

HINTERGRUNDWISSEN FÜR SCHÜLER UND SCHÜLERINNEN ZU:

NATÜRLICHEN NANOMATERIALIEN

Um uns herum gibt es **viele natürliche Nanomaterialien** und in diesem Experiment lernst Du, dass zwei sehr gebräuchliche Materialien, nämlich Milch und Gelatine, dazu zählen. Die Eigenschaften dieser Materialien sind direkt mit ihrer molekularen Organisation verbunden, welche Nanostrukturen enthält.

In diesem Experiment:

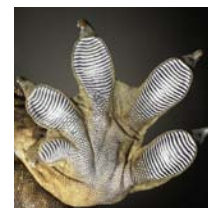
1. bereitest Du Gelatine vor und testest sie mit einem Laserstift um ihre kolloidale Natur zu bestätigen.
2. bestätigst Du, dass Milch ein Kolloid ist und behandelst sie mit Säure um ihre Aggregation zu erzeugen. Dieses Experiment liefert einen praktischen Nachweis über die Verbindung zwischen Struktur und Funktion und darüber, wie die Veränderung der molekularen Organisation eines Materials wie Milch zu Materialien mit unterschiedlicher Farbe, unterschiedlichem Geruch und Geschmack führt!

HINTERGRUNDINFORMATION

Natürliche Nanomaterialien

Zahlreiche Materialien, die der **natürlichen Welt** (tierisch und mineralisch) angehören, besitzen Eigenschaften, die das Ergebnis **ihnen innewohnender Nanostrukturen** sind. Das Zusammenspiel von Licht, Wasser oder anderer Materialien mit diesen Nanostrukturen verleiht diesen natürlichen Materialien **bemerkenswerte Eigenschaften, die wir mit unseren Augen sehen können**. Diese Nanostrukturen entstehen aus der supramolekularen Organisation dieser Materialien: Dutzende bis hunderte von Molekülen, die im Nanobereich in verschiedenen Formen angeordnet sind. Um uns herum gibt es täglich **hunderte Beispiele von Nanowissenschaft**, von Geckos, die kopfüber – scheinbar entgegen der Schwerkraft – die Decke entlang laufen über Schmetterlinge mit irisierenden Farben bis hin zu Glühwürmchen, die nachts leuchten.

Abbildung 1. Beispiele natürlicher Nanomaterialien. Von oben links im Uhrzeigersinn: ein Schmetterling, der Fuß eines Geckos, Blätter der Kapuzinerkresse, Milch. (Fotos: oben links, Wiki Commons, Creative Commons Attribute ShareAlike 3; oben rechts: A. Dhinojwala, Universität von Akron, NISE Network, abgebildet unter Einhaltung der Geschäftsbedingungen von NISE Network; unten links: Wiki Commons, Creative Commons Attribute ShareAlike 3; unten rechts: iNANO, Universität von Aarhus, Creative Commons Attribution ShareAlike 3.0)



Die Forschung, die diese Ergebnisse erbracht hat, wurde gefördert vom 7. Rahmenprogramm (FP7/2007-2013) der Europäischen Gemeinschaft unter dem Zuschussabkommen Nr. 233433

In der Natur stoßen wir auf außergewöhnliche Lösungen zu komplexen Problemen in der Form von feinen Nanostrukturen, mit denen genaue Funktionen verbunden sind.

In diesem Experiment sind die natürlichen Nanomaterialien, die Du untersuchst, **Gelatine und Milch**. Beide sind **Kolloide**. Ein *Kolloid* ist ein chemisches Gemisch, in dem eine Substanz in einer anderen gleichmäßig fein verteilt ist, aber **die Partikel der verteilten Substanz sind in dem Gemisch nur suspendiert**, sie sind nicht vollständig in ihm aufgelöst (nicht wie eine *Lösung*). Das liegt daran, dass die Partikel in einem Kolloid größer sind als in einer Lösung. Im Allgemeinen **ist ein Kolloid aus Partikeln mit einer Größe von 10-300 nm zusammengesetzt**. Sie sind klein genug, um gleichmäßig verteilt zu sein und homogen auszusehen, aber groß genug um **Licht zu streuen**. Die Partikel in einem Kolloid können so gut verteilt sein, dass sie wie eine Lösung aussehen (z.B. durchsichtig).

Ein einfacher Weg zu testen, ob ein Gemisch eine Lösung oder ein Kolloid ist, besteht darin, **es mit einem Laserstrahl zu durchleuchten**: Das Licht wird nur von dem Kolloid gebrochen werden. **VORSICHT**: Leuchte mit einem Laserstrahl nie in Augennähe und schaue niemals direkt in den Laserstrahl!

In diesem Experiment erkennst Du, dass **ohne diese Nanostrukturen gewöhnliche Materialien wie Milch ihr Aussehen und ihre Funktion verlieren**.

Gelatine

Gelatine ist eine geschmackslose solide Substanz, die aus dem Collagen in tierischer Haut und Knochen stammt. Sie wird als Geliermittel in Lebensmitteln (Kuchen usw.), als Arzneimittel (z.B. Gelatinekapseln), in Kosmetikprodukten und in der Fotografie eingesetzt.

Gelatine ist ein **Protein**, das durch **partielle Hydrolyse von Collagen** produziert wird, das in den Knochen, in damit verbundenem Gewebe, Organen und in einigen Eingeweiden von **Säugetieren** wie Schweinen zu finden ist. Gelatine von **Fisch** wird jedoch neuerdings auch gebräuchlich.

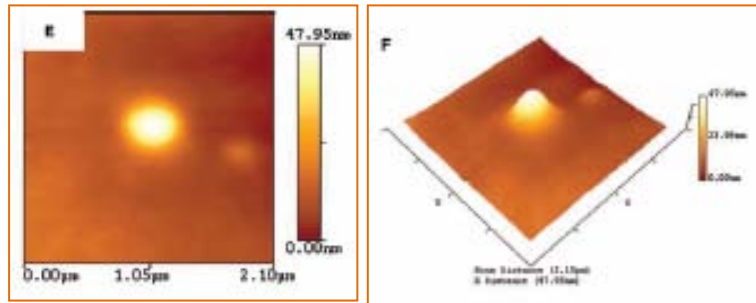
Gelatine ist häufig in Puderform anzutreffen. Wenn das Puder mit Wasser vermischt wird, formt es eine Lösung von hoher Viskosität, die nach Abkühlung zu einem Gel wird, einem **kolloidalen Gel**. Wenn Gelatine-Gel erhitzt wird, wird es flüssig und wenn es abkühlt, wird es wieder härter. Deshalb ist seine Existenz als Gel auf ein **spezifisches Temperaturfenster** begrenzt.

INWIEFERN IST SIE „NANO“? Neue Studien mit dem **Atomkraftmikroskop (AKM)** haben gezeigt, dass Gelatine aus zahlreichen **Nanostrukturen** besteht, die verschiedene Formen haben, je nach Art der analysierten Gelatine. Die AKM-Analyse von Gelatine, die aus der Haut des Katzenwels (*Ictalurus punctatus*) extrahiert wurde, hat das Vorhandensein von **ringförmigen Poren** mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 118 nm und **kugelförmige Nano-Erhöhen** mit einem

Die Forschung, die diese Ergebnisse erbracht hat, wurde gefördert vom 7. Rahmenprogramm (FP7/2007-2013) der Europäischen Gemeinschaft unter dem Zuschussabkommen Nr. 233433

Durchmesser von rund 260 nm nachgewiesen. **Das Vorhandensein dieser Nanostrukturen beweist, dass Gelatine ein Kolloid ist und erklärt seine lichtbrechenden Eigenschaften.**

Abbildung 2. AKM Bilder von aus Katzenwels extrahierter Gelatine, die das Vorhandensein kreisförmiger Nanostrukturen zeigen. (Fotos: abgedruckt mit der Erlaubnis von Wiley-Blackwell Publishing Ltd von Yang et al., Journal of Food Science (2006), 72(8), pp c430-c440, copyright (2006) Wiley-Blackwell Publishing Ltd.).



Milch

Kuhmilch enthält eine Anzahl von Biomolekülen, wie Lipiden und Proteinen, die in Wasser verteilt sind. Die Menge an Proteinen liegt je nach Rasse bei 2,5 bis 3,5%, wovon rund 80% **Caseine** sind (und die restlichen 20% Molke oder Serumproteine). Die Casein-Gruppe umfasst vier Proteine: α_{s1} -Casein, α_{s2} -Casein, β -Casein und κ -Casein. Die Caseine zeichnen sich dadurch aus, dass sie Phosphorproteine sind, die sich bei einem pH 4,6 (isoelektrischer Punkt) abtrennen, dem pH-Wert, bei dem Molkenproteine löslich bleiben. Eine andere Eigenschaft von Caseinen ist ihre Existenz als **Caseinmicellen**, die **50-300 nm groß** sind. Micellen enthalten die Caseine verbunden mit Calcium, Phosphat und einer kleinen Menge Citrat. Als solches ist Milch ein Kolloid (ein Gemisch aus Nanopartikeln, die gleichmäßig verteilt sind, aber nur in einem flüssigen Medium suspendiert sind). Das Vorhandensein dieser Micellen ist aufgrund ihrer Lichtbrechung für die **weiße Farbe der Milch** verantwortlich.

VON DER STRUKTUR ZUR FUNKTION

Die feine molekulare Selbstorganisation von Proteinen und Mineralien in der Milch ist von grundlegender Bedeutung für die natürliche Calciumtransportfunktion der Milch von der Mutter zu ihrem Nachwuchs. Zahlreiche Studien haben nachgewiesen, dass diese Organisation zu Nanostrukturen führt, die genaue Funktionen erfüllen (**Caseinmicellen**). Im nächsten Abschnitt wird beschrieben, wie diese Organisation sowohl durch elektrostatische als auch durch hydrophobe Interaktion zwischen den Proteinen, aus denen die Milch besteht, und einigen Mineralien, die mit diesen Proteinen verbunden sind, festgelegt wird. Ohne diese Feinorganisation würde das Calcium nicht in den Milch-Micellen „eingeschlossen“ bleiben und die biologische Funktion der Milch wäre nicht gegeben.

MILCHVERARBEITUNG

Die Milchverarbeitung mit unterschiedlichen Behandlungsmethoden ist in der Molkereiindustrie weit verbreitet. Joghurt beispielsweise ist ein fermentiertes Milchprodukt, das durch das kontrollierte Wachstum spezifischer Mikroorganismen gewonnen wird – hauptsächlich Bakterien, die Laktose (Milchzucker) in Milchsäure verwandeln. Indem man den pH-Wert der Milch verringert, verändert man ihre Konsistenz und ihren Geschmack. Bei der Käseherstellung werden Enzyme eingesetzt um die Anhäufung und Abscheidung der Caseine herbeizuführen. Wie im nächsten Abschnitt erläutert, wird in allen Milchverarbeitungsmethoden **die molekulare Organisation der Caseine verändert**, was zu einer Verdickung, einer Abscheidung und anderen Auswirkungen führt. Denn das Aussehen, der Geschmack und andere „Makro“-Eigenschaften der Milk stehen in enger Verbindung zu ihrer supramolekularen (Nano)-Struktur.

In diesem Experiment nutzt Du Essig (eine Säurequelle) und Hitze zur Veränderung der Eigenschaften von Milch.

CASEINE

Das Casein in Milch (das einen fast neutralen pH-Wert von ungefähr 6,7 hat) hat eine negative Ladung (der I.P. liegt bei 4,6). Alle Caseine, außer dem k-Casein, besitzen die Fähigkeit, **sich mit Ca^{2+} zu verbinden, welches hauptsächlich durch ihre Phosphatrückstände entsteht**. Das Binden von Ca^{2+} ist wichtig, damit die Milch ihre Funktion erfüllen kann, nämlich Calcium (und andere Nährstoffe) von der Mutter zu ihrem Nachwuchs zu transportieren. Jedes Casein ist aus einer unterschiedlichen Aminosäuresequenz zusammengesetzt und besitzt deshalb eine unterschiedliche Sekundär- und Tertiärstruktur.

CASEINMICELLEN: STRUKTUR UND FUNKTION

Caseine in Milch existieren nach Meinung der Forscher als **Caseinmicellen** mit einer Größe von **50-300 nm**. Micellen enthalten die **Caseine verbunden mit Calcium, Phosphat und einer kleinen Menge Citrat**. Die Struktur von Caseinmicellen (wie die der Caseine selbst) ist noch immer Thema von Diskussionen und intensiver Forschung. Da alle Caseine eine hydrophobe Region und eine polare Region aufweisen, geht man davon aus, dass hydrophobe Wechselwirkungen sowie elektrostatische Wechselwirkungen eine Rolle spielen bei der Selbstzusammensetzung der Caseine um Caseinmicellen zu bilden. Caseinmicellen unterscheiden sich von den Polymeren einzelner Caseine in einem wichtigen Aspekt: Sie enthalten anorganisches Calciumphosphat, welches in der Form kleiner mikrokristalliner Einlagerungen besteht und **Calcium Nanocluster** genannt wird. Die Tatsache, dass die Stabilität von Caseinmicellen nicht nur auf elektrostatischer Interaktion beruht, wird durch die Tatsache nachgewiesen, dass **Caseinmicellen anhand von Harnstoff getrennt werden können**, einem Stoff, der die Calciumphosphatbrücken nicht zerbricht.

Die Forschung, die diese Ergebnisse erbracht hat, wurde gefördert vom 7. Rahmenprogramm (FP7/2007-2013) der Europäischen Gemeinschaft unter dem Zuschussabkommen Nr. 233433

Es wurden **zwei Bindungsarten** zwischen den Caseinen und den Caseinmicellen festgestellt:

- Die erste Bindung ist **hydrophob**, dabei bilden zwei oder mehr hydrophobe Regionen von verschiedenen Molekülen (α -Caseine und β -Caseine) einen Cluster. Diese sind in **Abbildung 3** als **rechtwinklige Balken** dargestellt.
- Die zweite Bindung besteht aus **hydrophilen, geladenen Regionen**, die Phosphoresin Cluster enthalten, die sich mit kolloidalen Calciumphosphat-Nanoclustern verbinden (in der Abbildung 3 als CCP dargestellt).

Die k-Caseine besitzen nicht die Phosphoresingruppe um sich mit den Calcium-Nanoclustern zu verbinden, daher ist ihre Bindung nur durch hydrophobe Wechselwirkung möglich. Zudem können die Micellen nicht über die k-Caseine hinauswachsen, die daher in der Micelle eine äußere Schicht bilden. Die **Rolle der k-Caseine besteht darin, die Caseinmicellen zu stabilisieren** und dadurch ein übermäßiges Wachstum und eine übermäßige micellare Aggregation zu verhindern, was ansonsten zu Ausfällung führen würde.

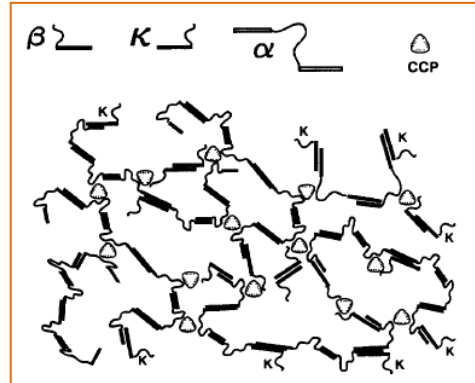


Abbildung 3. Duales Bindungsmodell von Caseinmicellen mit α -, β - und κ -Casein wie beschrieben abgebildet. Nachdruck von: Horne D.S., Inter. Dairy Journal (1998), 8 (3), 171-177, mit Erlaubnis von Elsevier.

CASEINMICELLEN DISSOZIATION UND AGGREGATION

Wie oben beschrieben besitzen Caseinmicellen eine komplexe Struktur, die aus einem Zusammenspiel von hydrophoben und elektrostatischen Interaktionen besteht. Die Erhaltung der micellaren Intaktheit ist ein Balanceakt und es gibt verschiedene Methoden, um diese Balance zu stören. Diese Methoden sind in der Molkereiindustrie sehr verbreitet um Käse und fermentierte Produkte wie Joghurt usw. herzustellen.

- **die Erhöhung des pH (auf ca. 8)** führt zu einem **Zerfall der Caseinmicellen**. Eine Wirkung davon ist beispielsweise, dass erhitzte Milch transparenter wird. Das liegt daran, dass die Erhöhung des pH von der natürlichen Neutralität die Phosphoserylgruppen von einfach geladenen zu doppelt geladenen Einheiten verwandelt, die die Calciumphosphat-Nanocluster nicht mehr binden. Die erhöhte negative Ladung der Micellen führt zu elektrostatischer Abstoßung und die Micellen zerfallen.

- **Die Verringerung des pH auf den isoelektrischen Punkt (4,6)** führt zu einem Zerfall der Caseinmicellen. Das liegt daran, dass Caseinmicellen nur dank des Vorhandenseins von Calciumphosphat bestehen; dessen Auflösung führt also zwangsläufig zu Veränderungen in der Stabilität der Micellen. Wenn Milch eine Säure (ein Protonenspender) hinzugefügt wird, werden die Phosphoseryl- und Carboxylgruppen protoniert, so dass sie nicht mehr elektrostatisch mit den Calciumphosphat-Nanoclustern interagieren können, welche sich somit aus den Micellen lösen. Das führt jedoch nicht automatisch dazu, dass die Caseinmicellen zerfallen. Bei Temperaturen unter 25°C zerfallen sie zunehmend, ansonsten bleiben die Caseine in den Micellen. Diese Wirkung wird in dem Experiment überprüft, indem man kalter Milch Essig (eine Säurequelle) hinzufügt. Der Grund liegt darin, dass die Stabilität von Caseinmicellen nicht nur von der elektrostatischen Wechselwirkung abhängt, sondern auch von der hydrophoben Wechselwirkung. Und diese ist äußerst temperaturabhängig: die hydrophobe Wechselwirkung ist bei höheren Temperaturen stärker. **Deshalb erhalten hydrophobe Wechselwirkungen die Stabilität der Caseinmicellen in kalter Milch, auch wenn der pH auf den isoelektrischen Punkt gesenkt wurde.** Auf der anderen Seite **zerfallen die Micellen, wenn die Milch nach der Erwärmung (auf rund 60°C) angesäuert wird (das Calciumphosphat löst sich von der Micelle) und aggregieren aufgrund der gesteigerten elektrostatischen Kräfte und gesteigerter hydrophober Wechselwirkung.** Dies wird in der Übung getestet, indem warmer und kalter Milch Essig hinzugefügt wird.

- **Einsatz von Chymosin führt zu Ausfällung und Entstehung eines Quarks.** Diese Vorgehensweise wird bei der **Käseherstellung** angewandt. Chymosin ist ein Enzym in Lab, das aus Kälbermägen gewonnen wird und bei der Käseherstellung verwendet wird. Chymosin greift gezielt eine einzige Bindung im k-Casein an. Wie oben erklärt, ist das Vorhandensein von k-Caseinen von wesentlicher Bedeutung für die Gesamtstabilität der Caseinmicellen. Der Zerfall des k-Caseins führt deshalb zu einem Stabilitätsverlust der Micellen, sie aggregieren und bilden einen Quark.

- Die kontrollierte Zugabe von Milchsäurebakterien (Bakterien, die Milchsäure produzieren, wie beispielsweise Lactobacillaceae, Lactococci und Leuconostoc) unter bestimmten Verarbeitungsbedingungen führt zu fermentierten Milchprodukten wie Joghurt. Dieser Prozess unterscheidet sich von einfacher Ansäuerung, da die Milch wärmebehandelt wird und Molkenproteine hinzugefügt werden. Die Verdickung wird durch die Ansäuerung hervorgerufen, führt jedoch nicht zur Bildung eines Quarks, sondern zu einem Produkt, das dickflüssiger ist als reine Milch.

WAS LEHRT UNS DIESES EXPERIMENT ÜBER NANOCHNOLOGIE? Durch diese Übung lernst Du zwei grundlegende Konzepte:

- **Struktur bedeutet physikalische Eigenschaften (Farbe, Geruch usw.):** Materialien in der „realen“ natürlichen Welt, wie Milch, sehen so aus, wie sie es tun aufgrund von feinen Nanostrukturen, die sie besitzen. Milch ist weiß, weil sie kolloidale Nanopartikel (Micellen) besitzt. Wenn wir die Struktur dieser

Micellen verändern, verändern wir einige „Makro“-Eigenschaften der Milch wie ihre **Farbe** und ihren **Geschmack**.

- **Struktur bedeutet Funktion:** natürliche Materialien besitzen sehr spezifische Funktionen, die von der feinen Supraorganisation ihrer Moleküle (Nanostrukturen) vorgegeben werden. Wenn wir diese verändern, können wir ein Material mit einer neuen Funktion erhalten. Bei der Käseproduktion führt die Veränderung der Caseinmicellen durch bestimmte Prozesse (z.B. Behandlung mit Chymosin oder Fermentierung durch Milchsäurebakterien) zu unterschiedlichen Produkten (Käse, Joghurt usw.). **Genau das ist das Konzept der Nanotechnologie:** neue Materialien mit neuen Funktionen entwickeln anhand der Bearbeitung ihrer molekularen Organisation.