel auch in Pilzen allgegenwärtig (Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie 2001, 268), jedoch keine Stärke. Im Champignon-Fruchtkörper ist mit 0,3 g Fett je 100 g essbaren Pilzanteil vergleichsweise wenig Fett enthalten (Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie 2011, 268). Champignons enthalten alle acht essentiellen Aminosäuren, viel Vitamin C (4,9 mg pro 100 g frischer Frucht) sowie viele Mineralstoffe, unter anderem Natrium, Kalium und Phosphat. Kulturechampignons verfügen über einen typischen erdig-pilzigen Geruch, für den der Alkohol (-)-(R)-1-Octen-3-ol verantwortlich ist (Ge-

suchsschwelle: 1 ppb); er wird in der Lebensmittelindustrie als Pilzaroma verwendet. Im Kulturchampignon entsteht (-)-(R)-1-Octen-3-ol durch Oxidation von Linolsäure (Helbling 2000, 19 & 21; Krammer 2003).

Bedeutende Pilzenzyme

Im Pilzmycel sind zwei wichtige Enzymklassen enthalten: Laccasen und Cellulasen. Laccasen zählen zur Enzymfamilie der Multi-Kupfer-Oxidase, welche die Ein-Elektron-Oxidation von vier Substrat-Molekülen katalysieren, während durch eine Vier-Elektronen-Reduktion aus molekularem Sauerstoff Wasser entsteht (Jones & Solomon 2015, 869; Koschorreck 2008, 13). In China wurden Laccasen bereits vor über 6000 Jahren zur Produktion von Lack für das Kunsthandwerk verwendet. Dafür wurde der Saft des Lack-Baumes (*Rhus vernicifera*) eingesetzt, der einen großen Anteil an einer Laccase und Urushiol (ein Dihydroxybenzol mit einem zusätzlichen organischen Rest) enthält, welches mit Hilfe der Laccase in Gegenwart von Sauerstoff zu Lack polymerisiert. Auf dieser Fähigkeit basiert der Trivialname der Enzymklasse (Koschorreck 2008, 13). Aufgrund des breiten Substratspektrums bieten Laccasen eine Vielzahl an industriellen Anwendungsmöglichkeiten. Diese Enzymklasse wird hauptsächlich bei der Entfärbung von Textilien, insbesondere bei der Bleichung von Indigo-gefärbten Jeans, eingesetzt. Durch den Einsatz von DeniLite[®] von Novozymes, eine Kombination industriell hergestellter Laccasen und dem Redoxmediator Methylsyringat, ersetzt die Chlorbleiche bei der Papierherstellung (Koschorreck 2008, 28). Laccasen werden außerdem bei der Korkenherstellung eingesetzt, um den ungeliebten Korkgeschmack im Wein zu verhindern. Sie sorgen dafür, dass das in der Rinde der Korkeiche vorliegende, bittere 2,4,6-Trichlorphenol zu Polyphenolen polymerisiert wird. So sind Mikroorganismen nicht mehr in der Lage, das Trichlorphenol zu dem Fehl- aroma 2,4,6-Trichloranisol zu methylieren (Osterath, Rao, Lütz & Liese 2007, 328f). Darüber hinaus finden Laccasen Anwendung bei der Abwasserreinigung sowie der Sanierung verunreinigter Böden (Koschorreck 2008, 28). Die zweite Enzymklasse, die Cellulasen, zählen zur Klasse der Glycosidasen. Sie katalysieren die Hydrolyse von β -1,4-glykosidischen Bindungen in Cellulose und somit den Abbau von Cellulose zu Glucose. Unter dem Begriff Cellulasen subsumiert sich ein Multienzymkomplex aus drei Gruppen einzelner Enzyme (Lang & Hartmann-Schreier 2012, Rühl et al. 2008, 476). Cellulose kommt in einer kristallinen sowie einer amorphen Form vor und nimmt einen Anteil von ca. 40 bis 45 % der Holzbiomasse ein. Die

kristalline Form besitzt im Vergleich zu der amorphen Cellulose eine höhere Beständigkeit gegenüber einem enzymatischen Abbau. Im Wesentlichen sind nur Pilze, insbesondere Braurfäulepilze, in der Lage, kristalline Cellulose aufzuschließen (Hoegger et al. 2008, 392).

Die biotechnologische Anwendung von Cellulasen begann Anfang der 1980er in Tierfutter, gefolgt von Lebensmittelanwendungen, wie bei der Verflüssigung von Obst und Gemüse, Herstellung von Fruchtsäften, Gewinnung von Olivenöl und Backwarenherstellung. In den letzten Jahren stieg die Verwendung von Cellulasen extrem an, da diese Enzyme mittlerweile auch in der Textil-, Wäsche-, Zellstoff- und Papier-Industrie sowie bei der Bierbrauerei und Weinherstellung verwendet werden (Bhat 2000, 356; Lang & Hartmann-Schreier 2012). Cellulasen sind beispielsweise im Waschpulver enthalten, um die Farbigekeit und das „Handgefühl“ der Baumwollkleidung zu verbessern. Beim wiederholten Waschen von Kleidungsstücken aus Baumwolle besteht das Problem, dass die Fasern zunehmend locker und langwellig werden. Dies liegt vor allem an der teilweisen Ablösung von Mikrofibrillen, die auf der Stoffoberfläche der Kleidungsstücke herausragen. Cellulasen entfernen diese kleinsten Fasern und sorgen für eine besonders glatte Textiloberfläche (Bhat 2000, 369; Osterath et al. 2007, 326)

Fachdidaktische Aspekte

In der Sekundarstufe I können eine Vielzahl interessanter Inhaltsstoffe der Pilze zum Beispiel die Majorkomponenten (Kohlenhydrate, Fette, Proteine) sowie ausgewählte Minorkomponenten (Vitamine, Mineralstoffe) mithilfe gängiger und etablierter Schulexperimente nachgewiesen werden. Neben lebensmittelanalytischen Untersuchungen werden somit auch die unterschiedlichen Facetten des schulexperimentellen Arbeitens angesprochen.

In der Sekundarstufe I können Pilze genutzt werden, um im Kontext der Nährstoffanalyse wichtige Nachweise einzuführen oder aber zu wiederholen. Anknüpfend an die Versuche aus der Sekundarstufe I können im Sinne eines Spiralcurriculums in der Sekundarstufe II die Laccasen und Cellulasen eingebunden sowie ihre industriellen Verwendungsmöglichkeiten thematisiert werden. Zusätzlich bietet es sich an, das Pilzaroma als natürlichen Aromastoff experimentell in dieser Schulstufe zu behandeln.

Ebenso ist es möglich, das Thema als Projektarbeit oder aber im Seminarfach fachübergreifend zu behandeln. In diesem Zusammenhang ist besonders das Fach Biologie zu nennen. Durch eine vorherige eigenständige Kultivierung von Champignons oder Austernpilze im Unterricht können biologische Aspekte wie beispielsweise die Fortpflanzung, Ernährungsweise etc. erar-

beitet werden, woran anschließend die geernteten Pilze im Hinblick auf ihre Inhaltsstoffe untersucht werden können. Im Fokus des Seminarfachs steht die „gezielte Hinführung zum selbstständigem Lernen“ und „das wissenschaftspropädeutische Arbeiten“ (Niedersächsisches Kultusministerium 2006, 3f).

Experimente für die Sekundarstufe I: Nachweisreaktionen mit Pilzen

Für manche Experimente wird ein Pilzextrakt auf Basis eines Phosphatpuffers benötigt; dessen Herstellung wird bei den Experimenten für die Sekundarstufe II beschrieben.

Nachweis reduzierender Zucker:

In einem Reagenzglas werden ca. 4 mL ammoniakalische Silbernitratlösung, $w(\text{AgNO}_3) = 15\%$, mit etwa 3 mL Pilzextrakt versetzt und im Wasserbad erwärmt. Nach einigen Minuten zeigt sich ein Silberspiegel.

Nachweis von Vitamin C: Ein Filterpapier wird in Eisen(III)chlorid-Lösung ($w = 1\%$) getränkt und trocken gelassen. Für den Nachweis wird die frische Schnittfläche eines halbierten Champignons auf das Papier gedrückt (Abb. 1 links), welches anschließend mit einer 1 %igen Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung besprüht wird. Als positiver Nachweis für reduzierende Substanzen wird eine Blaufärbung sichtbar (Abb. 1 rechts), der als Berliner Blau bzw. Turnbulls Blau bekannt ist.

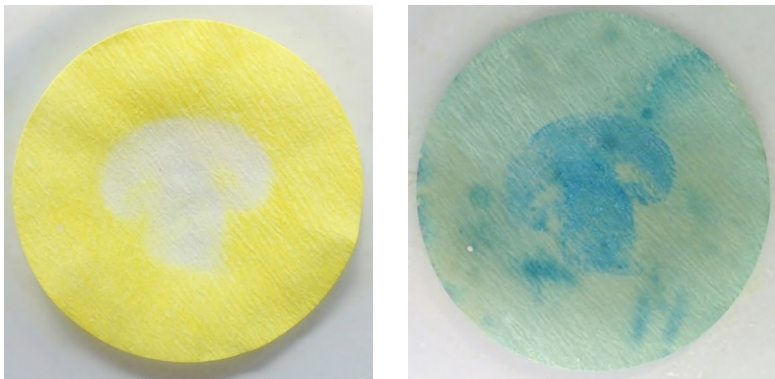


Abb. 1: Eisen(III)-chlorid-Papier mit Pilzabdruck (links), nach dem Besprühen mit Kaliumhexacyanoferrat(III)-Lösung (rechts)

Nachweis von Proteinen:

Für die Biuretreaktion wird die Pilzschnittfläche mit Natronlauge ($c = 1 \text{ mol/L}$) benetzt und anschließend ein Tropfen Kupfer(II)-sulfat-Lösung ($c = 1 \text{ mol/L}$) darauf gegeben (Abb. 2 (2)).

Für den Nachweis über die Ninhydrinreaktion wird die frische Pilzscheibe mit einem Tropfen 2 %iger Ninhydrin-Lösung beträufelt und mit einer Tiegelzange in die gerade entleuchtete, aber nicht rauschende Flamme des Bunsenbrenners gehalten (Abb. 2 (3)). Für den Nachweis mithilfe der Xanthoproteinreaktion wird die Schnittfläche des Pilzes mit konz. Salpetersäure beträufelt (Abb. 2 (4)).

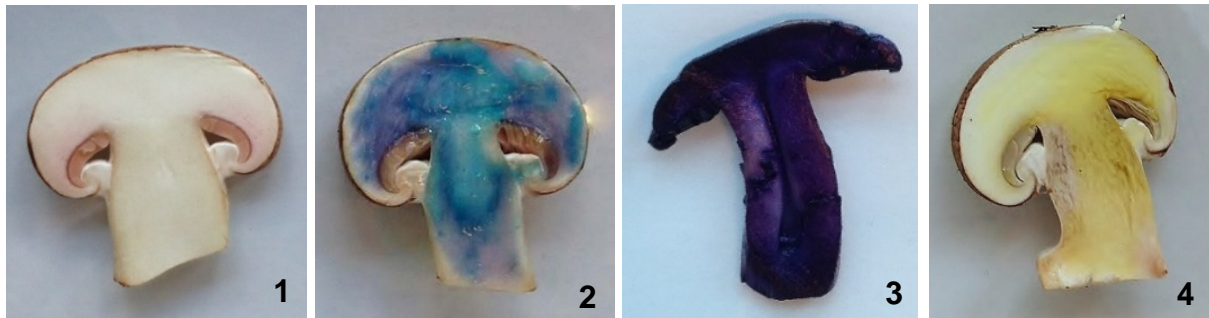


Abb. 2: (1) frischer unbehandelter Pilz, (2) Biuret-Nachweis, (3) Ninhydrin-Nachweis, (4) Xanthoprotein-Reaktion

Fettextraktion und anschließender Fett-Nachweis: Zur Gewinnung des Pilzfettes können frisch getrocknete und zerkleinerte Pilze verwendet und das Fett mit Petrolether extrahiert werden. Nach dem Abdestillieren des Lösungsmittels wird das Pilzfett meist mit hellgelber Farbe erhalten. Zum Nachweis des Fettes kann etwas Extrakt auf Sudan(III)-Papier oder Pergamentpapier gegeben werden (Abb. 3).

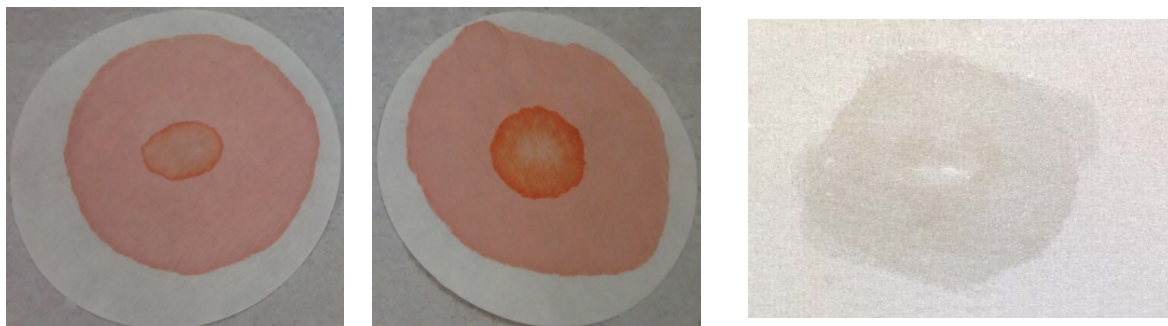


Abb. 3: Extrahiertes Pilzfett (links), Rapsöl als Vergleichsprobe (Mitte), Fettfleck von extrahiertem Pilzfett (rechts)

Nachweis von Mineralstoffen: Besonders einfach lassen sich Kalium und Natrium über die charakteristischen Flammenfärbungen nachweisen (Abb. 4), indem ein getrockneter Pilz in der entleuchtenden Bunsenbrennerflamme verbrannt wird.



Abb. 4: Beobachtung der Flammenfärbung beim Verbrennen eines getrockneten Pilzes

Nachweis von Phosphat: Getrocknete Pilze werden gemörsert und in einer Porzellanschale vorsichtig mit dem Bunsenbrenner verascht. Die Pilzasche wird in Wasser aufgenommen und die unlöslichen Bestandteile abfiltriert. Diese Lösung wird mit Salpetersäure angesäuert und Ammoniummolybdat-Lösung hinzugegeben. Nach dem Erhitzen der Lösung in der Bunsenbrennerflamme kann ein zitronengelber Niederschlag als positiver Nachweis für Phosphat beobachtet werden (Abb. 5).

Ansetzen der Ammoniummolybdat-Lösung: 10 g Ammoniummolybdat, 20 g Ammoniumnitrat und 7 mL konz. Ammoniak wurden mit dest. Wasser auf 100 mL aufgefüllt (Jander et al. 2006, 338).

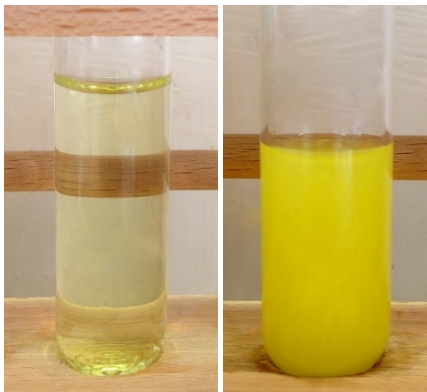


Abb.5: Pilzasche-Lösung kurz nach Zugabe der Ammoniummolybdat-Lösung (links), Reaktionslösung nach dem Erhitzen (rechts)

Nachweis von Chlorid: Die Pilzprobe wird wie beim Phosphat-Nachweis vorbereitet. Nach dem Ansäuern mit Salpetersäure müssen die ausgefallenen Proteine abfiltriert werden. Abschließend wird zum Filtrat eine Lösung aus Silbernitrat gegeben. Ein weißer Niederschlag als positiver Chlorid-Nachweis kann beobachtet werden (Abb. 6).

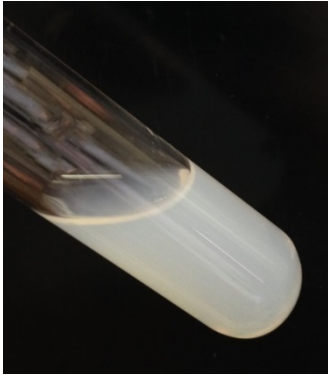


Abb. 6: Chlorid-Nachweis mit Pilzasche-Lösung

Wassernachweis: Ein frisches Stück eines Champignons wird im Reagenzglas erhitzt und an der Öffnung des Glases wird ein Streifen des Watesmopapier gelegt. Durch das Erwärmen des Pilzes wird Wasser aus den Zellen ausgetrieben; der Wasserdampf kondensiert und sorgt für eine blaue Färbung des Watesmopapiers.

Experimente für die Sekundarstufe II: das Pilzaroma Octen-1-ol, Untersuchung von Laccasen und Cellulasen

Je nachdem, welches Reagenz für den Nachweis von Laccasen genutzt wird (Dimethoxyphenol, kurz DMP, oder das Diammoniumsalz der 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure), kurz ABTS), muss der pH-Wert des Pilz-Extrakts angepasst werden. Grund dafür ist die pH-Wert-Abhängigkeit der Laccasen-Aktivität. Zum einen wird ein Phosphat-Puffer nach Sörensen verwendet, um einen Pilz-Extrakt mit einem pH-Wert zwischen 5 und 7 herzustellen. Mit dem Pilz-Extrakt aus dem Phosphat-Puffer gelingt zudem die Herstellung des Pilzaromas. Bei dem Nachweis sowie der Bestimmung der Enzymaktivität der Laccasen mit dem Mediator ABTS ist hingegen ein niedrigerer pH-Wert von 3,5 erforderlich, für den ein Glycin-Salzsäure-Puffer verwendet wird.

Herstellung des Phosphat-Puffers nach Sörensen:

Stammlösung A: Kaliumdihydrogenphosphat 9,078 g mit dest. Wasser auf 1000 mL auffüllen
 Stammlösung B: Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat 11,876 g mit dest. Wasser auf 1000 mL auffüllen

Um eine Puffer-Lösung mit dem gewünschten pH-Wert von 7 zu erhalten, werden 61,2 mL der Stammlösung B mit der Stammlösung A auf 100 mL aufgefüllt (Eisner, 2000b).

Herstellung des Glycerin-Salzsäure-Puffers:

Stammlösung A: 7,505 g Glycin und 5,85 g Natriumchlorid werden mit dest. Wasser auf 1000 mL aufgefüllt.

Stammlösung B: Salzsäure, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

Für einen pH-Wert von 3,5 werden 6 mL der Stammlösung B mit der Stammlösung A auf 100 mL aufgefüllt (Eisner, 2000 a).

Für die Herstellung des Pilzextraktes werden frische weiße Champignons klein geschnitten und die Lamellen vom Fruchtfleisch abgetrennt. Zusätzlich werden rosa bzw. braune Stellen des Hutes entfernt, sodass nur weiße Stücke des Fruchtkörpers bzw. Stiels als Probenmaterial verwendet werden. Die Pilzstücke (ca. 50 g) werden in ein hohes Becherglas gefüllt, mit ca. 50 mL der jeweils benötigten Pufferlösung versetzt und mit einem Stabmixer kurz püriert. Der Pilz-Extrakt wird anschließend abgenutscht. Insgesamt wird so ca. 40 mL gelblich trüber Pilz-Extrakt erhalten. Der Pilz-Extrakt sollte nun schnellstmöglich weiterverarbeitet werden.

Werden die Pilze mit dem Phosphat-Puffer püriert, weist der Pilz-Extrakt einen pH-Wert zwischen 5 und 7 auf. Für den Laccase-Nachweis mit DMP und der Produktion des Pilzaromas muss der pH-Wert nicht exakt bei 7 liegen, sodass der abgenutschte Pilz-Extrakt ohne Korrektur des pH-Wertes verwendet werden kann.

Beim Nachweis der Enzym-Klasse der Laccasen mit ABTS ist hingegen entscheidend, dass der pH-Wert des Extrakts genau auf 3,5 eingestellt wird. Nach dem Abnutschen liegt der pH-Wert des Pilz-Extrakts zwischen 5 und 6. Zunächst werden in 1 mL Schritten der Glycerin-Salzsäure-Puffer zu dem Extrakt gegeben, bis sich ein pH-Wert von ungefähr 4 eingestellt hat (kontinuierliche Kontrolle mit einem pH-Meter). Werden 10 mL Pilz-Extrakt eingesetzt, so werden dafür ungefähr 15 bis 20 mL Puffer-Lösung benötigt. Anschließend wird tropfenweise Salzsäure, $c(\text{HCl}) = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, hinzu gegeben (ca. 1,5 mL), bis der gewünschte pH-Wert von 3,5 erreicht ist.

Bei der photometrischen Bestimmung der Enzymaktivität der Laccasen wird der pH-Wert ausschließlich unter Zugabe der verwendeten Salzsäure auf 3,5 eingestellt, um eine zu große Verdünnung des Extrakts zu vermeiden: Zu 1 mL Pilz-Extrakt werden ca. 10 Tropfen der Salzsäure gegeben.

Herstellung des Pilzaromas: Grundlage für den Versuch ist der Pilz-Extrakt auf Basis des Phosphat-Puffers (pH-Wert = 7). Auf den Boden eines Schnappdeckelgläschens wird mithilfe eines Kapillarröhrchens ein winziger Tropfen Linolsäure geträufelt und ungefähr 10 mL Pilz-Extrakt dazu gegeben. Das Schnappdeckelgläschchen wird verschlossen, die Reaktionslösung gut geschüttelt und eine Geruchsprobe durchgeführt. Als Vergleichsprobe dienen 10 mL unbehandelter Pilz-Extrakt in einem Schnappdeckelgläschchen. Durch die Zugabe von Linolsäure wird der Pilzgeruch des Extraktes merklich intensiver. Es ist wichtig zu beachten, dass man nur wenig Linolsäure verwendet, da sie einen starken Eigengeruch (muffig, erdig) aufweist, der den Pilzgeruch überdecken kann.

Nachweis der Enzym-Klasse der Laccasen: Der Pilz-Extrakt aus dem Phosphat-Puffer bildet bei diesem Nachweis die Probengrundlage. Zu Beginn muss dieser Extrakt mit dem Phosphat-Puffer soweit verdünnt werden, bis die gelbe Eigenfärbung des Pilz-Extraktes verschwunden ist und eine relativ klare farblose Lösung erhalten wird. Anschließend wird das gleiche Volumen an 20 millimolarer DMP-Lösung (Dimethoxyphenol-Lösung) dazu gegeben. Während einer 10-minütigen Reaktionszeit zwischen Pilz-Extrakt und Nachweislösung kann folgender Farbverlauf beobachtet werden (Abb. 7).

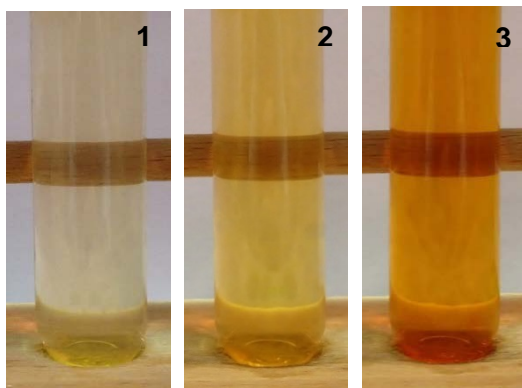


Abb. 7: Beobachtungsverlauf zu der Reaktionslösung aus Pilz-Extrakt und DMP-Lösung, ganz links: direkt nach Zugabe der DMP-Lösung

Im Pilz-Extrakt des Champignons lassen sich Laccasen außerdem mit ABTS (Diammoniumsalz der 2,2'-Azino-di-(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonsäure)) durch eine zunehmende Grünfärbung nachweisen. Für diesen Versuch müssen die entsprechenden Lösungen (ABTS-Lösung und Pilz-Extrakt auf Basis des Glycin-Salzsäure-Puffers pH-Wert bei 3,5) auf 30 °C in einem Wasserbad vortemperiert werden, da im Bereich zwischen 30 bis 60 °C das Temperaturoptimum

der Laccasen aus Pilzen liegt. Nachdem die Lösungen zu gleichen Teilen zusammengegeben wurden, kann unter kontinuierlichem Rühren ein Farbverlauf von einem anfänglichen Gelb über Grün zu intensiv Dunkelgrün/Blau beobachtet werden (Abb. 8).

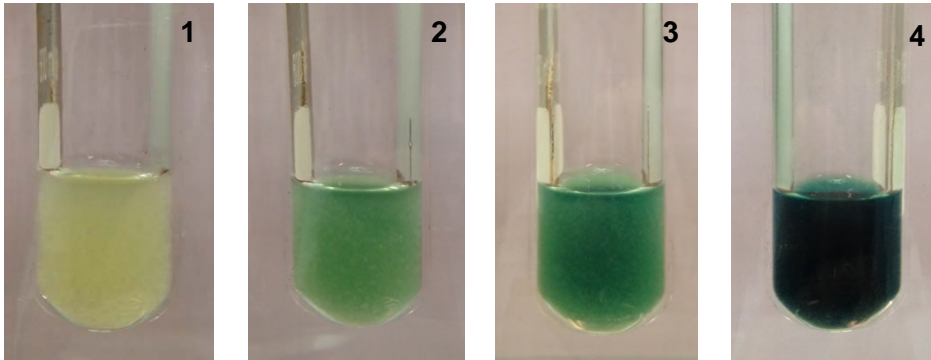


Abb. 8: Direkt nach Zugabe der vortemperierten ABTS-Lösung zu dem warmen Pilz-Extrakt (1), nach 2 Minuten (2), nach 4 Minuten (3), nach 20 Minuten (4)

Nachweis der Enzymaktivitäten der Laccasen im Pilz-Extrakt: Diese grüne Farbreaktion kann für eine photometrische Bestimmung der Enzymaktivität von Laccase im Pilzextrakt genutzt werden. Für die Schule bietet sich als Alternative zum Photometer eine visuell-kolorimetrische Vorgehensweise an. Als Vergleichslösung wurde eine Verdünnungsreihe von oxidiertem ABTS-Lösung im Bereich von 0 bis $5 \text{ U} \cdot \text{L}^{-1}$ angesetzt. Nach 15 Minuten Reaktionszeit kann das Ergebnis gut abgelesen werden (Abb. 9): Die Aktivität der Laccasen im Pilz-Extrakt beträgt etwa 2 U/L .

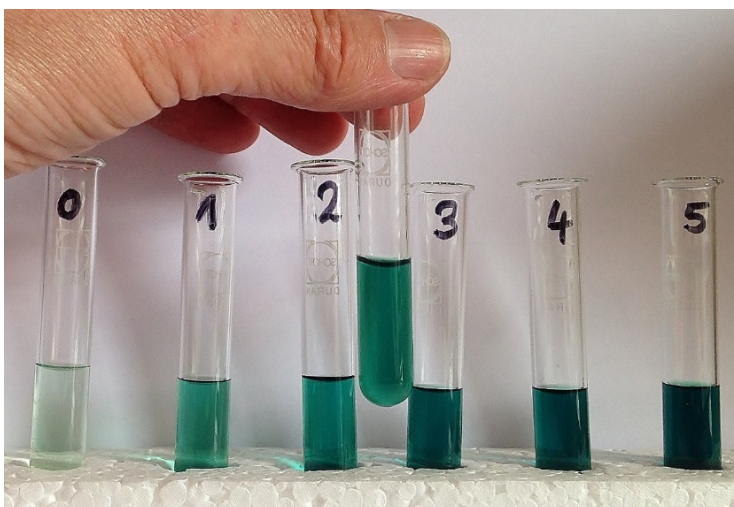


Abb. 9: Farbintensität der Laccase-ABTS-Lösungen und des Pilz-Extrakts

Modellversuch zur Wirkung von Cellulasen in Waschmittel:

Dieser Modellversuch verdeutlicht den Einsatz dieser Enzyme in Waschmitteln. Da Cellulasen ausschließlich im Pilzmycel zu finden sind und die eigene Anzucht sehr aufwändig ist, wurde mit Cellulasen von *Aspergillus niger* ($1,21 \text{ U} \cdot \text{mg}^{-1}$) gearbeitet. Für die Reaktionslösung werden 1 g Cellulase von *Aspergillus niger* in 50 mL dest. Wasser gelöst. Diese Lösung wird unter Rühren auf $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ temperiert und ein Stück Jeans eingetaucht, dessen Oberfläche mit einer Drahtbürste aufgeraut wurde. Während der gesamten Versuchsdauer wird die Temperatur kontrolliert und auch weiter gerührt. Nach ca. 45 bis 60 Minuten wird der Stoff aus der Cellulase-Lösung entnommen: Die Stoffoberfläche ist nun glatt (Abb. 10 rechts).

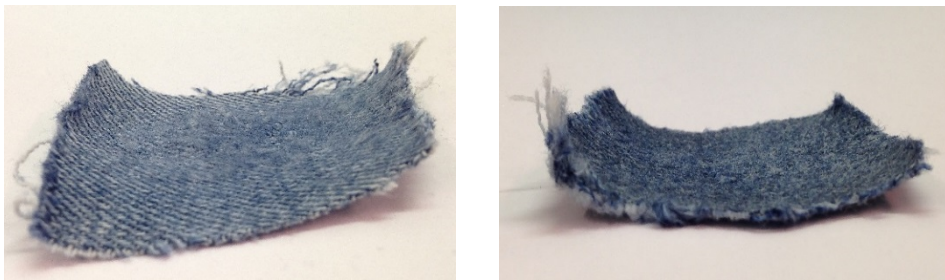


Abb. 10: Aufgeraute Jeansoberfläche (links), glatte Textiloberfläche nach Behandlung mit Cellulase-Lösung (rechts)

Literatur

- Bhat, M. K. (2000). Cellulases and related enzymes in biotechnology. *Biotechnology Advances*, 18, 355–383.
- Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie (Hrsg.). (2015). SOUCI-FACHMANN-KRAUT. Die Zusammensetzung der Lebensmittel, Nährwert-Tabellen. Zugriff am 09.09.2015. Verfügbar unter <http://www.sfk-online.net>
- Helbling, F. (2000). Synthese eines Pilzaromas (1-Octen-3-ol). *Praxis der Naturwissenschaften – Chemie*, 49(3), 19–21.
- Hoegger, Patrick, J., Majcherczyk, A., Dwivedi, R. C., Svobodová, K., Kilaru, S. & Kües, U. (2008). Enzymes in Wood Degradation. In U. Kües (Hrsg.), *Wood production, wood technology, and biotechnological impacts* (S. 383–432). Göttingen: Universitäts-Verlag Göttingen.

- Jander, G., Schweda, E., Rossi, R., Blasius, E. & Strähle, J. (2006). Lehrbuch der analytischen und präparativen anorganischen Chemie. (16., überarbeitete Auflage). Stuttgart: Hirzel Verlag.
- Jones, S. M. & Solomon, E. I. (2015). Electron transfer and reaction mechanism of laccases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 72, 869–883.
- Koschorreck, K. (2008). Expression, Charakterisierung und Optimierung mikrobieller Laccasen für die Biokatalyse. Dissertation, Universität Stuttgart. Stuttgart. Zugriff am 27.08.2015. Verfügbar unter <http://elib.uni-stuttgart.de/opus/volltexte/2009/3866/>
- Krammer, G. (2003). (-)-(R)-Oct-1-en-3-ol. Zugriff am 08.09.2015. Verfügbar unter <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-15-00165>
- Lang, C. & Hartmann-Schreier, J. (2012). Cellulasen. Zugriff am 13.09.2015. Verfügbar unter <https://roempp.thieme.de/roempp4.0/do/data/RD-03-00830>
- Lelley, J. (1976). *Pilzanbau* (Handbuch des Erwerbsgärtners, Band 12). Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer.
- Markl, J. (Hrsg.). (2006). *Biologie* (7. Auflage). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Meixner, A. (1978). *Pilze*. Unterricht Biologie (26), 2–9.
- Niedersächsisches Kultusministerium (Hrsg.). (2006). Das Seminarfach – Hinweise und Empfehlungen für die Schulen. Zugriff am 02.10.2015. Verfügbar unter http://www.mk.niedersachsen.de/portal/live.php?navigation_id=1973&article_id=6319&_psmand=8
- Niedersächsisches Kultusministerium (Hrsg.). (2007). Kerncurriculum für das Gymnasium, Schuljahrgänge 5-10. Naturwissenschaften. Zugriff am 18.04.2015. Verfügbar unter http://db2.nibis.de/heinzdb/cuvo/datei/kc_gym_nws_07_nib.pdf
- Niedersächsisches Kultusministerium (Hrsg.). (2009). Kerncurriculum für das Gymnasium – gymnasiale Oberstufe. Chemie. Hannover. Zugriff am 31.08.2015. Verfügbar unter <http://www.nibis.de/nibis.php?menid=3613>
- Osterath, B., Rao, N., Lütz, S. & Liese, A. (2007). Technische Anwendung von Enzymen: Weiße Wäsche und Grüne Chemie. *Chemie in unserer Zeit*, 41 (4), 324–333.
- Teuscher, J.-M. (2011a). Neue experimentelle Designs zum Thema Naturstoffe im Chemieunterricht: Chemie mit Pilzen. Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena. Jena.