

## 1.5 Inhaltsstoffe der Sojabohne

J. VARGA, W. LINDNER, M. SCHEUCH, I. WENZL, S. RAFOLT, C. SCHIEDER, S. KAPLARI

Als Ernährungswissenschaftlerinnen und Ernährungswissenschaftler sollen die Schülerinnen und Schüler die Inhaltsstoffe von Soja im Vergleich zu anderen Nahrungsmitteln analysieren. Dazu werden ihnen Versuche vorgestellt, die sie selbstständig in Gruppen durchführen können. Auf Basis ihrer allgemeinen biologischen Kenntnisse und des erworbenen Wissens über Soja sollen die Schülerinnen und Schüler Hypothesen formulieren und überprüfen sowie ihre Ergebnisse anschaulich darstellen und präsentieren.

### Überblick

**Schulart:** Sekundarstufe I

**Alter:** 11–15

**Zeitbedarf:** 1–2 Unterrichtseinheiten (50–100 min)

**Link:** <http://mascil.science-edu.at/?go=task#inhalt-soja>

### Aspekte des forschungsorientierten Lernens:

- Informationen selbstständig erarbeiten
- relevante Informationen exzerpieren
- analytisch und logisch denken
- Hypothesen generieren und überprüfen
- Informationen kreativ darstellen und präsentieren
- bekannte mit neuen Wissensinhalten kombinieren

### Bezug zur Arbeitswelt:

- **Kontext:** stoffliche Komponenten der Sojabohne
- **Rolle/Beruf:** Als Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Landwirtschaftskammer erforschen die Schülerinnen und Schüler die Inhaltsstoffe der Sojabohne.
- **Aktivität:** Die Schülerinnen und Schüler führen Analysen durch, protokollieren diese und stellen die Ergebnisse tabellarisch dar.
- **Produkt:** qualitative Liste von Inhaltsstoffen der Sojabohne

## Leitfaden für die Lehrperson

Bei dieser Aufgabe sollen Schülerinnen und Schüler die Inhaltsstoffe von unterschiedlichem Pflanzenmaterial analysieren und vergleichen. Dabei sollen zuerst Hypothesen formuliert und anschließend überprüft werden. Die vorgegebenen Versuche und deren Anleitung dienen der Orientierung. Die Ergebnisse sollen in Bezug auf ihre Relevanz für die menschliche Ernährung interpretiert werden.

- Ziel: Analyse der Inhaltsstoffe von Nahrungsmitteln und Interpretation für die menschliche Ernährung
- Thematik: Erforschen und Experimentieren
- Auswirkungen: Durch die Verbindung des Wissens über die menschliche Ernährung und den gemessenen Inhaltsstoffen sollen die Schülerinnen und Schüler zum kritischen Hinterfragen der menschlichen Ernährung bewegt werden. Die Informationen können für weitere Aufgaben der MASCIL-Reihe „Soja“ verwendet werden.

### Arbeitsmethoden

- Erwartungen formulieren und überprüfen
- Versuche planen, durchführen und dokumentieren
- Informationen sammeln, gestalten und präsentieren

### Informationen zur Durchführung

Die Schülerinnen und Schüler können die zu analysierenden Pflanzenmaterialien selbstständig wählen, aber sollen diese nur jenen Nahrungsmitteln entnehmen, die für die menschliche Ernährung relevant sind. Nachdem sich die Schülerinnen und Schüler mit den Sicherheitsvorschriften (siehe unten) und der Aufgabenstellung vertraut gemacht haben, sollen sie Überlegungen über eine mögliche Zusammensetzung der Inhaltsstoffe in den einzelnen Nahrungsmitteln anstellen und diese schriftlich festhalten. Die so formulierten Hypothesen sollen mithilfe der Versuche überprüft werden. Schlussendlich sollen die Schülerinnen und Schüler eine Verbindung zur menschlichen Ernährung herstellen und daraus Rückschlüsse ziehen. Die Ergebnisse können gruppen- oder klassenweise dargestellt werden.

## Informationen zu den Inhaltsstoffen und Versuchen

Sicherheitsmaßnahmen beim Experimentieren: Konzentriertes und vorsichtiges Arbeiten, (unsichtbare) Lösungsdämpfe nicht einatmen, Hautkontakt mit den Chemikalien sowie (unbewusstes) Berühren von Augen und Mund durch die Finger vermeiden, nach der Arbeit Hände gründlich waschen, Arbeitsraum regelmäßig lüften

### (1) Qualitativer Nachweis von Fett und Protein in Nahrungspflanzen

Dauer: ca. 60 min (Färben und Differenzieren jeweils ca. 30 min)

Fette finden sich in der Pflanze vor allem im Samen, aber auch im Fruchtfleisch, und dienen als Struktur- und Reservestoffe. Lipophile Verbindungen und Fette können als Oleosomen im Cytoplasma, in Fettvakuolen oder in Elaioplasten gespeichert sein. Der qualitative Nachweis dieser erfolgt hier über Einfärben mit der Sudan-IV-Lösung. Sudan-IV ist ein stark apolarer (lipophiler, hydrophober) Farbstoff und daher sehr gut fettlöslich. Folglich ist Sudan-IV in polaren (lipophoben, hydrophilen) Phasen, wie Wasser, unlöslich. Löst sich Sudan-IV in Fettphasen, werden diese rot und lassen sich so von wässrigen Phasen unterscheiden. Für den Fettnachweis bei Getreidekörnern (Karyopsen) wird ein dünner Längsschnitt eines gesamten Getreidekorns in die Sudan-IV-Lösung gelegt. Nach der Differenzierung in Ethanol kann die rote Färbung des Fette speichernden Keimlings makroskopisch beobachtet werden.

Proteine treten in allen Pflanzenzellen auf und werden sowohl kolloidal als auch kristallartig gespeichert. Proteinkristalle sind unter dem Mikroskop häufig sichtbar. Mit einer Coomassie-Brilliant-Blue-Lösung lassen sich Proteine qualitativ nachweisen. Eine solche Färbelösung setzt sich aus Coomassie-Brilliant-Blue G250, konzentrierter Essigsäure und konzentriertem Methanol zusammen. In dieser sauren Lösung werden die Aminosäuren protoniert und bilden so einen Komplex mit dem Farbstoff Coomassie-Brilliant-Blau G-250. Dieser ist zunächst rötlich, in seiner unprotonierten, anionischen Form jedoch blau.

### (2) Qualitativer Nachweis von Stärke in Nahrungspflanzen

Dauer: ca. 10 min

Bei der Photosynthese produzieren Pflanzen Glucose. Die daraus aufgebaute Stärke wird in Reserveorganen wie Früchten und Wurzeln, genauer in den Amyloplasten in Form von Stärkekörnern, abgelagert. Diese Stärkekörner

sind unter dem Mikroskop sichtbar. Qualitativ kann Stärke mit Iodlösungen nachgewiesen werden. Stärke ist ein Makromolekül und entsteht aus über 100 verketteten Glucoseringen. Manche dieser Ketten sind spiralförmig. In die Hohlräume werden die zunächst rötlich gefärbten Polyiodid-Ionen ( $I_5^-$ ) der Lugol'schen Lösung (Kalium-Iodid-Lösung) eingelagert. Dadurch wird oranges Licht stärker absorbiert und eine starke Blaufärbung ist die Folge. Alternativ zur Lugol'schen Lösung können auch andere Iodlösungen, zum Beispiel aus Providon-Iod (erhältlich als Betaisodona von Mundipharma), verwendet werden.

### (3) Halbquantitativer Nachweis von Vitamin C, Glucose und Proteinen

Dauer: ca. 5–20 min, je nach Probenvorbereitung

Vitamin C (Ascorbinsäure), Glucose und Proteine in Lösung können mit vorgefertigten Teststäbchen kolorimetrisch nachgewiesen werden. Dabei ändert ein Indikator auf dem Teststäbchen seine Farbe, wenn er mit dem zu analysierenden Stoff (Probe) reagiert. Lösungen gleicher Farbe bzw. Farbsintensität enthalten die gleiche Probemenge. Über den Vergleich der erhaltenen Farbe mit einer kalibrierten Farbskala kann die Konzentration der Probe abgeschätzt werden. Die Vorteile der hier vorgestellten Methoden liegen in der sicheren, schnellen und einfachen Anwendung. Nachteilig ist jedoch die Ungenauigkeit, wodurch die Messergebnisse nicht mit den in der Literatur angegebenen Werten verglichen werden können. Die fehlende Vergleichbarkeit beruht aber auch auf Sorten-, Alters- und Lagerungsunterschieden.

Die Ascorbinsäure-Konzentration in der Probelösung (Obst- oder Gemüsesaft) wird mit Teststäbchen von Merck (Merckoquant-Ascorbinsäure-Test) ermittelt. Dabei wird die Ascorbinsäure in der Lösung durch einen Farbumschlag des Indikators von gelb nach blau angezeigt. Der Nachweis beruht auf einer Redox-Reaktion, wobei Molybdän-Atome im Indikator durch die Ascorbinsäure reduziert werden. Durch die Elektronenverschiebungen ändert sich die Farbe des Indikators von gelb (Molybdätophosphorsäure-Hydrat) nach blau (Phosphormolybdänblau).

Glucose und Proteine werden mit Teststäbchen von Roche (Combur 4 Test N) nachgewiesen, mit denen normalerweise Urinproben analysiert werden. Auf einem Teststäbchen sind verschiedene Testfelder vorhanden, die den Nachweis von klinisch relevanten Urinbestandteilen ermöglichen. Der Test kann, wie hier beschrieben, zweckentfremdet werden. Dabei sollen nur ungequollene Getreidekörner verwendet werden, da die Protein- und Kohlenhydrat-

synthese sehr schnell nach Quellungsbeginn einsetzen sowie die enthaltene Stärke in ihre Glucose-Bestandteile zerlegt wird.

**Proteinnachweis:** Auf dem entsprechenden Testfeld ist ein Puffergemisch und ein Bromphenolblau-ähnlicher Indikator (3',3'',5',5''-Tetrachlorphenol-3,4,5,6-tetrabromsulfophthalein), der im sauren Milieu (pH = 3,0) eine gelbe Farbe, im nur etwas weniger sauren Milieu (pH = 3,4) hingegen eine grüne Farbe hat. Aufgrund eines Fehlers des Indikators wird die pH-Messung durch Proteine bzw. Amino-Gruppen, die an den Indikator binden, gestört (Proteinfehler). Dieser Fehler wird für den Proteinnachweis genutzt. Im sauren Milieu (pH = 3,0) ändern Proteine ihre Struktur: Die Amino-Gruppe (R-NH<sub>2</sub>) wird vom gelben Indikator (H-Ind) protoniert. Die entstehenden Ionen, die Amino-Gruppe (R-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>) und der nun grüne Indikator-Rest (Ind<sup>-</sup>), ziehen sich an. Ein steigender Proteingehalt, speziell Albumin, wird also mit einem Farbumschlag des Indikators von gelb nach grün angezeigt.

**Glucosenachweis:** Auf dem Testfeld befindet sich ein Enzymgemisch und ein Indikator (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin). Glucose wird durch Luftsauerstoff oxidiert, aber erst dann, wenn das auf dem Testfeld befindliche Enzym Oxidase diese Redox-Reaktion katalysiert. Es entstehen Gluconolacton und Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Dann oxidiert H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, katalysiert durch das Enzym Peroxidase, den Indikator. Durch die Elektronenverschiebungen erhält der Indikator eine blaue Farbe und das zuvor gelb gefärbte Testfeld erscheint grün.

### **Herausforderungen**

Ist der Auftrag klar formuliert? Sind die verwendeten Wirtschaftsdaten auf dem aktuellen Stand? Sind alle Materialien zu besorgen?

### **Didaktisch-methodische Ideen**

Durch das Generieren und Überprüfen von Überlegungen sollen Schülerinnen und Schüler erste Einblicke in wissenschaftliche Forschungsmethoden erhalten. Die Wiederholung und das Verknüpfen von Wissen mit neuen Inhalten festigen das Erlernte und helfen beim Verinnerlichen desselben. Die verwendeten Pflanzenmaterialien sollen für die Ernährung der Schülerinnen

und Schüler relevant sein sowie einen einfachen und anschaulichen Nährstoffnachweis ermöglichen. Wir empfehlen maximal sieben unterschiedliche Pflanzenproben zu wählen.

## Arbeitsblatt

Soja wird weltweit als wichtigster pflanzlicher Eiweißlieferant angebaut und kurbelt den globalen Weltmarkt an. Als Nahrungsmittel wird die Sojabohne aufgrund ihrer essentiellen Inhaltsstoffe angepriesen. Durch die Verwendung als Zusatzstoff landet sie häufiger auf den Tellern, als es den meisten bewusst ist. Als Ernährungswissenschaftlerin oder Ernährungswissenschaftler sollst du dir zunächst überlegen, aus welchen Inhaltsstoffen die vorgegebenen Nahrungsmittel bestehen. Überprüfe anschließend deine Vermutungen experimentell. Die Ergebnisse der Versuche sollen in der Gruppe besprochen, interpretiert und der restlichen Klasse vorgestellt werden. Verbinde diese mit deinem Wissen über die menschliche Ernährung und den Nährstoffbedarf.

## Benötigte Materialien

- Stifte, Papier
- Computer- und Internetzugang
- Literatur
- Pflanzenmaterial (tiefgekühlte, frische oder getrocknete Sojabohnen, Getreidekörner, Obst- und Gemüsesorten wie Äpfel/Birne, Kartoffel, Banane, etc.)
- Mikroskope und Zubehör
- kleine Glasgefäße mit Deckel
- destilliertes Wasser
- Sudan-IV-Färbelösung
- Ethanol
- Coomassie-Brilliant-Blue-Färbelösung
- Methylacetat-Entfärbelösung
- Lugol'sche Lösung
- Messer und Schneidebrett
- Bechergläser
- Saftpresse

- Glasstab
- Kaffeemühle
- Waage
- Zentrifuge
- Faltenfilter
- Reagenzgläser
- Merckoquant-Ascorbinsäure-Test (aus der Apotheke)
- Combur 4 Test N (Harnstreifen aus der Apotheke)

## **Aufgabe und Durchführung**

### **1. Überlegungen und Erwartungen**

Pflanzen sind für die menschliche Ernährung von grundlegender Bedeutung. Überlege, aus welchen Inhaltsstoffen und in welcher Zusammensetzung die gegebenen Pflanzenmaterialien bestehen. Vergleiche die einzelnen Pflanzenproben miteinander.

### **2. Experimentieren**

Führe die Versuche wie in der Anleitung dargelegt durch und dokumentiere deine Vorgehensweise, Beobachtungen und Messwerte in Form eines Forschungsprotokolls. Wie seid ihr zu euren Ergebnissen gekommen?

### **3. Interpretation**

Beschreibe die Ergebnisse der Versuche und vergleiche diese anschließend mit deinen zuvor formulierten Überlegungen. Welche Ergebnisse liegen vor? Stimmen diese mit euren Überlegungen überein? Worauf basieren evtl. Erwartungsfehler?

### **4. Menschliche Ernährung**

Überlege dir die Bedeutung der Ergebnisse für die menschliche Ernährung. Formuliere ein Informationsschreiben für eine populäre Zeitschrift.

## Anleitung zu den Versuchen

aus: Brünoth, M. (2008). Nahrungspflanzen und ihre Inhaltsstoffe. Diplomarbeit. Universität Innsbruck

### (1) Qualitativer Nachweis von Stärke in Nahrungspflanzen

**Material:** Mikroskop, Mikroskopierzubehör, Leitungswasser, Lugol'sche Lösung, Pflanzenmaterial

**Ziel:** Der Pflanzeninhaltsstoff Stärke soll durch Anfärben mit Lugol'scher Lösung qualitativ nachgewiesen werden.

**Sicherheitsvorkehrungen** Arbeite mit der Lugol'schen Lösung vorsichtig, da sie schwer zu entfernende Flecken auf Haut und Kleidung hinterlässt!

### Arbeitsanleitung

#### 1. Präparat herstellen

Fertige ein Schabepreparat an, indem du mit einer Lanzettadel oder einer Rasierklinge von einer frisch angeschnittenen Fläche des Versuchsobjektes einige Zellen abschabst und sie in einen Wassertropfen auf einen Objektträger überträgst. Versuche anschließend unter dem Mikroskop Stärkekörner zu finden.

#### 2. Einfärben

Gib einen Tropfen Lugol'sche Lösung an den Deckglasrand und sauge die Lösung mit Filterpapier unter dem Deckglas so durch, dass du einen Farbgradienten erhältst.

#### 3. Beobachten

Beobachte die Verfärbungen unter dem Mikroskop. Was kannst du beobachten? Kannst du diese Beobachtungen erklären?



## (2) Qualitativer Nachweis von Fett und Protein in Nahrungspflanzen

**Material:** Mikroskop, Mikroskopierzubehör, kleine Glasgefäße mit Deckel; destilliertes Wasser, Pflanzenmaterial;  
Fettnachweis: Sudan-IV-Färbelösung, Ethanol-Entfärbelösung;  
Proteinnachweis: Coomassie-Brilliant-Blue-Färbelösung, Methylacetat-Entfärbelösung

**Ziel:** Die Pflanzeninhaltsstoffe Fette und Proteine sollen durch Anfärben mit Sudan-IV-Lösung bzw. Coomassie-Brilliant-Blue-Lösung qualitativ nachgewiesen werden.

**Sicherheitsvorkehrungen** Methylacetat enthält giftiges Methanol und die Färbelösungen enthalten ebenfalls bedenkliche Stoffe. Arbeite daher mit allen Lösungen vorsichtig. Das heißt: Die Lösungen nicht einatmen, Hautkontakt unbedingt vermeiden und nach der Arbeit Hände gut waschen.

### Arbeitsanleitung

#### 1. Präparation

Fertige dünne Schnitte an und untersuche sie unter dem Mikroskop auf Proteinkristalle und Fetttropfen.

#### 2. Lösungen in Gläser füllen

Fettnachweis: Befülle ein kleines Glasgefäß mit ein wenig Sudan-IV-Lösung sowie ein anderes mit der dazugehörigen Entfärbelösung. Verschließe die beiden Gefäße mit Deckeln.

Proteinnachweis: Befülle ein weiteres Glasgefäß mit ein wenig Coomassie-Brilliant-Blue-Lösung sowie ein anderes mit der dazugehörigen Entfärbelösung. Verschließe die beiden Gefäße mit Deckeln.

#### 3. Färben

Fettnachweis: Überführe einen geeigneten Schnitt in die Sudan-IV-Lösung und nach ca. 15 min zum Differenzieren in die 96%ige Ethanol-Entfärbelösung.

#### 4. Entfärben

Belasse die Schnitte für einige Minuten in der Entfärbelösung. Überführe die Schnitte anschließend in destilliertes Wasser und dann auf einen Objektträger.

#### 5. Beobachten

Beobachte die Verfärbungen unter dem Mikroskop. Was kannst du beobachten? Kannst du diese Beobachtungen erklären?

### (3) Halbquantitativer Nachweis von Vitamin C, Glucose und Proteinen

**Material:** Messer, Schneidebrett, kleine Bechergläser, Saft- oder Zitronenpresse, Glasstab, Kaffeemühle, Waage, Zentrifuge, Faltenfilter, Teststäbchen mit Farbskalen, Reagenzgläser, Reagenzglasgestell, Reagenzglashalter, Messpipetten, destilliertes Wasser, Pflanzenmaterial

**Ziel:** Der Gehalt an Vitamin C, Glucose und Gesamtprotein in Nahrungspflanzen soll mithilfe von Teststäbchen halbquantitativ nachgewiesen werden.

**Sicherheitsvorkehrungen** Verschließe die Teststäbchen-Dosen sofort nach Entnahme eines Teststäbchens wieder, damit die Teststäbchen in der Dose nicht mit anderen Substanzen in Berührung kommen und so lange haltbar bleiben. Achte darauf die Testfelder der Teststäbchen nicht zu berühren.

### Arbeitsanleitungen

#### 1. Probenvorbereitung Obst und Gemüse

Zerschneide das zu untersuchende Obst oder Gemüse mit einem Messer und quetsche es mit einer Presse aus, sodass du ein wenig Obst- bzw. Gemüsesaft erhältst. Fülle den Saft in ein kleines Becherglas. Ist der Saft stark gefärbt, kannst du ihn mit einer definierten Menge destillierten Wassers verdünnen (Verhältnis notieren, z. B. 1:1, 1:4).

## 2. Probenvorbereitung für Getreidekörner, Samen und Nüsse

Zermahle einige der Körner, Samen oder Nüsse mithilfe einer elektrischen Kaffeemühle oder eines anderen geeigneten Gerätes. Wiege eine bestimmte Menge (z. B. 3 g) des Pulvers in ein Becherglas und versetze es danach mit einer bestimmten Menge destillierten Wassers (z. B. 10 ml). Lasse die Suspension ca. 15 min stehen. Filtriere die Suspension anschließend durch einen Faltenfilter in ein anderes Becherglas. Anstelle des Filtrierens kannst du auch zentrifugieren. Fülle das Filtrat danach in ein leeres Becherglas.

## 3. Vitamin C-Nachweis

Tauche die Reaktionszone des Teststäbchens ca. 1 s in die Lösung im Becherglas oder drücke sie ca. 5 s lang auf eine frisch angeschnittene Stelle des zu untersuchenden Obsts bzw. Gemüses. Schüttele überschüssige Flüssigkeit vom Stäbchen ab und versuche nach 10 s die Farbe der Reaktionszone bestmöglich einem Farbfeld der Farbskala für Vitamin C zuzuordnen.

## 4. Glucose- und Proteinnachweis

Tauche alle Reaktionszonen des Teststäbchens ca. 1 s in die Lösung im Becherglas oder drücke sie ca. 5 s lang auf eine frisch angeschnittene Stelle des zu untersuchenden Obsts bzw. Gemüses. Schüttele überschüssige Flüssigkeit vom Stäbchen ab und versuche anschließend nach 60 s die Farbe der Reaktionszonen bestmöglich jeweils einem Farbfeld der Farbskalen für Glucose und Protein zuzuordnen.

## 5. Kontrolle und Mittelung

Führe die beiden Nachweise für jede Probe insgesamt mindestens drei Mal durch und notiere die ermittelten Konzentrationen. Bilde zum Schluss einen Mittelwert.

## Handout

Soy is cultivated around the world and is stimulating the world market. It has become the most important plant-based protein source. Due to its nutritional components the soy bean has become very popular. Being used as an additive to various food products, soy ends up on people's plates more often than they would know of.

You are working as a nutritionist and therefore need think about which nutritional components you would expect in the selected food samples. Test your hypotheses by carrying out the experiments. The results should be discussed and interpreted within the group before presenting them to the entire class. Connect your results with your knowledge about human nutritional habits and needs.

### **Material**

- Pens, Paper
- Computer and internet access
- Literature
- Plant material (frozen, fresh or dried soy beans, cereal seeds, fruit or vegetables such as apples, pears, potatoes, banana, etc.)
- Microscopes and equipment
- Small glass containers with lids
- Distilled water
- Sudan-IV staining solution
- Ethanol
- Coomassie Brilliant Blue staining solution
- Methyl acetate
- Lugol's iodine
- Knives and cutting boards
- Glass cups
- Juice extractor
- Glass stick
- Coffee grinder
- Scale
- Centrifuge
- Folded filter
- Test tubes
- Merckoquant ascorbic acid test (from pharmacy)
- Combur 4 Test N (urine test strips from pharmacy)

## Carrying out the task

**1. Considerations and Expectations** Plants play an integral part in human nutrition. Consider which nutritional components and compositions you would expect in the various plant materials. Compare the samples with each other.

### 2. Experiments

Carry out the experiments as described in the instructions. Document your results. How did you achieve these results? Keep a research log.

### 3. Interpretation

Describe the results from the experiments and compare them with the hypotheses you generated before. What are your results? Do they match your hypotheses? What could be the reasons for possibly different expectations?

### 4. Human nutrition

Think about the significance of your results for human nutrition. Write an informative article for a popular magazine.

## Experiment instructions

Source: Brünoth, M. (2008). Nahrungspflanzen und ihre Inhaltsstoffe. Diplomarbeit. Universität Innsbruck

### (1) Qualitative starch detection in food plants

**Material:** Microscope and equipment, tap water, Lugol's iodine, plant material

**Aim:** A qualitative detection of starch using Lugol's iodine's staining effects.

**Safety precaution** Be careful when working with Lugol's iodine as it stains skin and fabrics!

**Instructions****1. Preparing the sample**

Prepare the sample by scraping cells from a freshly cut area of your object using a razor or lancet needle. Add the cells to a drop of water on a microscope slide. Try to indentify granules of starch (amylum) under the microscope.

**2. Staining**

Add a drop of Lugol's iodine to the edge of the cover glass and create a colour gradient by using filter paper to draw the liquid through.

**3. Observation**

Observe the stains under the microscope. What do you observe? Can you explain this observation?

**(2) Qualitative lipid and protein detection in food plants**

**Material:** Microscope and equipment, small glass containers with lids, distilled water, plant material, Lipid detection: Sudan-IV staining solution, ethanol (destaining solution); Protein detection: Coomassie Brilliant Blue staining solution, methyl acetate destaining solution

**Aim:** The qualitative detection of lipids and proteins in plants by staining them with a Sudan-IV solution and respectively a Coomassie Brilliant Blue solution.

**Safety precaution** Be careful when working with methyl acetate (destaining solution) as it contains methanol which is hazardous to one's health!

**Instructions****1. Preparation**

Prepare thin slices and examine them for lipid drops and proteins crystals under the microscope.

## 2. Putting the solutions in containers

Lipid detection: Add a small amount of Sudan-IV solution to a small glass container. Add the destaining solution to another glass container. Cover both with lids.

Protein detection: Add a small amount of Coomassie Brilliant Blue solution to another container. Prepare a fourth container with destaining solution. Cover both containers with lids.

## 3. Staining

Lipid detection: Add a suitable sample slice to the Sudan-IV solution and transfer it into the destaining solution (96 % ethanol) after approx. 15 min for differentiation.

Protein detection: Add a suitable sample slice to the Coomassie Brilliant Blue solution and transfer it into the destaining solution (methyl acetate) after approx. 15 min for differentiation.

## 4. Destaining

After a couple of minutes of differentiation, transfer the samples into distilled water on a microscope slide and observe the decolourisation under the microscope.

### (3) Semi-quantitative detection of vitamin C, glucose and proteins

**Material:** Knife, cutting board, small cups, juice extractor, glass stick, coffee grinder, balance, centrifuge, folded filter, test strips, colour range, test tubes and holder, measuring pipettes, distilled water, plant material

**Aim:** The amount of vitamin C, glucose and total protein in food plants is to be tested semi-quantitatively by using test strips.

**Safety precaution** Close the test strip container immediately to avoid contamination with other substances and to ensure durability.

## Instructions

### 1. Sample preparation (fruit and vegetables)

Cut the fruit and vegetables and extract their juice using a juice extractor. Put the juice in a glass cup. In case its colour is too strong, dilute it with distilled water. Take notes of the ratio (e. g. 1:1, 1:4)

### 2. Sample preparation for cereal grains, seeds and nuts

Grind the seeds, grains or nuts with a coffee grinder or any other suitable gadget. Weigh out a defined amount of it (e. g. 3 g) into a glass cup and mix it with distilled water (e. g. 10 ml). Let it sit for 15 minutes.

Filter the suspension with a folded filter into another glass cup. Instead of filtering it, you could also centrifuge it. Put the filtrate into an empty glass cup.

### 3. Vitamin C detection

Dip the test strip into the solution for approx. 1 second or press it against a freshly cut part of the fruit or vegetable for approx. 5 seconds. Shake off any excess liquid. After 10 seconds, try to classify the colour shown in the reaction zone of the test strip by comparing it with the vitamin C colour range.

### 4. Glucose and protein detection

Dip the reaction zones of the test strips into the solution for approx. 1 second or press the test strip against a freshly cut part of the fruit or vegetable for approx. 5 seconds. Shake off any excess liquid. After 60 seconds, classify the colours by comparing them with the glucose and protein colour ranges.

### 5. Check and determine

Repeat the detection tests three times for each sample and write down the different concentrations. Finally, determine the mean value.