Untersuchung über die Zuverlässigkeit der biochemischen Zuckerbestimmung nach Van Voorst

Autor(en): **Mossel, D.A.A.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **42 (1951)**

Heft 1

PDF erstellt am: **04.06.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-982441

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Untersuchung über die Zuverlässigkeit der biochemischen Zuckerbestimmung nach Van Voorst

von *D. A. A. Mossel*

Centraal Instituut voor Voedingsonderzoek T. N. O., Utrecht (Holland)

Veranlassung zur Untersuchung

Von *Hadorn* und Mitarbeitern [2]) ist vor kurzem mitgeteilt worden, dass die von den holländischen Chemikern ausgearbeitete Methode für selektive Zuckerbestimmung [1], [9]) nicht befriedigend sei. Auch von amerikanischer Seite ist dieses behauptet worden [3]).

In den Niederlanden werden die biochemischen Zuckerbestimmungsmethoden jedoch seit vielen Jahren mit gutem Erfolg durchgeführt [5]). Es war daher erwünscht, die Methode aufs neue nachzuprüfen und dabei besonders auf eventuelle Fehlerquellen zu achten.

Grundsätzliche Gesichtspunkte

Die Bestimmung von Glucose, Fructose und Saccharose in Zuckergemischen macht bekanntlich keine Schwierigkeiten. Wenn aber auch die beiden reduzierenden Biosen *Maltose* und *Lactose* in einem Gemisch anwesend sind, ist die Analyse grundsätzlich schwieriger. Eine der vorgeschlagenen Möglichkeiten ist dann, Hefestämme zu verwenden, welche die beiden Biosen selektiv vergären. Man benützt meistens die sporogene Hefe *Saccharomyces cerevisiae*, welche Maltose, jedoch nicht Lactose, vergärt, und die anaskosporogene Hefe *Candida pseudotropicalis*, die Lactose assimiliert, Maltose dagegen nicht.

*

Man geht in der Praxis wie folgt vor:

Die zur Untersuchung kommenden Materialien enthalten meistens ungenügend Wuchsstoffe [7]), um eine schnelle Entwicklung und einen intensiven Stoffwechsel der benützten Hefen zu sichern. Daher werden die zu untersuchenden Lösungen zuerst mit Hefeextrakt oder Pepton *angereichert*. Es wird dazu in unserem Laboratorium eine sterile 5 %ige Hefeautolysatlösung, hergestellt aus dem *Difco*-pulver, benützt.

Nachdem die erhaltenen Lösungen pasteurisiert sind, wird ein bequemes Volumen mit S. cerevisiae geimpft, ein anderes mit C. pseudotropicalis. Nachdem man 48 Stunden vergären liess, werden die Hefen getötet und in den resultierenden Lösungen die unvergorenen Zucker bestimmt, z. B. mit dem Reagens nach *Luff-Schoorl* [8]).

*

Es hat sich bei unseren Untersuchungen gezeigt, dass die folgenden Massnahmen unbedingt notwendig sind bei der Durchführung dieser Methode:

1. Prüfung der benützten Stämme

Es empfiehlt sich, immer die benützten Stämme auf Reinheit zu prüfen. Dazu werden in unserem Laboratorium Inokula der Kulturen zunächst dispergiert in etwa 50 ml steriler Lösungen, die 2 Gew. % Maltose, bzw. Lactose, und 0,1 Gew.% Hefe-Autolysat *(Difco)* enthalten. Die inokulierten Lösungen werden in einem *Einhorn*-Rohr wenigstens 48 Stunden bei 30° C inkubiert.

Es darf sich dann weder in der mit S. cerevisiae geimpften Lactoselösung, noch in der mit C. pseudotropicalis geimpften Maltoselösung Gas gebildet haben, während die mit S. cerevisiae geimpfte Maltoselösung und die mit C. pseudotropicalis geimpfte Lactoselösung total vergoren sein müssen.

2. Massregel zur Reinhaltung der Mikroflora während der Vergärung

Es hat sich gezeigt, dass schnelles Abkühlen und sofortiges Inokulieren der pasteurisierten Lösungen genügt, um nur die geimpften Hefezellen und nicht etwaige Bazillussporen zur Entwicklung kommen zu lassen.

Weil allerdings die benützten Lösungen nicht steriliert werden, kann es — wenn man diese Technik *nicht* befolgt — passieren, dass sporenbildende Bakterien sich während der Inkubierung vermehren und das biochemische Geschehen stören. In den meisten Fällen nimmt man dann eine besondere Hautbildung in den Kolben wahr. Es kann aber auch vorkommen, dass man makroskopisch nichts besonderes wahrnimmt und dennoch irreführende Ergebnisse erhält. In Zweifelfällen empfiehlt es sich, aus den vergorenen Lösungen ein Sediment herzustellen und dasselbe mikroskopisch zu untersuchen.

3. Korrektur für die angewandte Anreicherung des Gärmediums

Es hat sich gezeigt, dass die zur Anreicherung benützte Hefeautolysatlösung das *Luff-Schoorl-Reagens* reduziert, und zwar so stark, dass dafür eine Korrektur notwendig ist. Die Bestimmung dieser Korrektur wird auf Seite 20 beschrieben.

Arbeitsweise

Materialien

Die in Bearbeitung zu nehmende *Stammlösung* soll 1—2 % Biosen enthalten. Aufbewahrung der Lösung geschieht im Eisschrank. Es soll sichergestellt werden, dass die Lösung keine — für die Hefen giftigen — Schwermetallionen enthält.

Die *Anreicherungslösung* wird hergestellt mit 50 g Hefeautolysat-Pulver (Bacto Yeast Extract, dehydrated; Hersteller: Difco Laboratories Inc., Detroit, USA) pro Liter Wasser. Es empfiehlt sich, die Lösung 15—20 Minuten bei 120° C zu sterilisieren und aseptisch zu benützen, weil sonst weder die Wuchsstoffzufuhr noch die Korrektur konstant wären.

Kulturen

Die Stammkulturen werden auf Malzagar gehalten, hergestellt mit 45 g Malzagar-Pulver (Bacto Malt Agar, dehydrated; Hersteller: Difco Laboratories

Inc., Detroit USA) pro Liter Wasser. Vom Agar werden je 3—4 ml abgefüllt in Kulturröhren, welche nach 15—20 Minuten sterilisieren bei 120° C schräg abgekühlt werden.

Wenn die Kulturen im Eisschrank aufbewahrt werden, braucht nur einmal pro Monat eine neue Kultur hergestellt zu werden. Letzteres geschieht durch Abimpfen und 24—40 Stunden inkubieren bei 30° C.

Es empfiehlt sich, jede neue Kultur auf Reinheit zu prüfen durch Kultivierung in 2 %igen Zuckerlösungen, wie oben beschrieben.

Arbeitsvorschrift

Von der zu untersuchenden Lösung werden in einem sterilisierten Erlenmeyerkölbchen von 100 ml, abgeschlossen mit Wattestöpsel, 25 ml einpipettiert und angereichert mit 10 ml Hefeautolysatlösung. Nach Zugabe von Bimsstein wird pasteurisiert durch vorsichtiges Abdampfen auf einem Sandbad bis zu einem Endvolumen von 5—10 ml.

Unmittelbar darauf wird abgekühlt und geimpft mit einer Öse der geeigneten Hefekultur: Saccharomyces cerevisiae für Lactose-Bestimmung, Candida pseudotropicalis für Maltose-Bestimmung.

Nachdem 48 Stunden bei 30° C vergoren ist, wird kurz aufgekocht und verdünnt auf 100 ml. In 5 ml dieser Lösung (aequivalent mit 1,25 ml der Stammlösung) wird der verbliebene Zucker bestimmt nach *Luff-Schoorl* [8]), in der semi-micro-Ausführung nach *van de Kamer* [4]).

Ergebnisse

In einem Modell-Versuch wurde eine 1,6 %ige Zuckerlösung hergestellt, die gleiche Teile Maltose und Lactose enthielt. Die benützten Zucker ergaben folgende analytische Zahlen:

Tabelle 1

Zusammensetzung der benützten Zuckerarten

	Wassergehalt (%) [nach *v. d. Kamer* [6])]	Asche (%) (550° C)	Zucker (%) [nach *Schoorl* [8])]
Maltose	5,8	0,0	93,5
Lactose	5,2	0,0	94,9

Die Bestimmung der *Korrektur* geschah auf folgende Weise:

Von der 5 %igen Hefeautolysatlösung wurden 10 ml-Portionen gemischt mit je 25 ml 1 %iger Lösungen von Maltose, bzw. Lactose. Nachdem in normaler Weise konzentriert war, wurde mit S. cerevisiae bzw. C. pseudotropicalis geimpft und vergoren. Die resultierenden Werte sind in Tabelle 2 vereinigt. Es zeigt sich, dass die Korrektur einen gut konstanten Wert aufweist.

Tabelle 2

Bestimmung der Korrektur

System	Oxydationsaequivalent von 5 ml Reagens nach *Luff-Schoorl* (ml 0,1 N $Na_2S_2O_3$)
Blindversuch	5,06 — 5,05 — 5,07 — 5,06 → **5,06**
Vergorene Maltoselösung	4,96 — 4,98 — 4,95 — 4,97 → **4,97**
Vergorene Lactoselösung	4,96 — 4,95 — 4,97 — 4,98 → **4,97**
Mittelwert Korrektur	0,09/0,5 ml Autolysat

Die Untersuchung der Lösung, hergestellt aus den Zuckern, beschrieben in Tabelle 1, ergab den folgenden Befund:

Tabelle 3

Ergebnisse der Untersuchung eines Probegemisches

Zucker	Eingewogen		Gefunden				Gefunden %
	Einwaage (g/250 ml)	Netto (mg/1,25 ml)	korr. Blindversuch (ml 0,1 N)	Titration (ml 0,1 N)	Verbrauch (ml 0,1 N)	Rest-Zucker (mg/1,25 ml)	
Maltose	1,870	9,35	4,97	2,64, 2,61 ; 2,60, 2,61 → **2,62**	2,35	9,3	99,5
Lactose	1,898	9,49	4,97	2,45, 2,46 ; 2,45, 2,44 → **2,45**	2,52	9,4	99,0

Die Korrelation zwischen den gefundenen und theoretischen Werten ist sehr gut, weil die Reproduzierbarkeit der titrimetrischen Zuckerbestimmung an sich schon nicht grösser ist als 1 %.

Es hat sich also gezeigt, dass die gegen die selektive Vergärungstechnik erhobenen Einwände nicht begründet sind.

Zusammenfassung

Die durchgeführten Untersuchungen haben bewiesen, dass die Bestimmungen von Maltose und Lactose nebeneinander mittels selektiver Vergärung völlig zuverlässig sind, wenn folgende Massregeln beobachtet werden:

1. Periodische Kontrolle der biochemischen Eigenschaften der benützten selektiv vergärenden Heferassen.
2. Verhütung der Entwicklung ubiquitärer sporenbildender Bakterien durch Anwendung einer passenden Inokulationstechnik.
3. Korrektur für das Reduktionsvermögen des benützten Hefe-Autolysates.

Résumé

Les analyses exécutées ont démontré que le dosage du maltose et du lactose, en présence l'un de l'autre, par fermentation sélective est absolument sûr à condition d'observer les mesures suivantes:

1. Contrôle périodique des propriétés biochimiques des espèces de levures, à fermentation sélective, utilisées.
2. Prévention du développement des bactéries sporogènes ubiquitaires, par l'emploi d'une technique d'inoculation appropriée.
3. Tenir compte de la correction due au pouvoir réducteur de l'autolysat de levure utilisé.

Summary

1. The fundamental aspects of the determination of the reducing disaccharides lactose and maltose by selective fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Candida pseudotropicalis* were studied.
2. These investigations revealed that for obtaining accurate data in this technique the following precautions are essential:
   a) Periodic check on the biochemical properties of the strains used;
   b) Prevention of the development of ubiquitous sporeforming bacteria in the fermentation systems by inoculating immediately after pasteurization and cooling;
   c) Making allowance for the reduction, shown by the yeast extract solution, used for improving the nutrient composition of the fermentation systems.

Literatur

[1]) *M. W. Fuhri Snethlage,* Lactose-bepaling in brood. Chem. Weekbl. **23**, 578—580 (1926).

[2]) *H. Hadorn* und *R. Jungkunz,* Zur Untersuchung und Beurteilung diätetischer Nährmittel. Mitt. **40**, 416—469 (1949); ref. 421.

[3]) *M. E. Hanlon, F. V. Kenney* and *D. G. Mitchell,* Report on lactose in chocolate. J. Assoc. Off. Agric. Chemists **32**, 169—174 (1949).

[4]) *J. H. van de Kamer,* Semi-microsuikertitratie met behulp van het reagens van *Luff-Schoorl.* Chem. Weekbl. **39**, 585—586 (1942).

[5]) *J. H. van de Kamer* en *N. F. Jansen,* Broodanalyse. Chem. Weekbl. **42**, 184—186 (1946).

[6]) *J. H. van de Kamer* and *N. F. Jansen,* Determination of the water content of foods. II. Indirect determination of water in potato starch by means of phosphorus pentoxide as a reference method and in serial analysis. Anal. Chim. Acta **3**, 397—404 (1949).

[7]) *D.A.A. Mossel* and *Joha. Westerdijk,* The physiology of microbial spoilage in foods. Antonie van Leeuwenhoek **15**, 190—202 (1949).

[8]) *N. Schoorl,* Zucker-Titration. Z.U.L. **57**, 566—576 (1929).

[9]) *F. Th. van Voorst,* A reductometric and biochemical system for analysis of sugar mixtures. Anal. Chim. Acta **2**, 813—822 (1948).