

Erasmus +

KA2- Leitaktion 2: Zusammenarbeit zur Förderung von Innovation und zum Austausch über bewährte Verfahren

KA229 –Schulaustausch Partnerschaften

Debrecen, 2019

**Die pharmazeutische Industrie** entdeckt, entwickelt, erzeugt und vermarktet Medikamente oder pharmazeutische Arzneimittel für die medizinische Anwendung, die dann Patienten verabreicht werden oder die die Patienten sich selbst verabreichen mit dem Zweck Patient zu heilen, zu schützen oder ihre Symptome zu vermindern. Die Arzneiform für ein Arzneimittel beinhaltet den Arzneimittelwirkstoff, der der biologisch aktive Bestandteil ist. Arzneimittelwirkstoffe können durch chemische Synthese, Extraktion, biologische Verfahren, durch Rückgewinnung von natürlichen Quellen, oder durch beliebige Kombinationen dieser hergestellt werden.

Bei biologischen Verfahren geht es hauptsächlich um Fermentation, wobei Mikroorganismen in einem Substrat kultiviert werden um nützliche Materialien wie z.B. Antibiotika, immunsuppressive Wirkstoffe, Vitamine, Enzyme usw. anzufertigen. Manchmal werden Arzneimittelwirkstoffe von genetisch modifizierten Organismen erzeugt.

Während des ersten Teiles der laboratorischen Periode werden die Studenten mit einem Enzym (bakterielle Amylase) arbeiten, das durch bakterielle Fermentation erzeugt worden ist. Sie werden die Enzymaktivität messen, und die Enzymkonzentration bestimmen. Die Studenten werden die Zellen der herstellenden Mikroorganismen mit Mikroskopen studieren.

Der zweite Teil der Laborarbeits befasst sich mit einem Arzneimittelwirkstoff, und zwar mit Ascorbinsäure, die hauptsächlich durch bakterielle Fermentation hergestellt wird. Die Studenten sollen die Ascorbinsäurekonzentration von einer unbekannt Lösung mit Titration bestimmen.

Die Studenten werden das F&E Abteil der Pharmafirma TEVA besichtigen. Sie werden die Entwicklung des Erregerstammes sowie Pilotfermentationen beobachten können. Sie werden auch die Universität von Debrecen besuchen, wo viel Grundlagenforschung (z.B. Pharmaforschung) durchgeführt wird.

## Aufgabe 1.

### Assay für Amylase Aktivität (G Biosciences kit entwickelt von Ellyn Daugherty)

**Zielsetzung:** Was ist der Unterschied zwischen dem Verhalten von natürlicher bakterieller Amylase und einer durch Protein-Engineering erzeugten Variante des selben Enzyms?

**Hintergrund:** Die Amylase ist ein Enzym, das bei der Verdauung von Stärke als Katalyst funktioniert. Amylose ist ein Typ von Pflanzenstärke. Das Amylose Molekül ist sehr lang, und besteht aus Hunderten von miteinander verknüpften Stärkezucker Molekülen (Abb.1.). Die humane Amylase bricht die Bindung zwischen Stärkezucker Molekülen in der Amylose (Stärke) Kette um Disaccharid, Maltose zu bilden. In diesem Fall ist Amylose das Substrat des Enzyms, Maltose jedoch ist das Produkt des Enzyms. Einige bakterielle Amylase (z.B. die Amylase *acillus subtilis*) und fungale Amylase stellen Stärkezucker aus der Stärke her. In diesem Fall kann Amylose durch die Reduktionsgeschwindigkeit der Stärkekonzentration (Stärkeabbau Assay) oder Anstiegsgeschwindigkeit der Stärkezuckerkonzentration (Stärkezucker Produktion Assay) gemessen werden. In diesem Experiment vergleichen wir zwei Amylase. Eine natürliche *B. subtilis* Amylase (dieses Enzym ist von natürlichen, nicht transformierten *B. subtilis* Zellen erzeugt) und die durch Protein-Engineering hergestellte *Bacillus subtilis* Amylase (in diesem Fall Amylase ist von *Bacillus* Zellen erzeugt, die durch rekombinante DNA (rDNA) transformiert worden sind). Amylase haben potentielle Anwendung in einer Zahl von industriellen Prozessen sowie Lebensmittel-, Fermentations-, und Pharmaindustrie. Pharmazeutische und klinische Branchen bedürfen Amylase von hoher Reinheit.

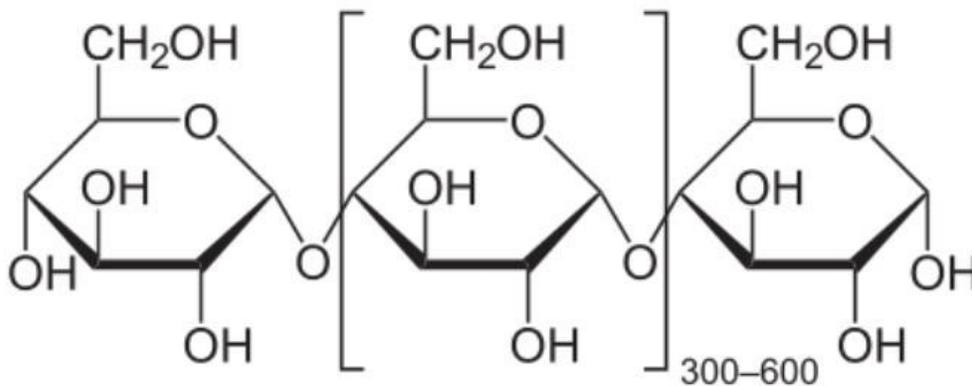


Abbildung 1.: Molekülstruktur der Amylose

Verfahren:

1. Legen Sie je 1 ml Stärkelösung in jede Mulde der ersten drei Reihen von je sechs Mulden einer 24-Muldenplatte (Abb. 2.). Die unterste Reihe wird nicht gebraucht.

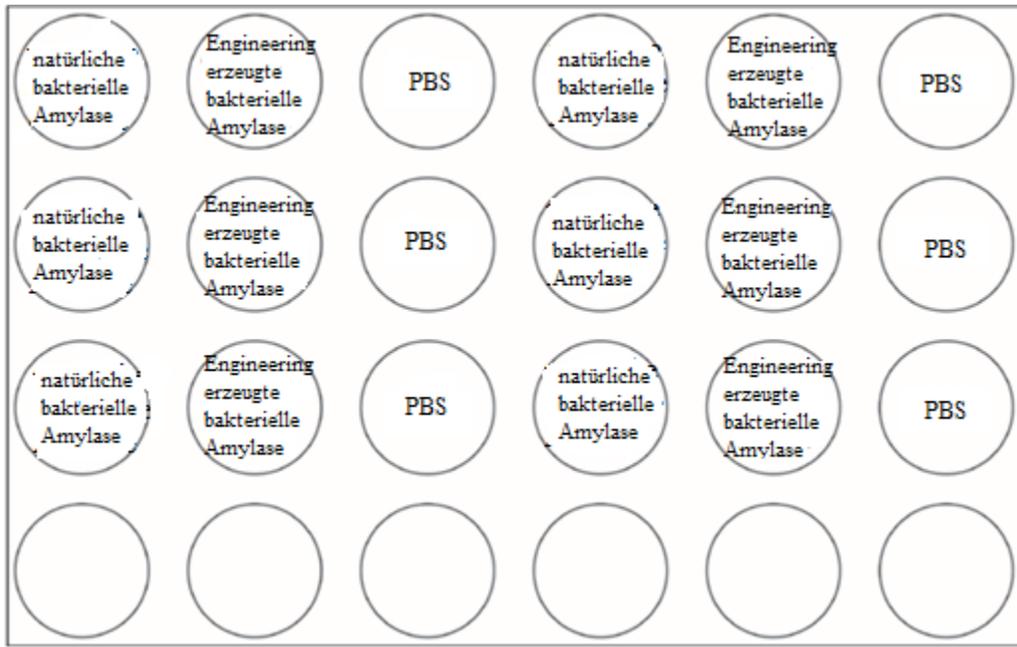


Abb. 2

2. Fügen Sie 300 µl natürliche bakterielle Amylase-Lösung zur ersten und vierten Mulde jeder Reihe (siehe Abbildung 2.) hinzu. Mischen Sie sie gründlich, 2 Sekunden lang mit der Spitze der Mikropipette. Wechseln Sie die Pipettenspitzen vor Schritt 3.

3. Fügen Sie 300 µl durch Protein-Engineering hergestellte bakterielle Amylase-Lösung zur zweiten und fünften Mulde jeder Reihe (siehe Abbildung 2) hinzu. Mischen Sie sie gründlich 2 Sekunden lang mit der Spitze der Mikropipette. Wechseln Sie die Pipettenspitzen vor Schritt 3.

4. Fügen Sie 300 µl 1X PBS, pH 7.0 zur dritten und sechsten Mulde jeder Reihe (siehe Abbildung 2) hinzu. Mischen Sie sie gründlich 2 Sekunden lang mit der Spitze der Mikropipette.

Die vierte, fünfte und sechste Mulden werden in jeder Reihe für die Stärkeabbau Assay, die erste, zweite und dritte Mulden jeder Reihe jedoch für Stärkezucker Produktion Assay gebraucht.

### Stärkeabbau Assay:

5. Fügen Sie 20 µl Stärke Indikatorlösung (Lugol'sche Iodlösung) zu allen vierten, fünften und sechsten Mulden in jeder Reihe (Siehe Abbildung 2.) hinzu. Mischen Sie sie gründlich 2 Sekunden lang mit der Spitze der Mikropipette. Wechseln Sie die Pipettenspitzen nach jedem Gebrauch.

6. Identifizieren Sie die negativen Kontrollen in diesem Experiment.

7. Legen Sie die 24-Muldenplatte auf ein Stück weißes Papier fernab von direktem Licht, da Iod sich bei Licht entfärbt. Warten Sie bis es eine auffällige Farbveränderung in den Mulden auftritt, die die natürliche Amylase enthalten (vierte Spalte).

8. Stärke mit Iod gemischt ergibt eine sehr dunkle schwarz-blaue Farbe. Iod an sich, ohne Stärke, sieht rot-braun aus. Stärkeabbau wird mit der Reduktion der Stärke-Iod Reaktion gemessen (eine Verringerung der schwarz-blauen Farbe.)

9. Messen Sie die Menge von Stärkeabbau (5 → 0 Skala) indem Sie den Grad von Aufhellung der Iodlösung von Schwarz (0) zum hellen Rot-braun oder klare Farbe (5) in den Mulden 4, 5, und 6 erfassen.

**Ergebnisse von Stärkeabbau Assay:**

Natürliche bakterielle Amylase (vierte Spalte)	Durch Protein-Engineering erzeugte bakterielle Amylase (fünfte Spalte)	PBS (sechste Spalte)
Durchschnittsergebnisse		

10. Nach .... Minuten soll die Stärkezuckerkonzentration in den Spalten 1, 2, und 3 mit Hilfe von Zucker (Glukose) Messstreifen gemessen werden.

11. Der Messstreifen soll beim Plastikteil angefasst werden, und das Ende des Testindikators soll in die Probe gesenkt werden. Sie sollen den Streifen sofort wieder herausziehen, wobei Sie ihn gegen die Muldenrände streifen, um die überflüssige Probe zu entfernen.

12. Vergleichen Sie den Messstreifen mit der Farbenkarte unten (Abb. 3.) und schreiben Sie die Ergebnisse in mg/dl, einer üblichen Einheit von Stärkezuckerkonzentration auf.



**Ergebnisse von Stärkezucker Produktion Assay:**

Natürliche bakterielle Amylase (erste Spalte)	Durch Protein-Engineering erzeugte bakterielle Amylase (zweite Spalte)	PBS (dritte Spalte)
Durchschnittsergebnisse		

**Datenanalyse und Schlussfolgerung:**

Besprechen Sie die Ergebnisse des Experiments, einschließlich ihrer Beobachtungen bezüglich das Benehmen von der natürlichen bakteriellen Amylase im Vergleich mit dem Benehmen von der bakteriellen Amylase die durch Protein-Engineering hergestellt worden ist.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

## **Aufgabe 2.**

**Bestimmung der Amylasekonzentration in einer Lösung** (G Biosciences kit entwickelt von Ellyn Daugherty)

**Zielsetzung:** Wie ist die Konzentration von zwei unbekanntem Amylase-Lösungen?

**Hintergrund:** Die Pharmafirma braucht gereinigte Proteine, die aktiv, stabil und von relativ hoher Konzentration sind. Wenn Proteine aus einer Lösung gereinigt werden (Zytoplasma, Fermentationbrühe, usw.) muss das Produkt überprüft werden um zu sehen, wie viel Protein darin enthalten ist. Die Proteinkonzentration wird im allgemeinen in milligramm per milliliter (mg/ml) oder mikrogramm per milliliter ( $\mu\text{g/ml}$ ) gemessen. Da die Proteinmoleküle submikroskopischer Größe sind, muss man sie mit indirekten Methoden messen. Zuerst bereitet man Lösungen von bekannten Konzentrationen und man liest ihre Absorbierung an einer gegebenen Wellenlänge ab. Dann produziert man eine Kurve, die „beste-Anpassung“, die zu zeigen ist, wie die Konzentration die Absorbierung von der getesteten Moleküle beeinflusst. Dann wird die Absorption der unbekanntem Lösung bestimmt. Von der „besten-Anpassung“, Kalibrationskurve wird die Konzentration der unbekanntem Lösung bestimmt, aufgrund des Punktes wo sich der Absorptionwert die Kalibrationskurve durchkreuzt.

### **Verfahren:**

Bereiten der standard (bekanntem) Proben durch Verdünnungsreihen der bekanntem Proben beginnend mit der 0.5 mg/ml Amylase Stammlösung.

1. Beschriften Sie fünf Mikrozentrifugenröhrchen No.1 bis No. 5
2. Fügen Sie 500  $\mu\text{l}$  von der 0.5 mg/ml Amylase Stammlösung ins Röhrchen No. 1 hinzu.
3. Fügen Sie 500  $\mu\text{l}$  von 1XPBS Puffer zu jedem Teströhrchen No. 2-5 hinzu.
4. Nehmen Sie 500  $\mu\text{l}$  von der 0.5 mg/ml Amylase Stammlösung und fügen Sie sie zum Röhrchen No. 2 hinzu. Pipettieren Sie die Lösung ganz sanft auf und ab um sie zu mischen. Was ist die Proteinkonzentration in diesem Röhrchen?
5. Nehmen Sie 500  $\mu\text{l}$  von der Lösung in dem Röhrchen No.2 und fügen Sie sie dem Röhrchen No. 3 hinzu. Pipettieren Sie die Lösung ganz sanft auf und ab um sie zu mischen. Was ist die Proteinkonzentration in diesem Röhrchen?
6. Setzen Sie diese Verdünnungen fort mit den übriggebliebenen Röhrchen. Nachdem das Röhrchen No. 5 bereitet ist schütten Sie die extra 500  $\mu\text{l}$  weg, damit alle Röhrchen No. 1 bis No. 5 die gleiche Menge (500  $\mu\text{L}$ ) von Lösung haben. Schreiben Sie die jeweilige Konzentrationen in den Röhrchen 1-5 in die Tabelle unten auf.
7. Diese 5 Röhrchen enthalten die „bekanntem“ Standardproben von bekanntem Konzentrationen, die dazu gebraucht sind die Kalibrationskurve zu erstellen, die wiederum für das Ermitteln der Konzentrationen von unbekanntem Proben gebraucht werden.

### **Bereitung von Proben für Spektrophotometrie:**

Wenn man den Spektralphotometer benutzt muss man schnell arbeiten um die Absorbtion all der Proben ablesen zu können. Um im Vis Spektralphotometer gemessen werden zu können, müssen alle Proben (Puffer-Blank genauso wie die unbekanntes Proben) in entsprechende Röhrchen transferiert werden um dort mit dem farbigem Proteinindikator (Bradford Reagens) vermischt zu werden. Jede Probe und Bradford Reagens werden in einem separaten Proberöhrchen gemischt und dann für die Analyse in eine Küvette transferiert.

1. Pipettieren Sie die ganze Menge der Standardproben in das Proberöhrchen beschriftet „Mischungsröhrchen“. (Benutzen Sie eine frische Spitze für jede Probe.) Beschriften Sie diese Röhrchen mit ihrer Konzentration in mg/ml.
2. Der Spektralphotometer soll jetzt aufgewärmt werden. Die Absorptionsangaben werden bei der Wellenlänge 595 nm abgelesen. Stellen Sie den Spektralphotometer auf die Wellenlänge 595 nm.
3. Deponieren Sie 500 µl von der unbekanntes Probe 1 in ein Mischungsröhrchen. Beschriften Sie das Teströhrchen „U1“
4. Deponieren Sie 500 µl von der unbekanntes Probe 2 in ein Mischungsröhrchen. Beschriften Sie das Teströhrchen „U2“
5. Deponieren Sie 500 µl von der 1X PBS Pufferlösung in das Mischungsröhrchen. Beschriften Sie das Teströhrchen „B“, für blank.
6. Gehen Sie erst weiter mit Schritt 8 wenn der Spektralphotometer den Sie benutzen werden frei und bereit ist. Sobald Sie den Bradford Reagens zu den Proben hinzufügen, muss die Absorbierung jeder Probe binnen 3 Minuten abgelesen werden.
7. Benutzen Sie eine Transferpipette und fügen Sie vorsichtig, ohne die innere Seite des Röhrchens zu berühren, 2.5 ml von dem 1XBradford Reagens zur Blindprobe, zu jeder standard bekannten Probe, und zu den zwei unbekanntes Proben. Seien Sie vorsichtig die Lösung in den Röhrchen nicht zu berühren, auszuschütten, oder zufällig eine Probe mit einer anderen zu kontaminieren. Sanft und gründlich mischen, ohne dass es in der Mixtur Blasen bilden. Stellen Sie den Spektralphotometer auf Null mit Hilfe der Blindprobe. Binnen 3 Minuten müssen alle Proben mit dem Spektralphotometer abgelesen werden.

### **Entwerfen einer Kalibrationskurve für Proteinkonzentration:**

1. Nachdem die Absorbanzdaten erhoben worden sind, nehmen Sie die Absorbanz von der bekannten Standardproben um eine Kalibrationsgrafik zu erstellen. Zeichnen Sie die Konzentration (mg/mL) auf die x-Achse auf, die Absorbanz dagegen auf die y-Achse. Fügen Sie hinzu die Absorbanzdaten für die bekannten Standards. Die Punkte sollen „sich aufreihen“ da die Absorbanz mit der Zahl der vorhandenen Moleküle korreliert, die das Licht, das die Probe passiert zu absorbieren haben. Es gibt allerdings einen optimalen Bereich von Konzentrationen, den der Spectralphotometer entdecken kann. Soll die Konzentration der Probe zu „hoch“ sein, so wird der Spektralphotometer diese fälschlich niedriger zeigen als sie tatsächlich ist. Diese Daten werden der Kalibrationskurve eine Schiefe verleihen. Wählen Sie die besten 3-4 Datenpunkte für die beste Anpassung Kalibrationskurve, und ignorieren Sie die Proben die die Grafik offensichtlich schief erscheinen lassen.
2. Legen Sie für eine beste Anpassung eine Gerade durch die Datenpunkte der bekannten Proben. Die am besten anpassende Gerade schätzt ab, was eine Probe von Amylasemolekülen im Bereich von Konzentrationen absorbieren wird. **HINWEIS:** Sollten Sie die Grafik mit Hilfe von Microsoft® Excel® erstellen, ziehen Sie ‚Charte‘ ‚Chart‘ in dem Menü, wählen Sie ‚addieren Sie Trendlinie‘ ‚Add Trendline‘ und wählen Sie ‚lineare Regression‘ ‚linear regression‘. Das wird für Sie eine bestens anpassende gerade Linie hinzufügen. Doppelklicken Sie auf ‚best-fit Trendlinie‘ ‚Best-fit Trendline‘. Wählen Sie ‚Optionen‘ ‚Options‘. Klicken Sie auf ‚Achse durch 0‘ ‚axis through 0‘ und dann auf

„Zeigen die Gleichung der Linie“, „Show equation of the line“. Das wird dann die später zu gebrauchende „Gleichung der Linie“ „equation of the line“ bestimmen.

**Bestimmung der Protein Konzentration mit der Kalibrationskurve:**

Wenden Sie die Gleichung an um die Konzentrationene der unbekanntn Proben zu bestimmen.

**Berechnung des Konzentrationsdurchschnitts der Gruppe:**

Sammeln Sie die Konzentrationsbestimmungen für jede unbekannte ( $y=mx+c$ ) von den anderen Gruppen in der Klasse (mehrfache Replikationen). Führen Sie diese Daten in eine neue Datentabelle. Berechnen Sie die Durchschnittskonzentration jeder Probe für alle Replikationen des Experiments. Diese Durchschnitte sind die besten Schätzungen für die Konzentration der Unbekanntn.

**Resultate:**

Absorbanz Werte

Standards (mg/mL)					Unbekannte Probe		blind
0.5					1	2	
							0

Gleichung:

.....

Berechnung der Konzentrationen von unbekanntn Proben (ihre eigene Bestimmung)

Unbekannte Probe	
1	2

Berechnung der Durchschnittskonzentration der Gruppe:

	Unbekannte Probe	
	1	2
Gruppe 1		
Gruppe 2		
Gruppe 3		
Gruppe 4		
Gruppe 5		
Durchschnitt		

**Schlussfolgerung:**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

### Aufgabe 3.

#### Studium der Morphologie der Zellen eines Amylase herstellenden *Bacillus subtilis* Stammes.

**Zielsetzung:** Was für eine Form haben die *Bacillus subtilis* Zellen?

**Hintergrund:** Bakterielle Zellen sind ungefähr ein Zehntel so gross wie die eukaryotischen Zellen und typisch 0.5-5 Mikrometer lang. Die meisten bakteriellen Arten sind entweder kugelförmig, sogenannte *Kokken* (singular *Kokkus*), oder stabförmig, sogenannte *Bazillen* (singular *Bazillus*). Einige Bakterien, sogenannte Vibrio, sehen aus wie ein wenig gebogene Stäbe, oder Komma-förmig; andere können spiralförmig sein, und sind *Spirillen* oder wenn straff aufgerollt, *Spirochäten* genannt.

#### Verfahren:

Gebrauchen Sie Gummihandschuhe! Nach dem Verfahren ziehen Sie die Gummihandschuhe aus!

1. Nehmen Sie einen Objektträger, und legen Sie einen Tropfen der gegebenen Fermentationsbrühe ins Zentrum des Objektträgers.
2. Placieren Sie eine Seite des Deckglases schräg gegen den Objektträger so dass es den äußeren Rand des flüssigen Tropfens berührt.
3. Lassen Sie das Deckglas langsam herunter, so dass es sich keine Luftblasen bilden.
4. Entfernen Sie das überflüssige Wasser mit einem Stück Papiertuch.
5. Finden Sie die bakteriellen Zellen unter dem Mikroskop und zeichnen Sie sie.

Wie gebraucht man ein Mikroskop?

1. Drehen Sie den Revolverkopf (2) so dass das kleinste Objektiv (z.B. 4x) in die Position einklickt.
2. Legen Sie den Objektträger auf den Objektstisch und befestigen Sie ihn mit den Objektaltern.
3. Schauen Sie das Objektiv (3) und den Objektstisch von der Seite an, und drehen Sie den Feintrieb (4) so dass der Objektstisch sich nach oben bewegt. Bewegen Sie den Objektstisch so hoch wie möglich ohne dass das Objektiv das Deckglas berührt.
4. Schauen Sie ins Okular (1) und bewegen Sie den Feintrieb bis dass das Bild ins Blickfeld rückt.
5. Stellen Sie den Kondensator (7) und Lichtintensität aufs höchste Grad.
6. Bewegen Sie den Objektträger herum bis die Probe ins Zentrum des Blickfeldes (was Sie sehen) kommt.
7. Betätigen Sie den Feintrieb (4) um die Probe in den Brennpunkt zu rücken, und stellen Sie den Kondensator (7) und die Lichtstärke nach, um das möglichst klarste Bild zu bekommen (im Falle von Objektiv mit kleiner Vergrößerung müssen Sie vielleicht die Lichtstärke reduzieren oder den Kondensator schliessen).
8. Wenn Sie mit dem kleinstmöglichen Objektiv ein klares Bild von der Probe haben, können Sie auf die nächsten Objektive wechseln. Sie brauchen vielleicht die Probe nachzustellen um sie in den Brennpunkt zu bekommen und/oder, den Kondensator und die Lichtintensität nachzustellen. Wenn Sie nicht auf ihre Probe fokussieren können, wiederholen Sie Schritte 3-5 mit dem Objektiv mit grösserer Vergrößerung. **Die Objektive dürfen den Objektträger nicht berühren!**
9. Wenn Sie fertig sind, lassen Sie den Objektstisch herunter, klicken Sie das kleinste Objektiv in Position, und entfernen Sie den Objektträger.

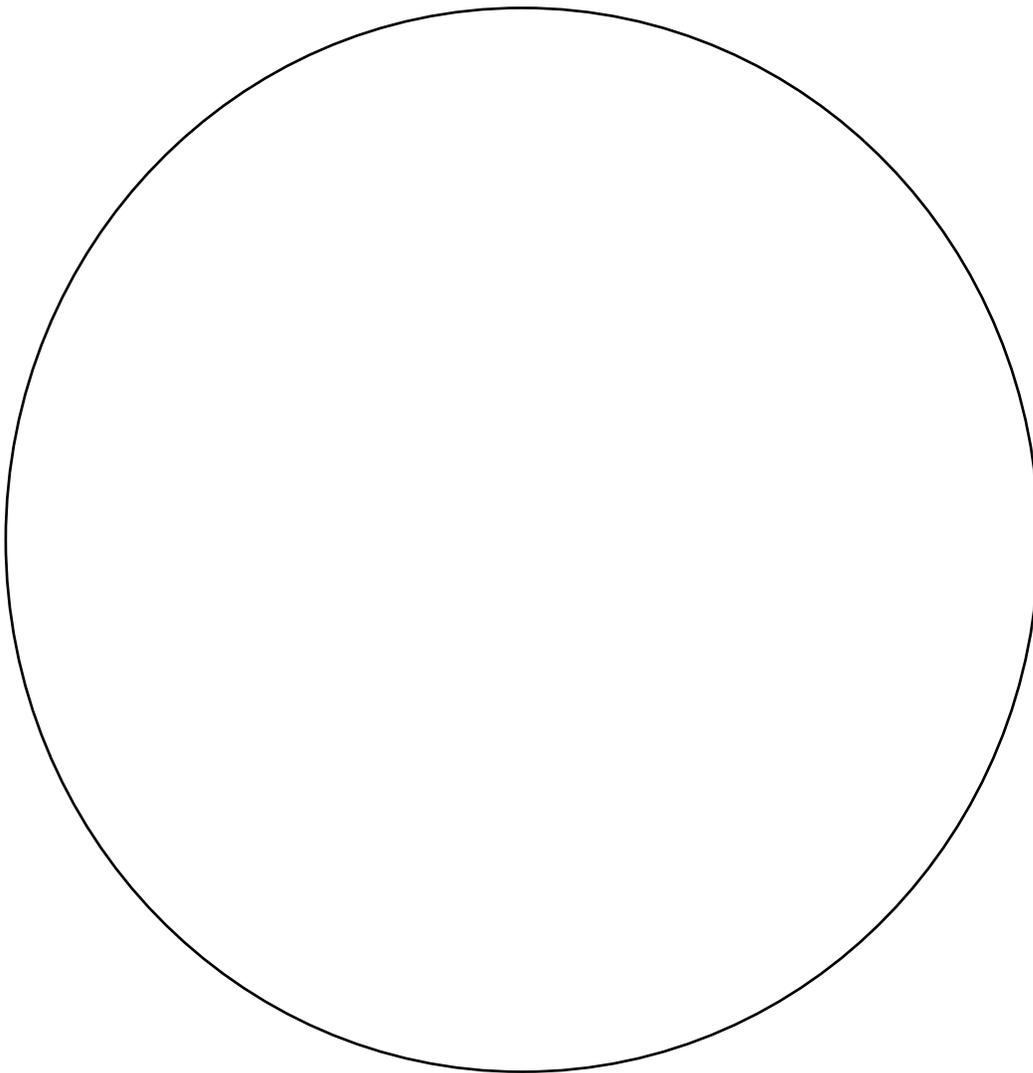


Nach diesem Experiment benutzen Sie eine Desinfizierungslösung.

**Ergebnisse:**

Vergößerung des Mikroskops:

.....



**Schlussfolgerung:**

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

#### Aufgabe 4.

#### Die Bestimmung von Ascorbinsäurekonzentration einer unbekanntem Lösung

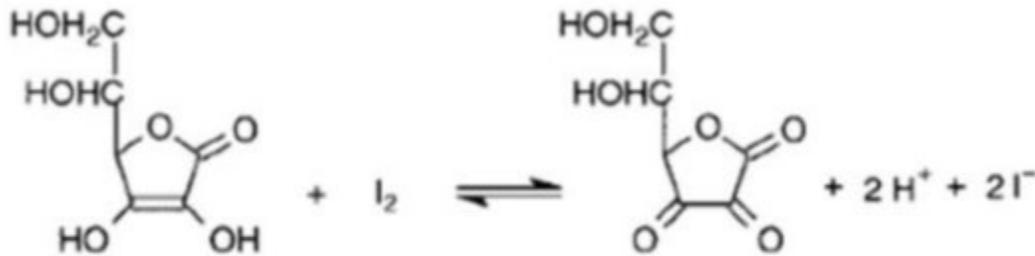
**Zielsetzung:** Wieviel Ascorbinsäure ist gelöst in der unbekanntem Lösung?

**Hintergrund:**

Vitamin C, auch als Ascorbinsäure oder L-Ascorbinsäure bekannt, ist ein Vitamin, das in verschiedenen Lebensmitteln zu finden ist, und auch als Nahrungsergänzungsmittel verkauft wird. Es ist angewendet Skorbüt vorzubeugen und zu behandeln. Vitamin C ist ein wesentlicher Nährstoff, der in der Gewebeausbesserung und in der enzymatischen Herstellung von bestimmten Neurotransmitter eine Rolle spielt. Es ist benötigt für das Funktionieren von mehrerer Enzyme, und es ist unerlässlich für das Funktionieren des Immunsystems. Es funktioniert auch als Antioxidans. Vitamin C wurde 1912 entdeckt, 1928 isoliert und 1933 als erstes Vitamin chemisch hergestellt. Teilweise für seine Entdeckung bekam Albert Szent-Györgyi den Nobel-Preis in Physiologie und Medizin und Walter Norman Haworth in Chemie. Vitamin C ist auf zwei Haupttrouten von Glucose produziert. Das Reichstein Verfahren ist eine einzige Prä-Fermentation gefolgt von einer rein chemischer Route. Das moderne zweistufige Fermentationsverfahren wendet eine zusätzliche Fermentation an um einen Teil der späteren chemischen Stufen zu ersetzen.

Der Ascorbinsäuregehalt einer Lösung ist normalerweise mit iodometrischer Titration bestimmt.

Die Reaktion von Ascorbinsäure mit Iod:



#### Ascorbinsäure

**Verfahren:**

1. Füllen Sie eine Bürette mit genau 0.0500 mol/l Iodlösung.
2. Nehmen Sie 10.0 ml von der unbekanntem Lösung, die in einem Erlenmeyerkolben von 100mL ist.
3. Fügen Sie 5.0 mL 1% Stärkelösung hinzu.
4. Titrieren Sie die Lösung Tropfen für Tropfen bis eine stabile blaue Farbe erreicht ist.
5. Wiederholen Sie die ganze Prozedur dreimal.

**Ergebnisse:**

	Erste Titration	Zweite Titration	Dritte Titration
Menge der Iodlösung (mL) $V$			
Konzentration von Iodlösung (mol/L)	0.0500	0.0500	0.0500
Iod (mol)			
Ascorbinsäure (mol)			
Konzentration von Ascorbinsäurelösung (mol/L)			
Durchschnittliche Konzentration von Ascorbinsäurelösung (mol/L)			

Berechnung von Iod Mol:  $\frac{V * 0.0500}{1000}$

Ascorbinsäure Mol sind dieselbe wie Iod Mol.

Berechnung die Konzentration von Ascorbinsäurelösung (Mol/L): Ascorbinsäure Mol\*100

## Literatur:

1. McGuire, John L.; Hasskarl, Horst; Bode, Gerd; Klingmann, Ingrid; Zahn, Manuel (2007). Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. doi:10.1002/14356007.a19\_273.pub2. ISBN 978-3527306732.
2. Assaying for Amylase Activity (G Biosciences kit designed by Ellyn Daugherty) [https://www.gbiosciences.com/image/pdfs/protocol/BTNM-6C\\_protocol.pdf](https://www.gbiosciences.com/image/pdfs/protocol/BTNM-6C_protocol.pdf)
3. Determining the Concentration of Amylase in a Solution (G Biosciences kit designed by Ellyn Daugherty) [https://www.gbiosciences.com/image/pdfs/protocol/BTNM-7G\\_Amylase\\_Protein\\_Concentration.pdf](https://www.gbiosciences.com/image/pdfs/protocol/BTNM-7G_Amylase_Protein_Concentration.pdf)
4. Yang DC, Blair KM, Salama NR (March 2016). "Staying in Shape: the Impact of Cell Shape on Bacterial Survival in Diverse Environments". Microbiology and Molecular Biology Reviews. 80 (1): 187–203. doi:10.1128/MMBR.00031-15. PMC 4771367. PMID 26864431.
5. <https://www2.mrc-lmb.cam.ac.uk/microscopes4schools/microscopes2.php>
6. [https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin\\_C](https://en.wikipedia.org/wiki/Vitamin_C)
7. Determination of Vitamin C Concentration by Titration: [canterbury.ac.nz/media/documents/science-outreach/vitaminc\\_iodine.pdf](http://canterbury.ac.nz/media/documents/science-outreach/vitaminc_iodine.pdf)

Zusammengestellt und entwickelt von Katalin Forgács, Ph.D., unter der Aufsicht von Marianna Kónya