

D-Glucose/D-Fructose

UV-Test

zur Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Lebensmitteln und anderen Probematerialien

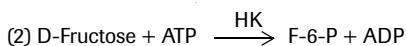
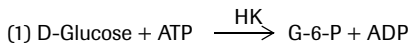
Schnellmethode für Analyse von Wein, s. Pkt. 10

Best. Nr. 10 139 106 035

Test-Combination für je 27 Bestimmungen

Prinzip (Lit. A 1)

D-Glucose und D-Fructose werden durch das Enzym Hexokinase (HK) und Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu D-Glucose-6-phosphat (G-6-P) und D-Fructose-6-phosphat (F-6-P) unter gleichzeitiger Bildung von Adenosin-5'-diphosphat (ADP) phosphoryliert (1,2).

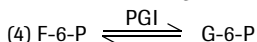


In Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) wird G-6-P von Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADP) zu D-Gluconat-6-phosphat oxidiert. Es entsteht reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) (3).



Die während der Reaktion gebildete NADPH-Menge ist der D-Glucose-Menge äquivalent. NADPH ist Messgröße und wird aufgrund seiner Absorption bei 334, 340 oder 365 nm bestimmt.

Nach Ablauf der Reaktion (3) wird F-6-P durch Phosphoglucose-Isomerase (PGI) in G-6-P übergeführt (4).



G-6-P reagiert wiederum mit NADP unter Bildung von D-Gluconat-6-phosphat und NADPH. Auch hier ist NADPH Messgröße. Die nun gebildete NADPH-Menge ist der D-Fructose-Menge äquivalent.

Die Test-Combination enthält

- Flasche 1 mit ca. 5 g Pulvergemisch, zusammengesetzt aus: Triethanolaminpuffer, pH ca. 7,6; NADP, ca. 64 mg; ATP, ca. 160 mg; Magnesiumsulfat
- Flasche 2 mit ca. 0,7 ml Suspension, zusammengesetzt aus: Hexokinase, ca. 200 U; Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, ca. 100 U
- Flasche 3 mit ca. 0,7 ml Suspension Phosphoglucose-Isomerase, ca. 490 U
- Flasche 4 mit D-Glucose-Testkontroll-Lösung zur Testkontrolle (Die Messung der Testkontroll-Lösung ist nicht erforderlich zur Berechnung von Ergebnissen.). Die Testkontroll-Lösung enthält keine D-Fructose, da diese in wässriger Lösung nicht ausreichend stabil ist. Testkontroll-Lösung unverdünnt verwenden. (Verwendbar bis: s. Packungsetikett).

Herstellung der Lösungen

- Inhalt der Flasche 1 mit 27 ml bidest. Wasser lösen.
- Inhalt der Flasche 2 unverdünnt verwenden.
- Inhalt der Flasche 3 unverdünnt verwenden.

Stabilität der Reagenzien

Der Inhalt der Flasche 1 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).
Lösung 1 ist bei 2-8°C 4 Wochen, bei -15 bis -25°C 2 Monate haltbar.
Lösung 1 vor Gebrauch auf 20-25°C bringen.
Der Inhalt der Flaschen 2 und 3 ist stabil bei 2-8°C (s. Packungsetikett).

Bestimmungsansatz

Wellenlänge¹: 340 nm, Hg 365 nm oder Hg 334 nm

Glasküvette²: 1,00 cm Schichtdicke

Temperatur: 20-25°C

Testvolumen: D-Glucose 3,020 ml

D-Fructose 3,040 ml

Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette) oder gegen Wasser
Probelösung: 1-100 µg D-Glucose + D-Fructose/Testansatz³ (in 0,100-2,000 ml Probevolumen)

¹ Das Absorptionsmaximum von NADPH liegt bei 340 nm. Bei Verwendung von Spektralphotometern wird im Absorptionsmaximum, bei Verwendung von Spektral-Linienphotometern mit Hg-Dampflampe wird bei einer Messstrahlung von 365 nm oder 334 nm gemessen.

² Anstelle von Glasküvetten sind ggf. auch handelsübliche Einwegküvetten geeignet.

³ S. Hinweise zur Testdurchführung

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe
-------------------------	----------	-------



BOEHRINGER MANNHEIM / R-BIOPHARM Enzymatische BioAnalytik / Lebensmittelanalytik

Nur zur Verwendung in der Lebensmittelhygiene.

Lagern bei 2-8°C

Methoden-Empfehlungen und standardisierte Verfahren siehe unter Literatur (A 2, B 2, C 2, D 2)

Lösung 1 Probelösung* bidest. Wasser	1,000 ml - 2,000 ml	1,000 ml 0,100 ml 1,900 ml
mischen**, nach ca. 3 min Extinktionen der Lösungen messen (E ₁). Reaktion starten durch Zugabe von		
Suspension 2	0,020 ml	0,020 ml
mischen**, Stillstand der Reaktion abwarten (ca. 10-15 min) und Extinktionen der Lösungen messen (E ₂). Falls die Reaktion nach 15 min nicht zum Stillstand gekommen ist, Extinktionen weiter in 2 min-Abständen messen, bis konstante Extinktionszunahme pro 2 min erreicht ist.*** Anschliessend zugeben		
Suspension 3	0,020 ml	0,020 ml
mischen**, nach 10-15 min Extinktionen der Lösungen messen (E ₃).		

* Vor der Dosierung der Probelösung Enzymtest-Messpipette bzw. Pipettenspitze der Kolbenhubpipette mit der Probelösung vorspülen.

** Z.B. mit Rührspatel oder durch Umschwenken nach Verschliessen z.B. mit Parafilm (Warenzeichen der American Can Company, Greenwich, Ct., USA)

*** Schleichreaktionen werden sehr selten beobachtet. Sie sind meist durch Inhaltsstoffe der Probelösung bedingt, z.B. Enzyme oder Farbstoffe. Deren Entfernung kann in der Regel durch eine geeignete Vorbereitung der Probe erfolgen.

Wurden bei E₂ konstante Extinktionszunahmen festgestellt, dann werden die Extinktionen auf die Zeit der Zugabe von Suspension 2 (HK/G6P-DH) extrapoliert.

Für Leerwert und Probe Extinktionsdifferenzen (E₂-E₁) berechnen. Extinktionsdifferenz des Leerwertes von Extinktionsdifferenz der Probe abziehen. Man erhält ΔE_{D-Glucose}.

Für Leerwert und Probe Extinktionsdifferenzen (E₃-E₂) berechnen. Extinktionsdifferenz des Leerwertes von Extinktionsdifferenz der Probe abziehen. Man erhält ΔE_{D-Fructose}.

Die gemessenen Extinktionsdifferenzen sollten zur Erzielung eines ausreichend präzisen Ergebnisses in der Regel mindestens 0,100 Extinktionseinheiten betragen (s. "Hinweise zur Testdurchführung" und "Empfindlichkeit und Nachweisgrenze", Pkt. 4).

Berechnung

Nach der allgemeinen Berechnungsformel für die Bestimmung der Konzentration gilt:

$$c = \frac{V \times MG}{\epsilon \times d \times v \times 1000} \times \Delta E \text{ [g/l]}$$

V = Testvolumen [ml]

v = Probevolumen [ml]

MG = Molekulargewicht der zu bestimmenden Substanz [g/mol]

d = Schichtdicke [cm]

ε = Extinktionskoeffizient von NADPH bei:

$$340 \text{ nm} = 6,3 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,5 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

$$\text{Hg } 334 \text{ nm} = 6,18 \text{ [l} \times \text{mmol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}\text{]}$$

Hieraus ergibt sich für D-Glucose:

$$c = \frac{3,020 \times 180,16}{\epsilon \times 1,00 \times 0,100 \times 1000} \times \Delta E_{\text{D-Glucose}} = \frac{5,441}{\epsilon} \times \Delta E_{\text{D-Glucose}} \text{ [g D-Glucose/l Probe-lösung]}$$

für D-Fructose:

$$c = \frac{3,040 \times 180,16}{\epsilon \times 1,00 \times 0,100 \times 1000} \times \Delta E_{\text{D-Fructose}} = \frac{5,477}{\epsilon} \times \Delta E_{\text{D-Fructose}} \text{ [g D-Fructose/l Probe-lösung]}$$

Ist bei der Vorbereitung der Probe eine Verdünnung vorgenommen worden, muss das Ergebnis mit dem Verdünnungsfaktor F multipliziert werden.

Bei der Analyse von Proben, die für die Vorbereitung der Probe eingewägt



werden, wird das Analysenergebnis auf die Einwaage bezogen:

$$\text{Gehalt}_{D\text{-Glucose}} = \frac{c_{D\text{-Glucose}} [\text{g/l Probelösung}]}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} \text{ in g/l Probelösung}} \times 100 [\text{g}/100 \text{ g}]$$

$$\text{Gehalt}_{D\text{-Fructose}} = \frac{c_{D\text{-Fructose}} [\text{g/l Probelösung}]}{\text{Einwaage}_{\text{Probe}} \text{ in g/l Probelösung}} \times 100 [\text{g}/100 \text{ g}]$$

1. Hinweise zur Testdurchführung

Im Testansatz muss die Menge an D-Glucose + D-Fructose zwischen 2 µg und 100 µg (Messung bei 365 nm) bzw. 1 µg und 50 µg (Messung bei 340, 334 nm) betragen. Zur Erzielung einer ausreichend hohen Extinktionsdifferenz ist die Probelösung soweit zu verdünnen, dass die Konzentration von D-Glucose + D-Fructose zwischen 0,15 und 1,0 g/l bzw. 0,08 und 0,5 g/l liegt.

Verdünnungstabelle

Geschätzte Menge D-Glucose + D-Fructose im Liter Messung bei		Verdünnung mit Wasser	Verdünnungsfaktor F
340 oder 334 nm	365 nm		
< 0,5 g	< 1,0 g	-	1
0,5-5,0 g	1,0-10,0 g	1 + 9	10
5,0-50 g	10,0-100 g	1 + 99	100
> 50 g	> 100 g	1 + 999	1000

Ist die gemessene Extinktionsdifferenz (ΔE) zu klein (z.B. < 0,100), so ist die Probelösung erneut herzustellen (höhere Einwaage oder weniger starke Verdünnung), oder das in die Küvette zu pipettierende Probevolumen v ist bis auf 2,000 ml zu erhöhen. In diesem Fall ist das Volumen der hinzuzufügenden Wassermenge entsprechend zu verringern, so dass in den Ansätzen für Probe und Leerwert das gleiche Testvolumen vorliegt. Das geänderte Probevolumen v ist in die Berechnungsformel entsprechend einzusetzen.

2. Technische Hinweise

Ist das Verhältnis D-Glucose zu D-Fructose in der Probe grösser als z. B. 10 : 1, ist die Präzision der Bestimmung von D-Fructose beeinträchtigt. Es sollte zur Verbesserung der Präzision bei der Bestimmung der D-Fructose D-Glucose mit Glucose-Oxidase in Anwesenheit von Luft-Sauerstoff weitgehend entfernt werden (Einzelheiten s. Pkt. 11).

Liegt jedoch die D-Fructose in der Probe im Überschuss vor, so können sowohl D-Glucose als auch D-Fructose mit hoher Präzision bestimmt werden, wenn für D-Glucose und D-Fructose getrennte Bestimmungsansätze mit verschiedenen Probelösungen durchgeführt werden (s. Verdünnungstabelle).

3. Spezifität der Bestimmung (Lit. A 1)

Die Bestimmung ist spezifisch für D-Glucose und D-Fructose.

Bei der Analyse der Reinsubstanzen D-Glucose, wasserfrei (Molmasse 180,16), D-Glucose-monohydrat (Molmasse 198,17) und D-Fructose sind Ergebnisse von unter 100% zu erwarten, da die Substanzen feuchtigkeitsempfindlich sind. (Gelegentlich können D-Fructose-Präparate auch D-Glucose enthalten.)

4. Empfindlichkeit und Nachweisgrenze (Lit. A 1.4, A 1.5)

Die geringste Extinktionsdifferenz, die das Verfahren unterscheiden kann, beträgt 0,005 Extinktionseinheiten. Das ist bei einem maximal einzusetzenden Probevolumen $v = 2,000$ ml und Messung bei 340 nm eine D-Glucose- bzw. D-Fructose-Konzentration von 0,2 mg/l Probelösung (bei $v = 0,100$ ml entsprechend 4 mg/l Probelösung).

Die Nachweisgrenze von 0,4 mg D-Glucose bzw. D-Fructose/l ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz von jeweils 0,010 (gemessen bei 340 nm) und dem maximalen Probevolumen $v = 2,000$ ml.

5. Linearität

Linearität der Bestimmung ist gegeben von ca. 1 µg D-Glucose + D-Fructose/Ansatz (0,4 mg D-Glucose + D-Fructose/l Probelösung; Probevolumen $v = 2,000$ ml) bis 100 µg D-Glucose + D-Fructose/Ansatz (1 g D-Glucose + D-Fructose/l Probelösung; $v = 0,100$ ml).

6. Präzision

Bei einer Doppelbestimmung, ausgehend von einer Probelösung, ist mit Unterschieden bei den Extinktionsdifferenzen von 0,005 bis 0,010 Extinktionseinheiten zu rechnen. Das entspricht bei einem Probevolumen $v = 0,100$ ml und Messung bei 340 nm einer Konzentration von ca. 4-8 mg D-Glucose bzw. D-Fructose/l. (Ist bei der Vorbereitung der Probe eine

Verdünnung vorgenommen worden, ist mit dem Verdünnungsfaktor F zu multiplizieren. Bei einer Einwaage von 1 g Probe/100 ml = 10 g/l sind die zu erwartenden Unterschiede ca. 0,04-0,08 g/100 g.)

In der Literatur sind folgende Daten veröffentlicht:

D-Glucose	VK = 1,2 %	Blut	(Lit. A 1.2)
	VK = 1,8 %	Blut	(Lit. A 1.4)
D-Fructose:	VK = 1,5 %	Schokolade	(Lit. A 1.3)
	VK = 1,5 %	Getränke, Säfte, Honig	(Lit. A 1.5)

Fruchtsaft:	D-Glucose:	$r = 0,42 + 0,027 \times (c_{D\text{-Glucose}} \text{ in g/l}) / \text{g/l}$
		$R = 1,0 + 0,042 \times (c_{D\text{-Glucose}} \text{ in g/l}) / \text{g/l}$
	D-Fructose:	$r = 0,15 + 0,033 \times (c_{D\text{-Fructose}} \text{ in g/l}) / \text{g/l}$
		$R = 1,05 + 0,045 \times (c_{D\text{-Fructose}} \text{ in g/l}) / \text{g/l}$

Weitere Daten: s. Literatur (Lit. A 2.9)

Wein: $r = 0,056 \times x_i$; $R = 0,12 + 0,076 x_i$
 $x_i = \text{D-Glucose- bzw. D-Fructose-Gehalt in g/l}$ (Lit. A 2.17, 2.18)

D-Glucose in Diätbier:
 $x = 1,0 \text{ g}/100 \text{ ml}$ $r = 0,030 \text{ g}/100 \text{ ml}$ $s_{(r)} = \pm 0,011 \text{ g}/100 \text{ ml}$
 $R = 0,122 \text{ g}/100 \text{ ml}$ $s_{(R)} = \pm 0,043 \text{ g}/100 \text{ ml}$

Weitere Daten: s. Literatur (Lit. B 2.2)

Flüssigvollei: D-Glucose: $x = 0,44 \text{ g}/100 \text{ g}$ $r = 0,073 \text{ g}/100 \text{ g}$ $s_{(r)} = \pm 0,026 \text{ g}/100 \text{ g}$
 $R = 0,106 \text{ g}/100 \text{ g}$ $s_{(R)} = \pm 0,037 \text{ g}/100 \text{ g}$
D-Fructose: $x = 6,72 \text{ g}/100 \text{ g}$ $r = 0,587 \text{ g}/100 \text{ g}$ $s_{(r)} = \pm 0,207 \text{ g}/100 \text{ g}$
 $R = 0,748 \text{ g}/100 \text{ g}$ $s_{(R)} = \pm 0,264 \text{ g}/100 \text{ g}$

Weitere Daten: s. Literatur (Lit. C 2.4)

7. Erkennen von Störungen

7.1 Ist die Umsetzung von D-Glucose bzw. von D-Fructose nach der unter "Bestimmungsansatz" angegebenen Zeit beendet, so kann im allgemeinen auf einen störungsfreien Ablauf geschlossen werden.

7.2 Nach Ablauf der Reaktion kann durch Zugabe von D-Glucose bzw. D-Fructose (qualitativ oder quantitativ) die Reaktion wieder gestartet werden: Die erneute Änderung der Extinktion nach Zugabe des Standardmaterials ist ein Beweis für den störungsfreien Ablauf der Bestimmung.

7.3 Grobe Fehler beim Testansatz und Störungen der Bestimmung durch Inhaltsstoffe der Probe können auch erkannt werden, wenn aus einer Probelösung eine Doppelbestimmung mit verschiedenen Probevolumina (z.B. 0,100 ml und 0,200 ml) ausgeführt wird: Die gemessenen Extinktionsdifferenzen müssen den eingesetzten Probevolumina proportional sein.

Bei der Analytik fester Proben wird die Einwägung verschiedener Mengen (z.B. 1 g und 2 g) in 100 ml-Messkolben empfohlen. Bei gleichen Probevolumina für die Testansätze muss Proportionalität zwischen Extinktionsdifferenz und Einwaage gegeben sein.

7.4 Störungen der Bestimmung durch Inhaltsstoffe der Probe können weiterhin durch Mitführen eines internen Standards erkannt werden: Neben Probe-, Leerwert- und Standardansatz wird ein weiterer Ansatz mit Probe- und Testkontroll-Lösung analysiert. Aus den ermittelten Extinktionsdifferenzen wird die Wiederfindung berechnet.

7.5 Verluste während der Vorbereitung der Probe können durch Wiederfindungsversuche erkannt werden: Die Probe wird mit und ohne zugesetztem Standardmaterial vorbereitet und anschliessend gemessen. Der Zusatz muss (innerhalb des Analysenfehlers) quantitativ wiedergefunden werden.

8. Gefährlichkeit der Reagenzien

Die Reagenzien zur Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose sind keine gefährlichen Stoffe oder Zubereitungen im Sinne der Gefahrstoffverordnung, des Chemikaliengesetzes oder der EG-Richtlinie 67/548/EWG und deren Änderungs- und Anpassungsrichtlinien. Die beim Umgang mit Chemikalien üblichen Vorsichtsmassnahmen sollten jedoch beachtet werden.

Nach Gebrauch können die Reagenzien unter Beachtung der örtlichen Vorschriften zum Abwasser gegeben werden. Das Verpackungsmaterial kann dem Recycling zugeführt werden.

9. Allgemeine Hinweise zur Vorbereitung der Proben

Flüssige, klare, farblose und annähernd neutrale Proben direkt, nach Verdünnen gemäss Verdünnungstabelle oder mit einem Probevolumen bis 2,000 ml zum Test einsetzen;

trübe Lösungen filtrieren;

Kohlensäure-haltige Proben (z.B. durch Filtration) entgasen;

saure Proben mit Kalilauge oder Natronlauge auf ca. pH 8 einstellen;

saure und schwach gefärbte Proben mit Kalilauge oder Natronlauge auf ca. pH 8 einstellen und ca. 15 min stehen lassen;

"stärker gefärbte" Proben (ggf. auf ca. pH 8 eingestellt) gegen Probeleer-

wert (= Puffer bzw. bidest. Wasser + Probe) messen (Photometer mit Probeleerwert im Strahlengang auf 0,000 einstellen);

stark gefärbte Proben mit Polyamid oder Polyvinylpyrrolidon (PVPP), z.B. 1 g/100 ml Probe, behandeln;

feste und halbfeste Proben zerkleinern oder homogenisieren, mit Wasser extrahieren bzw. lösen, wenn nötig filtrieren; ggf. Trübstoffe und Farbstoffe mit Carrez-Reagenzien (s.u.) entfernen;

Fett-haltige Proben mit heissem Wasser extrahieren (Extraktionstemperatur über dem Schmelzpunkt des jeweiligen Fettes), zur Abscheidung des Fettes abkühlen lassen, Messkolben bis zur Marke auffüllen, 15 min in Eisbad stellen und filtrieren; alternativ nach Extraktion mit heissem Wasser mit Carrez-Reagenzien klären.

Carrez-Klärung:

Geeignete Probemenge in einen 100 ml-Messkolben genau einwiegen, ca. 60 ml bidest. Wasser hinzufügen. Die flüssige Probe in einen 100 ml-Messkolben, der ca. 60 ml bidest. Wasser enthält, pipettieren. Anschliessend 5 ml Carrez-I-Lösung (Kalium-hexacyanoferrat(II) (Ferrocyanid) 85 mM = 3,60 g $K_4[Fe(CN)_6] \times 3 H_2O/100$ ml) und 5 ml Carrez-II-Lösung (Zinksulfat, 250 mM = 7,20 g $ZnSO_4 \times 7 H_2O/100$ ml) sorgfältig dosieren. Mit Natronlauge (0,1 M; z.B. 10 ml) pH 7,5-8,5 einstellen. Nach jeder Zugabe mischen, Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren.

Die Enteiweissung Protein-haltiger Proben mit Perchlorsäure oder Trichloressigsäure darf nur in Abwesenheit von Saccharose und Maltose in der Probe erfolgen, da diese Disaccharide vollständig oder teilweise unter Freisetzung von D-Glucose hydrolysiert werden. In der Regel wird die Carrez-Klärung empfohlen.

10. Anwendungsbeispiele

Bestimmung von D-Glucose/D-Fructose in Fruchtsäften und ähnlichen Getränken

Trübe Säfte filtrieren (alternativ mit Carrez-Reagenzien klären). Filtrat, bzw. klare Fruchtsäfte soweit verdünnen, dass die D-Glucose + D-Fructose-Konzentration etwa 0,1 bis 1,0 g/l beträgt. Eine Entfärbung gefärbter Säfte ist meist nicht erforderlich. Stark gefärbte Säfte, die unverdünnt zum Test eingesetzt werden, wie folgt entfärben: etwa 10 ml Saft mit etwa 0,1 g Polyamid-Pulver, Gelatine oder Polyvinylpyrrolidon (PVPP) versetzen, 1 min rühren und filtrieren. Klare (auch leicht gefärbte) Lösung zum Test einsetzen.

Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Wein (Lit. A 2)

Probe wie unter Fruchtsäften angegeben behandeln. Auch Rotwein kann meist ohne Entfärbung direkt zum Test eingesetzt werden.

Schnellmethode: Bestimmung von D-Glucose + D-Fructose (ohne Differenzierung) in Weisswein mit > 5 g Gesamtzucker

Inhalt der Flasche 1 der Test-Kombination mit 80 ml bidest. Wasser lösen. Inhalt der Flaschen 2 und 3 zugeben und vorsichtig mischen. Die Lösung ist bei 20-25°C 8 h, bei 2-8°C 3 Tage haltbar.

3,000 ml des auf 20-25°C gebrachten Reagenziengemisches (z.B. mit Dosiergerät) in Küvette geben und Extinktion E_1 messen. Reaktion starten durch Zugabe von 0,100 ml der gemäss Verdünnungstabelle verdünnten Probe. Mischen und nach Stillstand der Reaktion (ca. 10-15 min) Extinktion E_2 ablesen. Extinktionsdifferenz ($E_2 - E_1$) berechnen (= ΔE).

Konzentration an D-Glucose + D-Fructose berechnen:

$$c = \Delta E \times 1,596 \times F \text{ (bei Hg 365 nm)} \quad [\text{g D-Glucose + D-Fructose/l Probe}]$$

$$c = \Delta E \times 0,9037 \times F \text{ (bei Hg 334 nm)} \quad [\text{g D-Glucose + D-Fructose/l Probe}]$$

$$c = \Delta E \times 0,8865 \times F \text{ (bei 340 nm)} \quad [\text{g D-Glucose + D-Fructose/l Probe}]$$

(F = Verdünnungsfaktor)

Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Bier

Etwa 5-10 ml Bier filtrieren oder im Becherglas ca. 30s lang mit einem Glasstab zur Entfernung der Kohlensäure rühren. Die weitgehend CO_2 -freie Bierprobe direkt zum Test einsetzen.

Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Konfitüre, speziell Diätkonfitüre, und sonstigen Obst- und Gemüseerzeugnissen

Etwa 10 g Probe im Mixer homogenisieren. Ca. 0,5 g der Probe in 100 ml-Messkolben genau einwiegen, mit Wasser mischen, auf 100 ml auffüllen, mischen und filtrieren. Die ersten 5 ml des Filtrats verwerfen. Klares Filtrat unverdünnt zum Test einsetzen (0,100-2,000 ml).

Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Honig

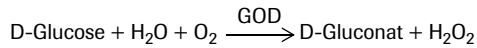
Honig mit einem Spatel gut umrühren. Von dickflüssigem (oder kristallisiertem) Honig etwa 5-10 g entnehmen, im Becherglas 15 min bei ca. 60°C erhitzen und gelegentlich mit Spatel umrühren (dünnflüssiger Honig braucht nicht erhitzt zu werden). Honig abkühlen lassen. Etwa 1 g der dünnflüssigen Probe in 100 ml-Messkolben genau einwiegen, mit zunächst wenig Wasser lösen, dann bis zur Marke auffüllen und mischen. Die 1%-ige Honiglösung im Verhältnis 1:10 (1 + 9) verdünnen. Zum Test 0,100 ml einsetzen.

Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Desserts und Speiseeis

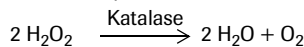
Ca. 1 g Probe in einen 100 ml-Messkolben genau einwiegen, etwa 60 ml Wasser hinzufügen und 15 min bei ca. 70°C halten. Kolben gelegentlich umschwenken. Zur Klärung der Reihe nach zugeben und nach jeder Zugabe mischen: 5 ml Carrez-I-Lösung (3,60 g Kalium-hexacyanoferrat(II), $K_4[Fe(CN)_6] \times 3 H_2O/100$ ml), 5 ml Carrez-II-Lösung (7,20 g Zinksulfat, $ZnSO_4 \times 7 H_2O/100$ ml) und 10 ml NaOH (0,1 M). Auf 20-25°C bringen, Messkolben mit Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen, filtrieren und entsprechend Verdünnungstabelle verdünnen. Klare evtl. leicht opaleszente Lösung zum Test einsetzen.

11. Besondere Probenvorbereitung zur D-Fructose-Bestimmung bei hohem D-Glucose-Überschuss

Ist das Verhältnis D-Glucose zu D-Fructose grösser als z.B. 10 : 1, so ist die Präzision der D-Fructose-Bestimmung beeinträchtigt. In diesem Fall sollte D-Glucose weitgehend entfernt werden: In Gegenwart von Glucose-Oxidase (GOD) und Luft-Sauerstoff wird D-Glucose zu D-Gluconat oxidiert:



Wasserstoffperoxid wird durch Katalase zerstört:



Reagenzien

Glucose-Oxidase (GOD) aus *Aspergillus niger*, 200 U/mg (25°C; D-Glucose als Substrat); Amylase und β -Fructosidase je < 0,01%

Katalase

Triethanolamin-hydrochlorid

$MgSO_4 \times 7 H_2O$

NaOH, 4 M

Herstellung der Lösungen für 10 Bestimmungen

Enzymlösung: 5 mg (Δ ca. 1000 U) GOD mit 0,750 ml bidest. Wasser lösen. 325 KU Katalase (aus Rinderleber; 25°C, H_2O_2 als Substrat) zugeben, mischen.

Pufferlösung: 5,6 g Triethanolamin-hydrochlorid und 0,1 g $MgSO_4 \times 7 H_2O$ mit 80 ml bidest. Wasser lösen, mit Natronlauge (4 M) auf pH 7,6 einstellen und mit bidest. Wasser auf 100 ml auffüllen.

Stabilität der Lösungen

Die Enzymlösung ist täglich frisch herzustellen.

Die Pufferlösung ist bei 2-8°C 4 Wochen haltbar.

Durchführung der D-Glucose-Oxidation

In 10 ml-Messkolben pipettieren	
Pufferlösung	2,000 ml
Probeflösung (mit ca. 0,5% Glucose)	5,000 ml
Enzymlösung	0,100 ml
1 Stunde lang Luft (O_2) durch die Mischung leiten, während der Oxidation pH-Wert mit Indikatorpapier überprüfen und ggf. mit NaOH die gebildete Säure neutralisieren.	

Zur Inaktivierung der Enzyme GOD und Katalase Messkolben 15 min in siedendes Wasser stellen, abkühlen lassen und mit Wasser bis zur Marke auffüllen. Mischen, ggf. filtrieren. Die klare Lösung zur Bestimmung der D-Fructose einsetzen. Im Parallelansatz Rest-D-Glucose bestimmen und wie üblich bei der Berechnung berücksichtigen.

12. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Methode ist auch anwendbar bei der Untersuchung von Pharmaka (Lit. A 3.6), Kosmetika (Lit. A 3.10), Papier (Lit. D 2.2) und Tabak (Lit. C 3.7). Vorbereitung der Probe und Bestimmung erfolgen wie bei der Analytik von Lebensmitteln beschrieben.

Die Methode ist ebenfalls anwendbar z.B. in der Forschung bei der Analytik von biologischen Proben. Zu Probenahme, Behandlung und Stabilität der Probe siehe Lit. A1.

Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Fermentationsproben und Zellkulturmedien

Analysenprobe, ggf. nach Zentrifugation, zum Abstoppen enzymatischer Vorgänge 15 min in Wasserbad (80°C) stellen und anschliessend zentrifugieren. Überstand, ggf. gemäss Verdünnungstabelle verdünnt, zur Bestimmung einsetzen. (Alternativ kann auch eine Enteiweissung mit Perchlorsäure, allerdings nur bei Abwesenheit von Disacchariden, oder mittels Carrez-Lösungen erfolgen. Siehe die oben beschriebenen Anwendungsbeispiele.)

Gallertartige Agar-Medien mit Wasser homogenisieren und wie beschrieben weiterbehandeln.

A. Literatur zur Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose

- A 1.1 Schmidt, F.H. (1961) Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander, *Klinische Wochenschrift* **39**, 1244-1247
- A 1.2 Bergmeyer, H.U., Bernt, E., Schmidt, F. & Stork, H. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1241-1246; Verlag Chemie, Weinheim und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., ed.) 2nd ed., vol. 3, pp. 1196-1201; Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London
- A 1.3 Bernt, E. & Bergmeyer, H.U. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1349-1352; Verlag Chemie, Weinheim und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., ed.) 2nd ed., vol. 3, pp. 1304-1307; Verlag Chemie, Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London
- A 1.4 Kunst, A., Draeger, B. & Ziegenhorn, J. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., ed.) 3rd ed., vol. VI, pp. 163-172, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel
- A 1.5 Beutler, H.O. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., ed.) 3rd ed., vol. VI, pp. 321-327, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel
- A 2.1 Handbuch für diätetische Lebensmittel. Analytik - Reinheitsanforderungen - (1973) des Bundesverbandes der diätetischen Lebensmittelindustrie e.V., Bad Homburg, herausgegeben von der Fördergesellschaft Diätetische Lebensmittel mbH, S. 27-30
- A 2.2 Lafon-Lafourcade, S., Lafitte, M. & Joyeux, A. (1977) Dosage du Glucose et du Fructose Residuels dans les Vins par Methode Enzymatique, Office International de la Vigne et du Vin, n° 600/F.V. 634
- A 2.3 Deutsche Norm DIN 10381 (April 1979) Untersuchung von Stärke und Stärkeerzeugnissen; Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in derselben Untersuchungsprobe (Enzymatisches Verfahren),
- A 2.4 Methodenbuch für Weinanalysen in Österreich (1980), herausgegeben von Arbeitsgemeinschaft der Landw. Versuchsanstalten in Österreich (ALVA)
- A 2.5 Schweizerisches Lebensmittelbuch, Kapitel 61B (Enzymatische Bestimmungen)/1.1, 1.2 und 1.6 (1981), Kapitel 2A (Milchmischgetränke)/11 (1980), Kapitel 9 (Speiseeis)/4.3 (1983), Kapitel 22 (Diätetische Lebensmittel und Speziallebensmittel)/6.3 (1991), Kapitel 23A (Honig)/8.2 (1995), Kapitel 28A (Frucht- und Gemüsesäfte u.a.)/5.4 (1988), Kapitel 30A (Wein aus Trauben)/4.4 (1993), Kapitel 34 (Gärungssessig)/8.1 (1994)
- A 2.6 Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 3 (Glucose) und 9-10 (Fructose)
- A 2.7 Brautechnische Analysenmethoden, Band III, S. 580-586 (1982), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- A 2.8 Österreichisches Lebensmittelbuch (Codex Alimentarius Austriacus), Kapitel B15 (Kakao, Kakaoerzeugnisse, Lebensmittel mit Kakao oder Schokolade, Nougat, Nougatmassen) (1983); Kapitel B22 (Zucker und Zuckerarten) (1983)
- A 2.9 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64. LFGB; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von Glucose und Fructose in Kinder-Zwieback und Zwiebackmehl, 48.02.07-1 (Mai 1985); Enzymatische Bestimmung der Gehalte an D-Glucose und D-Fructose in Frucht- und Gemüsesäften, 31.00-12 (Januar 1997); Enzymatische Bestimmung der Gehalte an D-Glucose und D-Fructose in Gemüsesäften, 26.26-11 (Januar 1997)
- A 2.10 Henniger, G. & Mascaro, L. (1985) Enzymatic-Ultraviolet Determination of Glucose and Fructose in Wine: Coll. Study, J. Assoc. Off. Anal. Chem. **68**, 1021-1024
- A 2.11 Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (1990), 15th ed., vol. 2, pp. 741-742 (1985.09)
- A 2.12 Die Methode ist zugelassen bei der Untersuchung von Wein im Rahmen der Qualitätsprüfung in Rheinland-Pfalz (1985; Landwirtschaftskammer Bad Kreuznach) und in Hessen (1986; Ministerium für Landwirtschaft und Forsten).
- A 2.13 Ministero dell'Agricoltura e delle Foreste (1986) Approvazione dei "Metodi ufficiali di analisi per i mosti, i vini, gli agri di vino (aceti) e i sottoprodotti della vinificazione". Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana, n. 161 del 14 luglio 1986
- A 2.14 Methodensammlung der Internationalen Fruchtsaft-Union (IFU-Analysen-Methode Nr. 55-1985); enthalten in "Code of Practice for Evaluation of Fruit and Vegetable Juices" (1996) edited by Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Economic Community (A.I.J.N.)
- A 2.15 RSK-Werte, die Gesamtdarstellung, Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen für Fruchtsäfte und Nektare einschliesslich überarbeiteter Analysenmethoden (1987), 1. Auflage, Verlag Flüssiges Obst, D-56370 Eschborn, S. 110-114
- A 2.16 Nederlandse Norm NEN 2857 (1e druk, oktober 1989) Vruchtesappen: Bepaling van het glucose- en fructosegehalte; Enzymatische methode (Fruit juices - Determination of the glucose and fructose content - Enzymatic method)
- A 2.17 Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Complément n° 1 à l'édition officielle de juin 1990, OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN, S. 97-100
- A 2.18 Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften L272 (3. Oktober 1990) Rechtsvorschriften: Verordnung (EWG) Nr. 2676/90 der Kommission vom 17. September 1990 zur Festlegung gemeinsamer Analysenmethoden für den Weissektor (S. 61-63)
- A 2.19 Deutsche Norm DIN EN 1140 (1994) Frucht- und Gemüsesäfte; Enzymatische Bestimmung der Gehalte an D-Glucose und D-Fructose; Spektralphotometrische Bestimmung von NADPH
- A 2.20 European Standard EN 1140 (Dec. 1994) Fruit and vegetable juices; Enzymatic determination of D-glucose and D-fructose content by the NADPH spectrometric method
- A 2.21 Standard der Russischen Föderation / Standard of the Russian Federation / GOST/DART ROSSII GOST R 51240-98 (1998) Fruit and vegetable juices. Determination of D-glucose and D-fructose content

- A 3.1 Weichel, H.H. (1965) Die quantitative Bestimmung von Fructose neben anderen Kohlenhydraten in Lebensmitteln durch enzymatische Analyse, *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **61**, 53-55
- A 3.2 Tschersich, J. & Mauch, W. (1968) Enzymatisch-photometrische Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Verbraucherzucker, *Zeitschrift für die Zuckerindustrie* **18**, 107-110
- A 3.3 Baumann, G. & Gierschner, K. (1971) Die Bestimmung von Zuckern in Fruchtsäften - ein Vergleich der enzymatischen mit der Luff-Schoorl-Methode, *Ind. Obst- und Gemüseverwertung* **56**, 165-170
- A 3.4 Kubadinow, N. (1974) Die enzymatische Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in Zuckerrüben und Betriebsäften der Zuckerproduktion und Vergleich ihrer Ergebnisse mit den Werten der Berliner Institutsmethode, *Zucker* **27**, 72-78
- A 3.5 Schiweck, H. & Büsching, L. (1974) Das Verhalten von Glucose und Fructose während der Zuckerfabrikation, *Zucker* **27**, 122-128
- A 3.6 Schultze, K.W. & Rummel, M. (1975) Beispiel für die Anwendung von Enzymen bei der pharmazeutischen Analyse, *Acta Pharmaceutica Technologica* **21**, 167-170
- A 3.7 Promayon, J., Barel, M., Fourny, G. & Vincent, J.-C. (1976) Essais de Détermination de la Teneur en Chicorée dans les Mélanges Solubles de Café et de Chicorée, *Café Cacao Thé* **20**, 209-217
- A 3.8 Motz, R.J. (1976) Enzymatische Zuckerbestimmung, *Zucker und Süßwarenwirtschaft* **29**, 75-77
- A 3.9 Wagner, K. & Kreutzer, P. (1977) Zusammensetzung und Beurteilung von Auslesen, Beeren- und Trockenbeerenauslesen, *Die Weinwirtschaft* **10**, 272-275
- A 3.10 Henniger, G. & Boos, H. (1978) Anwendung der enzymatischen Analyse bei der Untersuchung kosmetischer Präparate - dargestellt an einigen Beispielen, Seifen - Öle - Fette - Wachse **104**, 159-164
- A 3.11 Klingebiel, L., Grossklaus, R. & Pahlke, G. (1979) Erfahrungen mit der enzymatischen Bestimmung von Zucker und Zuckeraustauschstoffen in Diabetikerwaren, *Z. Lebensm. Unters. Forsch.* **169**, 359-360
- A 3.12 Wucherpfeffig, K., Otto, K. & Yueh-Chyng Huang (1986) Aussagekraft des Glucose-Fructose-Verhältnisses, *Die Weinwirtschaft-Technik* **122**, 254-260
- A 3.13 Millies, K. D., Sponholz, W.R. & Eberle, C. (1988) Methoden zur Zuckerbestimmung, *Weinwirtschaft - Technik*, Heft 6, S. 6-11
- A 3.14 Plessi, M., Monzani, A. & Coppini, D. (1988) Determination of the Monosaccharide and Alcohol Content of Balsamic and Other Vinegars by Enzymatic Methods, *Agric. Biol. Chem.* **52**, 25-30

B. Literatur zur Bestimmung von D-Glucose

- B 2.1 Brautechnische Analysenmethoden, Band II, S. 400-402 (1979), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- B 2.2 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64. LFGB, Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von Glucose in Fleischerzeugnissen, 07.00-22 (Mai 1983); Bestimmung von Glucose in Wurstwaren, 08.00-23 (Mai 1983); Bestimmung der belastenden Kohlenhydrate in Diätbier für Diabetiker (als Gesamtglucose), 49.01.05-1 (Mai 1984)
- B3.1 Henniger, G. & Schütz, A. (1987) Methods for the Enzymatic Determination of D-Glucose, Poster-Präsentation bei Association of Official Analytical Chemists Annual International Meeting, San Francisco, CA, USA.

C. Literatur zur Bestimmung von Saccharose, D-Glucose und D-Fructose

- C 2.1 Fuchs, G. & Wretling S. (1979) Bestämning av fruktos, glukos och sackaros i livsmedel, *Vår Föda* **31**, 435-439
- C 2.2 Bundesverband der Deutschen Feinkostindustrie e.V. Bonn; Analysenmethoden: Bestimmung des Zuckergehaltes in Tomatenmark (enz.), IV/61, (Dezember 1979)
- C 2.3 Norme Française Homologuée NF V 76-106 (Octobre 1980) Jus Fruits et Jus de Légumes: Détermination de la Teneur en Saccharose, D-Glucose, D-Fructose
- C 2.4 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64. LFGB; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Zuckergehalts in Tomatenmark, 26.11.03-8 (Mai 1983); Bestimmung des Zuckergehalts in Tomatenketchup und vergleichbaren Erzeugnissen, 52.01.01-8 (November 1983); Bestimmung von Saccharose, Glucose und Fructose in teildaptierter Säuglingsnahrung auf Milchbasis, 48.01-3 (Mai 1985); Bestimmung des Gesamtzuckergehaltes in Speisesenf, 52.06-5 (Dezember 1991); Bestimmung von Glucose, Fructose und Saccharose in Eiern und Eiprodukten, 05.00-10 (Dezember 2003)
- C 2.5 Office International du Cacao, du Chocolat et de la Confiserie, IOCCC Method number 113-1989: Determination of Glucose, Fructose and Sucrose in Chocolate and Sugar Confectionery Products by Means of Enzymes, Draft Standard Method
- C 2.6 Österreichisches Lebensmittelbuch (Codex Alimentarius Austriacus), Kapitel B29: Senf; Erlass vom 27. Oktober 1989 (s. ERNÄHRUNG/NUTRITION **14**, 168-170 (1990))
- C 3.1 Drawert, F. (1964) Enzymatische Analyse von Glucose, Fructose, Saccharose und Sorbit in Weinen und Traubenmosten, *VITIS* **4**, 185-187
- C 3.2 Trautner, K. (1969) Enzymatische Zuckerbestimmungen, *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft, Suppl.* **8**, S. 40-45
- C 3.3 Somogyi, J.C. & Trautner, K. (1974) Der Glucose-, Fructose- und Saccharosegehalt verschiedener Gemüsesorten, *Schweiz. Med. Wochenschrift* **104**, 177-182
- C 3.4 Trautner, K. & Somogyi, J.C. (1979) Zuckergehalte von Obst und Gemüse - Einflüsse von Reifegrad, Sorte und Lagerung, *Mitt. Gebiete Lebensm.Hyg.* **70**, 497-508
- C 3.5 Zürcher, K. & Hadorn, H. (1976) Veränderungen des Zuckerspektrums eines Sirups während der Lagerung, *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **67**, 136-139

- C 3.6 Zürcher, K. & Hadorn, H. (1976) Vergleichende Zuckerbestimmungen mit gaschromatographischen, enzymatischen und reduktometrischen Methoden, Deutsche Lebensmittel-Rundschau **72**, 197-202
- C 3.7 Sekin, S. (1978) Enzymatic Determination of Glucose, Fructose and Sucrose in Tobacco, Tobacco Sci. **23**, 75-77; Tobacco International **181**, 27-29
- C 3.8 Polascsek-Rác, M., Pauli, M. P., Horváth, G. & Vámos-Vigyázó (1981) Enzymatic determination of the sugars in red pepper, Z. Lebensm. Unters. Forsch. **172**, 115-117
- D. Literatur zur Bestimmung von Saccharose und D-Glucose**
- D 1.1 Bergmeyer, H. U. & Bernt, E. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, S. 1221-1224; Verlag Chemie, Weinheim, und (1974) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H. U., ed.) 2nd ed., vol. 3, p. 1176-1179, Verlag Chemie Weinheim/Academic Press, Inc., New York and London
- D 2.1 Handbuch für diätetische Lebensmittel. Analytik - Reinheitsanforderungen - (1973) des Bundesverbandes der diätetischen Lebensmittelindustrie e.V., Bad Homburg, herausgegeben von der Fördergesellschaft Diätetische Lebensmittel mbH, S. 57-60
- D 2.2 Untersuchung von Papieren, Kartons und Pappen für Lebensmittelverpackungen (gem. Empfehlungen XXXVI der Kunststoffkommission des Bundesgesundheitsamtes) Kapitel 8 (Methoden), Pkt. 3.5.2 (März 1979)
- D 2.3 Schweiz. Lebensmittelbuch, Kapitel 61B (Enzymatische Bestimmungen)/1.3 (1981), Kap. 2A (Milchmischgetränke)/10 (1980), Kap. 2B (Sauermilchprodukte)/10 (1980), Kapitel 4 (Milchdauerwaren)/5.2 (1993), Kap. 9 (Speiseeis)/4.3 (1983), Kap. 22 (Diätetische Lebensmittel und Speziallebensmittel)/6.3 (1991), Kap. 28A (Frucht- und Gemüsesäfte u.a.)/5.4 (1988), Kapitel 30A (Wein aus Trauben)/4.4 (1993), Kapitel 36A (Kakao, Kakaomasse, Kakaopulver und Schokoladenpulver)/7.2 (1992)
- D 2.4 Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 3 (Glucose), 11 (Saccharose)
- D 2.5 Brautechnische Analysenmethoden, Band III, S. 586-589 (1982), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- D 2.6 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64. LFGB; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von Saccharose in Fleischerzeugnissen, 07.00-24 (Mai 1983); Bestimmung von Saccharose in Wurstwaren, 08.00-25 (Mai 1983); Bestimmung des Gehaltes an Saccharose und Glucose in Milchprodukten und Speiseeis, 02.00-12 (Juni 2009); Bestimmung des Gehaltes an Saccharose und Glucose in Käse, 03.00-12 (Mai 1986); Bestimmung des Gehaltes an Saccharose und Glucose in Speiseeis, 42.00-5 (Juni 2009); Enzymatische Bestimmung des Saccharosegehaltes in Frucht- und Gemüse-säften, 31.00-13 (September 1997); Enzymatische Bestimmung des Saccharosegehaltes in Gemüsesäften, 26.26-17 (September 1997)
- D 2.7 Deutsche Norm DIN 10326 (Februar 1986) Bestimmung des Gehaltes an Saccharose und Glucose in Milchprodukten und Speiseeis
- D 2.8 Methodensammlung der Internationalen Fruchtsaft-Union (IFU-Analysen-Methode Nr. 56-1985) ; enthalten in "Code of Practice for Evaluation of Fruit and Vegetable Juices" (1996) edited by Association of the Industry of Juices and Nectars from Fruits and Vegetables of the European Economic Community (A.I.J.N.)
- D 2.9 Niederlande: Warenwet, Uitvoeringsvoorschriften (CII-6). Regeling Onderzoekingsmethoden voor brood; Methode 14: De Bepaling van het Suikergehalte als de Som van Saccharose en Invertsuiker, de laatste herleid tot Saccharose (Oktober 1986); Dit voorschrift betreft een methode voor de enzymatische bepaling van de som van saccharose en invertsuiker, de laatste berekend als saccharose, in brood
- D 2.10 Österreichisches Lebensmittelbuch (Codex Alimentarius Austriacus), Kapitel B8 (Essig), Erlass vom 16. Juni 1986 (s. ERNÄHRUNG/NUTRITION **11**, 49-53 (1987); Kapitel B15 (Kakao, Kakaoerzeugnisse, Lebensmittel mit Kakao oder Schokolade, Nougat, Nougatmassen) (1983)
- D 2.11 RSK-Werte, die Gesamtdarstellung, Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen für Fruchtsäfte und Nektare einschliesslich überarbeiteter Analysenmethoden (1987), 1. Auflage, Verlag Flüssiges Obst, D-56370 Eschborn, S. 151-154
- D 2.12 Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten, VDLUFA (1988) Methodenbuch Band VI: Enzymatische Bestimmung des Glucose- und Saccharosegehaltes von Milchprodukten (C20.3)
- D 2.13 Nederlandse Norm NEN 2858 (1e druk, oktober 1989) Vruchtesappen: Bepaling van het saccharosegehalte; Enzymatische methode (Fruit juices - Determination of the sucrose content - Enzymatic method)
- D 2.14 Europäische Norm/European Standard EN 12146 (Okt. 1996) Frucht- und Gemüsesäfte - Enzymatische Bestimmung des Saccharosegehaltes - Spektralphotometrische Verfahren mit NADP (Fruit and vegetable juices - Enzymatic determination of sucrose content - NADP spectrophotometric method)
- D 2.15 Deutsche Norm DIN EN 12146 (Okt. 1996) Frucht- und Gemüsesäfte, Teil 4: Enzymatische Bestimmung des Saccharosegehaltes; Spektralphotometrisches Verfahren mit NADP
- D 2.16 Nederlandse Norm NEN-EN 12146 (October 1996) Vruchten- en groentesappen. Enzymatische Bepaling van het gehalte aan saccharose. NADP-spectrometrische methode
- D 2.17 Standard der Russischen Föderation / Standard of the Russian Federation / GOSSTANDART ROSSII GOST R 51258-99 (1999) Milk and milk products. Method for determination of sucrose and glucose content

D-Glucose-Testkontroll-Lösung (Flasche 4)

Konzentration*: siehe Flaschenetikett

D-Glucose-Testkontroll-Lösung ist eine stabilisierte wässrige Lösung von D-Glucose. Sie dient als Testkontroll-Lösung für die enzymatische Bestimmung von D-Glucose in Lebensmitteln und anderen Probenmaterialien.

Anwendung:

1. Zusatz der D-Glucose-Testkontroll-Lösung zum Testansatz:

Die Testkontroll-Lösung wird anstelle der Probelösung zur Bestimmung eingesetzt.

2. "Quantitativer Nachstart":

Nach Ablauf der Reaktion mit Probelösung und Messung von E_3 werden 0,050 ml der Testkontroll-Lösung zum Probeansatz gegeben. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 15 min) wird die Extinktion E_4 gemessen. Aus der Differenz ($E_4 - E_3$) wird nach der allgemeinen Berechnungsformel die Konzentration berechnet. Hierbei ist das geänderte Gesamtvolumen zu berücksichtigen. Wegen der Verdünnung des Testansatzes durch die Zugabe der Testkontroll-Lösung weicht das Ergebnis geringfügig von der Angabe des Flaschenetiketts ab.

3. Interner Standard:

Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung von D-Glucose (keine groben Fehler bei Testansatz; Probe ist frei von Hemmsubstanzen) kann die Testkontroll-Lösung als interner Standard verwendet werden:

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe	Standard	Probe + Standard
Lösung 1	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml	1,000 ml
bidest. Wasser	2,000 ml	1,900 ml	1,900 ml	1,900 ml
Probelösung	-	0,100 ml	-	0,050 ml
Testkontroll-Lsg.	-	-	0,100 ml	0,050 ml

mischen, nach ca. 3 min Extinktionen der Lösungen messen (E_1). Weiter verfahren wie im Arbeitsschema bei "Bestimmungsansatz" angegeben. Die entsprechenden Fussnoten und "Hinweise zur Testdurchführung" sind zu beachten.

Die Wiederfindung des Standards berechnet sich nach:

$$\text{Wiederfindung} = \frac{2 \times \Delta E_{\text{Probe + Standard}} - \Delta E_{\text{Probe}}}{\Delta E_{\text{Standard}}} \times 100 [\%]$$

4. Hinweis:

Eine wässrige Lösung von D-Fructose ist nicht ausreichend stabil, so dass eine ausreichend stabile Testkontroll-Lösung nicht hergestellt und mit der Test-Combination D-Glucose/D-Fructose geliefert werden kann.

* Als wasserfreie D-Glucose angegeben

Weitere Hinweise siehe Arbeitsanleitungen zu

Test-Combination D-Glucose Best. Nr. 10 716 251 035

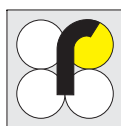
**Test-Combination Maltose/Saccharose/
D-Glucose Best. Nr. 11 113 950 035**

Test-Combination Saccharose/D-Glucose Best. Nr. 10 139 041 035

**Test-Combination Saccharose/
D-Glucose/D-Fructose Best. Nr. 10 716 260 035**

Test-Combination D-Sorbit/Xylit Best. Nr. 10 670 057 035

Test-Combination Stärke Best. Nr. 10 207 748 035



R-BIOPHARM AG
An der neuen Bergstraße 17
D-64297 Darmstadt
Telefon + 49 61 51 / 81 02-0
Fax + 49 61 51 / 81 02-20
www.r-biopharm.com

