

D-Glucose

UV-Test

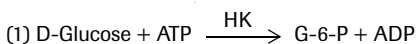
zur Bestimmung von D-Glucose in Lebensmitteln und anderen Probematerialien.

Best. Nr. 10 716 251 035

Test-Combination für 3 × 45 Bestimmungen

Prinzip (Lit. A 1)

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



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) (2).



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.

Die Test-Combination enthält

- Drei Flaschen 1 mit je ca. 7,2 g Pulvergemisch, zusammengesetzt aus: Triethanolamin-Puffer, pH ca. 7,6; NADP, ca. 110 mg; ATP, ca. 260 mg; Magnesiumsulfat
- Drei Flaschen 2 mit je ca. 1,1 ml Suspension, zusammengesetzt aus: Hexokinase, ca. 320 U; Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, ca. 160 U
- Flasche 3 mit D-Glucose-Testkontroll-Lösung zur Testkontrolle (Die Messung der Testkontroll-Lösung ist nicht erforderlich zur Berechnung von Ergebnissen.). Testkontroll-Lösung unverdünnt verwenden. (Verwendbar bis: siehe Verpackungsetikett).

Herstellung der Lösungen

- Inhalt einer Flasche 1 mit 45 ml bidest. Wasser lösen.
- Inhalt einer Flasche 2 unverdünnt verwenden.

Stabilität der Reagenzien

Der Inhalt der Flaschen 1 ist stabil bei 2-8°C (s. Verpackungsetikett).

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 ist stabil bei 2-8°C (s. Verpackungsetikett).

Bestimmungsansatz

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

Glasküvette²: 1,00 cm Schichtdicke

Temperatur: 20-25°C

Testvolumen: 3,020 ml

Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette) oder gegen Wasser

Probelösung: 1-100 µg D-Glucose/Testansatz³ (in 0,100-2,000 ml Probelösung)

In Küvetten pipettieren	Leerwert	Probe
Lösung 1	1,000 ml	1,000 ml
Probelösung*	-	0,100 ml
bidest. Wasser	2,000 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***.		

* 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.

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)

Wurden bei E₂ konstante Extinktionszunahmen festgestellt, 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 Leerwerts von Extinktionsdifferenz der Probe abziehen.

$$\Delta E = (E_2 - E_1)_{\text{Probe}} - (E_2 - E_1)_{\text{Leerwert}}$$

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. 3).

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:

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

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

Bei der Analyse fester und halbfester Proben, die für die Vorbereitung der Probe eingewägt werden, wird das Analysenergebnis auf die Einwaage bezogen:

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

1. Hinweise zur Testdurchführung

Im Testansatz muss die D-Glucosemenge 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 D-Glucosekonzentration zwischen 0,15 und 1,0 g/l bzw. 0,08 und 0,5 g/l liegt.

Verdünnungstabelle

Geschätzte Menge an D-Glucose im Liter		Verdünnung mit Wasser	Verdünnungsfaktor F
Messung bei			
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

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



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 zu 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 der Berechnungsformel entsprechend zu berücksichtigen.

2. Spezifität der Bestimmung (Lit. A1)

Die Bestimmung ist spezifisch für D-Glucose.

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

3. Empfindlichkeit und Nachweisgrenze

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

Die Nachweisgrenze von 0,4 mg ergibt sich aus der Extinktionsdifferenz von 0,010 (gemessen bei 340 nm) und dem maximalen Probevolumen $v = 2,000$ ml.

4. Linearität

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

5. 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 D-Glucose-Konzentration von ca. 4-8 mg/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 in Blut: VK = 1,2 % (Lit. A 1.1)
VK = 1,8 % (Lit. A 1.2)

Diätbier:

D-Glucose:
 $x = 1,0$ g/100 ml $r = 0,030$ g/100 ml $s_{(r)} = \pm 0,011$ g/100 ml
 $R = 0,122$ g/100 ml $s_{(R)} = \pm 0,043$ g/100 ml
Weitere Daten: s. Literatur (Lit. A 2.4)

Fruchtsaft:

D-Glucose: $r = 0,42 + 0,027 \times (c_{D-Glucose}$ in g/l) g/l
 $R = 1,00 + 0,042 \times (c_{D-Glucose}$ in g/l) g/l

D-Fruktose:

$r = 0,15 + 0,033 \times (c_{D-Fruktose}$ in g/l) g/l
 $R = 1,05 + 0,045 \times (c_{D-Fruktose}$ in g/l) g/l

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

Wein:

$r = 0,056 \times x_i$
 $R = 0,12 + 0,076 x_i$

$x_i =$ D-Glucose bzw. D-Fruktose-Gehalt in g/l (Lit. B2.17, 2.18)

Flüssigvolle:

D-Glucose:
 $x = 0,44$ g/100 g $r = 0,073$ g/100 g $s_{(r)} = \pm 0,026$ g/100 g
 $R = 0,106$ g/100 g $s_{(R)} = \pm 0,037$ g/100 g

D-Fruktose:

$x = 6,72$ g/100 g $r = 0,587$ g/100 g $s_{(r)} = \pm 0,207$ g/100 g
 $R = 0,748$ g/100 g $s_{(R)} = \pm 0,264$ g/100 g

Saccharose:

$x = 43,32$ g/100 g $r = 1,722$ g/100 g $s_{(r)} = \pm 1,033$ g/100 g
 $R = 4,268$ g/100 g $s_{(R)} = \pm 1,501$ g/100 g

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

6. Erkennen von Störungen

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

6.2 Nach Ablauf der Reaktion kann durch Zugabe von D-Glucose (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.

6.3 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.

6.4 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.

6.5 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.

7. Gefährlichkeit der Reagenzien

Die Reagenzien zur Bestimmung von D-Glucose 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.

8. 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 (falls erforderlich auf ca. pH 8 eingestellt) gegen Probeleerwert (= 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;

Protein-haltige Proben mit Carrez-Reagenzien (s.u.) klären;

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. Flüssige Probe in einem 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 Entweissung 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.

9. Anwendungsbeispiele

Bestimmung von D-Glucose in Milch

20 ml Milch in einen 100 ml-Messkolben pipettieren. Anschliessend der Reihe nach zugeben und nach jeder Zugabe mischen: 10 ml Carrez-I-Lösung (s. Pkt. 8.), 10 ml Carrez-II-Lösung (s. Pkt. 8.) und 20 ml Natronlauge (0,1 M). Messkolben mit dest. Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren. 1.000 ml, bzw. 2.000 ml Filtrat zum Test einsetzen.

Bestimmung der belastenden Kohlenhydrate in Diätbier für Diabetiker (Gesamt-D-Glucose nach Säurehydrolyse) (Lit. A2.4)

300 bis 500 ml Diätbier zur Entfernung der Kohlensäure schütteln und mit Faltenfilter filtrieren. 50 ml Filtrat in einem 250 ml-Standkolben mit 10 ml Salzsäure (HCl, 25%; d = 1,125) und 50 ml bidest. Wasser 3 h im kochenden Wasserbad am Rückflusskühler kochen. Nach Abkühlen auf 20-25°C Kolbeninhalt mit Natronlauge (NaOH, 5 M) neutralisieren (pH 6-7), in 250 ml-Messkolben überführen und Messkolben mit bidest. Wasser bis zur Marke auffüllen, mischen und filtrieren. Filtrat im Verhältnis 1:10 (1 + 9) mit bidest. Wasser verdünnen und zum Test einsetzen.

Bestimmung von D-Glucose in Backmitteln, Gewürzen und Salzmischungen

Homogene Probe in Messkolben genau einwiegen und mit Wasser lösen bzw. mit Wasser extrahieren (ggf. 30 min bei 60-70°C). Bei Bedarf mit Carrez-Reagenzien klären. Probelösung gemäss Verdünnungstabelle verdünnt zum Test einsetzen.

10. Weitere Anwendungsmöglichkeiten

Die Methode ist auch anwendbar bei der Untersuchung von Kosmetika (Lit. B 3.10), von Pharmaka (Lit. B 3.6), von Papier (Lit. D 2.2), von Tabak (Lit. C 3.7) und in der Forschung bei der Analyse von biologischen Proben. Zu Probenahme, Behandlung und Stabilität der Probe s. Lit. A 1.1, A 1.2

Bestimmung von D-Glucose 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 oben beschrieben weiterbehandeln.

Literatur

A. Literatur zur Bestimmung von D-Glucose

- A 1.1 Bergmeyer, H.U., Bernt, E., Schmidt, F. & Stork, H. (1974) in Methoden der enzymatischen Analyse (Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 3. Aufl., Bd. 2, 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 1.2 Kunst, A., Draeger, B. & Ziegenhorn, J. (1984) in Methods of Enzymatic Analysis (Bergmeyer, H.U., Hrsg.) 3rd ed., vol. VI, pp. 163-172, Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach/Florida, Basel
- A 2.1 Brautechnische Analysemethoden, Band II, S. 400-402 (1979), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- A 2.2 Schweizerisches Lebensmittelbuch (1981), Kapitel 61 B (Enzymatische Bestimmungen)/1.1
- A 2.3 Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 3 (Glucose)
- A 2.4 Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64. LFGB; Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung von Glucose in Fleischzeugnissen, 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)
- A 2.5 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 3.1 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

Weitere Hinweise siehe Arbeitsanleitungen zu

Test-Combination D-Glucose/D-Fructose	Best. Nr. 10 139 106 035
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 26 035
Test-Combination D-Sorbit/Xylit	Best. Nr. 10 670 057 035
Test-Combination Stärke	Best. Nr. 10 207 748 035

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

- B 1.1 Schmidt, F.H. (1961) Die enzymatische Bestimmung von Glucose und Fructose nebeneinander. Klinische Wochenschrift **39**, 1244-1247
- B 1.2 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
- B 1.3 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
- B 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
- B 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
- B 2.3 Deutsche Norm DIN 10381 (April 1979) Untersuchung von Stärke und Stärkezeugnissen; Bestimmung von D-Glucose und D-Fructose in derselben Untersuchungssprobe (Enzymatisches Verfahren),
- B 2.4 Methodenbuch für Weinanalysen in Österreich (1980), herausgegeben von Arbeitsgemeinschaft der Landw. Versuchsanstalten in Österreich (ALVA)
- B 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 (Gärungssüssig)/8.1 (1994)
- B 2.6 Gombocz, E., Hellwig, E., Vojir, F. & Petuely, F. (1981) Deutsche Lebensmittel-Rundschau **77**, 3 (Glucose) und 9-10 (Fructose)
- B 2.7 Brautechnische Analysemethoden, Band III, S. 580-586 (1982), Methodensammlung der Mitteleuropäischen Brautechnischen Analysenkommission (MEBAK), herausgegeben von F. Drawert im Selbstverlag der MEBAK, Freising
- B 2.8 Österreichisches Lebensmittelbuch (Codex Alimentarius Austriacus) Kapitel B15 (Kakao, Kakaoverzeugnisse, Lebensmittel mit Kakao oder Schokolade, Nougat, Nougatmassen), 1983; Kapitel B22 (Zucker und Zuckerarten) (1983)
- B 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);
- B 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
- B 2.11 Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists (1990), 15th ed., vol. 2, pp. 741-742 (985.09)
- B 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).
- B 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
- B 2.14 Methodensammlung der Internationalen Fruchtsaft-Union (IFU-Analyse-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.)
- B 2.15 RSK-Werte, die Gesamtdarstellung, Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen für Fruchtsäfte und Nektare einschliesslich überarbeiteter Analysemethoden (1987), 1. Auflage, Verlag Flüssiges Obst, D-56370 Eschborn, S. 110-114
- B 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)
- B 2.17 Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et des moûts, Complement n° 1 à l'édition officielle de juin 1990, OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN, S. 97-100
- B 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 Analysemethoden für den Weissektor (S. 61-63)
- B 2.19 Deutsche Norm DIN EN 1140 (1994) Frucht- und Gemüsesäfte; Enzymatische Bestimmung der Gehalte an D-Glucose und D-Fructose; Spektrophotometrische Bestimmung von NADPH (Fruit and vegetable juices; Enzymatic determination of D-glucose and D-fructose content; NADPH spectrophotometric method)
- B 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
- B 2.21 Standard der Russischen Föderation / Standard of the Russian Federation / GOSSTANDART ROSSII GOST R 51240-98 (1998) Fruit and vegetable juices. Determination of D-glucose and D-fructose content
- B 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
- B 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
- B 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
- B 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
- B 3.5 Schiweck, H. & Büsching, L. (1974) Das Verhalten von Glucose und Fructose während der Zuckerfabrikation, Zucker **27**, 122-128
- B 3.6 Schultze, K.W. & Rummel, M. (1975) Beispiel für die Anwendung von Enzymen bei der pharmazeutischen Analyse, Acta Pharmaceutica Technologica **21**, 167-170

- B 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
- B 3.8 Motz, R.J. (1976) Enzymatische Zuckerbestimmung, *Zucker und Süßwarenwirtschaft* **29**, 75-77
- B 3.9 Wagner, K. & Kreutzer, P. (1977) Zusammensetzung und Beurteilung von Auslesen, Beeren- und Trockenbeerenauslesen, *Die Weinwirtschaft* **10**, 272-275
- B 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
- B 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
- B 3.12 Wucherpfennig, K., Otto, K. & Yueh-Chyng Huang (1986) Aussagekraft des Glucose-Fructose-Verhältnisses, *Die Weinwirtschaft-Technik* **122**, 254-260
- B 3.13 Millies, K. D., Sponholz, W.R. & Eberle, C. (1988) Methoden zur Zuckerbestimmung, *Weinwirtschaft - Technik*, Heft 6, S. 6-11
- B 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

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; Analysemethoden: 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 Zuckergehaltes in Tomatenmark, 26.11.03-8 (Mai 1983); Bestimmung des Zuckergehaltes 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 Gemüsearten, *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.* **67**, 497-508
- C 3.5 Zürcher, K. & Hadorn, H. (1976) Veränderungen des Zuckerspektrums eines Sirups während der Lagerung, *Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg.* **72**, 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.*, 75-77; *Tobacco International* **181**, 27-29
- C 3.8 Polascsek-Rácz, 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), Kap. 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 Analysemethoden, 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 Gemüsesäften, 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-Analysenmethode Nr. 56-1986); enthalten in "Code of Practice for Evaluation of Fruit and Vegetable Juices" (1995) 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 Österreichisches Lebensmittelbuch (Codex Alimentarius Austriacus), Kapitel B8 (Essig), Erlass vom 16. Juni 1986 (s. ERNÄHRUNG/NUTRITION **11**, 49-53 (1987); Kapitel B15 (Kakao, Kakaoverzeugnisse, Lebensmittel mit Kakao oder Schokolade, Nougat, Nougatmassen) (1983)
- D 2.10 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 enz. bepaling van de som van saccharose en invertsuiker, de laatste berekend als saccharose, in brood
- D 2.11 RSK-Werte, die Gesamtdarstellung, Richtwerte und Schwankungsbreiten bestimmter Kennzahlen für Fruchtsäfte und Nektare einschliesslich überarbeiteter Analysemethoden (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 Niederlandse Norm NEN 2858 (1e druk, oktober 1989) Vruchesappen: 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 - Spektralphotometrisches 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; Spectralphotometrisches Verfahren mit NADP.
- D 2.16 Niederlandse Norm NEN-EN 12146 (October 1996) Vruchten- en groentesappen. Enzymatische Bepaling van het gehalte aan sacharose. 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 3)

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_2 werden 0,050 ml der Testkontroll-Lösung zum Probeansatz gegeben. Nach Ablauf der Reaktion (ca. 15 min) wird die Extinktion E_3 gemessen. Aus der Differenz ($E_3 - E_2$) 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.

* Als wasserfreie D-Glucose angegeben

3. Interner Standard:

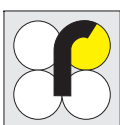
Zur Prüfung auf richtige und störungsfreie Durchführung der Bestimmung (keine groben Fehler bei Testansatz; Probe ist frei von Hemmsubstanzen) kann die Testkontroll-Lösung als interner Standard verwendet werden:

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

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



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

