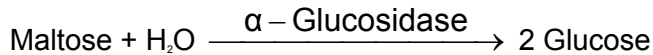


6.5.3 Maltose (und Maltotriose)

Maltose ist Hauptbestandteil der Bierwürze bzw. des Würzeextraktes.

Prinzip/Chemismus

Maltose wird durch das Enzym α -Glucosidase (Maltase) bei pH = 6,6 in 2 Moleküle Glucose gespalten:



Glucose wird dann wie beschrieben bestimmt.

Das Enzym α -Glucosidase ist gruppenspezifisch, d.h. die Spezifität ist auf die Art der glucosidischen Bindung gerichtet.

Es werden nur α -1,4-Bindungen, also neben Maltose auch Saccharose und Maltotriose, nicht jedoch Maltotetraose, unter den gegebenen Bedingungen gespalten. Bei der Maltoseberechnung muss deshalb der Saccharosegehalt berücksichtigt werden (Der Maltose-Ansatz erfasst die aus Maltose und Saccharose gebildete Glucose und die freie Glucose, der Saccharose-Ansatz erfasst die aus Saccharose gebildete Glucose und die freie Glucose).

Geräte

Siehe Band II, 3. Auflage, S. 245

Reagenzien¹

Siehe Band II, 3. Auflage, S. 245

zusätzlich

Citronensäure · H₂O

Trinatriumcitrat · 2 H₂O

Natronlauge, 2 M

β -Fructosidase²

Natriumacetat · 3 H₂O

Essigsäure, 0,1 M

α -Glucosidase, (Maltase)²

Herstellung der Lösungen (für ca. 50 Bestimmungen)

Siehe Band II, 3. Auflage, S. 248

zusätzlich

- V. Citrat-Puffer (0,32 mol/l, pH = 4,6): 6,9 g Citronensäure · H₂O und 9,1 g Trinatriumcitrat · 2 H₂O in ca. 150 ml H₂O lösen, mit 2 M Natronlauge auf pH = 4,6 einstellen; mit H₂O auf 200 ml auffüllen. Der Puffer ist bei + 4 °C mindestens ein Jahr haltbar
- VI. β -Fructosidase (75 U/ml): 2,5 mg β -Fructosidase mit 10 ml Citrat-Puffer (V) lösen. Die Lösung ist bei + 4 °C mindestens eine Woche haltbar
- VII. Acetatpuffer (0,1 mol/l; pH = 6,6): 0,68 g Natriumacetat · 3 H₂O in 40 ml H₂O lösen, mit ca. 0,5 ml Essigsäure (0,1 mol/l) auf pH = 6,6 einstellen, mit H₂O auf 50 ml auffüllen. Die Lösung ist bei + 4 °C vier Wochen haltbar.
- VIII. α -Glucosidase (5 mg/ml): Suspension unverdünnt verwenden. Die Suspension ist bei + 4 °C ein Jahr haltbar.

¹ Die Bestimmung kann auch mit der Test-Combination Maltose/Saccharose/Glucose, Boehringer Mannheim GmbH, Best.-Nr. 1113950 durchgeführt werden

² Zu beziehen von Boehringer Mannheim GmbH bzw. E. Merck, Darmstadt

Ausführung

Probenvorbereitung

- trübe Lösungen filtrieren oder zentrifugieren
- Bier entkohlensäuern
- Probelösung soweit verdünnen, dass die Maltose- (einschließlich Saccharose- und Glucose-)menge in der Küvette zwischen 3 und 100 µg (Messung bei 365 nm) bzw. 3 und 50 µg (Messung bei 334, 340 nm), d.h. die Zuckerkonzentration zwischen 0,03 und 1,0 g/l bzw. 0,03 und 0,5 g/l liegt
- ist die Konzentration in der Probelösung geringer als 0,03 g/l, so kann auch das in die Küvette zu pipettierende Probevolumen erhöht werden (bis zu 0,7 ml)
- in diesem Fall das Volumen der hinzuzufügenden Wassermenge soweit erniedrigen, dass in den Küvetten für Probe und Leerwert das gleiche Testvolumen vorliegt
- geändertes Probevolumen in der Berechnungsformel entsprechend berücksichtigen

Bestimmungsansatz

Temperatur: 20-25 °C

Testvolumen: 3,02 ml

Messung gegen Luft (im Strahlengang keine Küvette) oder gegen H₂O

	Maltose Leerwert	Maltose Probe	Saccharose Leerwert	Saccharose Probe
- in Küvetten pipettieren				
Acetat-Puffer (VII)	0,20 ml	0,20 ml	-	-
Probe	-	0,10 ml	-	0,10 ml
α-Glucosidase (VIII)	0,02 ml	0,02 ml	-	-
β-Fruktosidase (VI)	-	-	0,20 ml	0,20 ml
- mischen, 20 min bei 20-25 °C stehenlassen				
- Zugabe von				
Puffer (I)	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml	1,00 ml
H ₂ O	1,58 ml	1,48 ml	1,60 ml	1,50 ml
NADP (II)	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml
ATP (III)	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml	0,10 ml
- mischen und nach ca. 3 min. Extinktionen der Lösungen messen (E ₁)				
- Reaktion starten durch Zugabe von				
HK/G6P-DH	0,02 ml	0,02 ml	0,02 ml	0,02 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 5- min-Abständen messen, bis eine konstante Extinktionszunahme pro 5 min erreicht ist.				

Bei konstanter Extinktionszunahme von E₂ wird die Extinktion auf die Zeit der Zugabe von Suspension IV extrapoliert.

Berechnung

Für Leerwerte und Proben Extinktionsdifferenzen (E₂ - E₁) bilden. Die Extinktionsdifferenzen der Leerwerte von den Extinktionsdifferenzen der Proben abziehen. Man erhält ΔE_{Malt} und ΔE_{Sacch}.

$$\text{Maltose (g/l)} = \frac{5,441}{\varepsilon} \cdot (\Delta E_{\text{Malt}} \cdot F_{\text{Malt}} - \Delta E_{\text{Sacch}} \cdot F_{\text{Sacch}}) \cdot 0,95$$

ε = Extinktionskoeffizient von NADPH bei

$$340 \text{ nm} = 6,30 [\text{l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$$

$$\text{Hg } 365 \text{ nm} = 3,50 [\text{l} \cdot \text{mmol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}]$$

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

F_{Malt} = Verdünnungsfaktor bei der Maltose-Bestimmung

F_{Sacch} = Verdünnungsfaktor bei der Saccharose-Bestimmung

Angabe der Ergebnisse
In g/l mit zwei Dezimalen

Normwerte

Würze (12 %) 50-70 g/l
Bier 2-5 g/l

Bemerkungen

Der Maltosegehalt stellt die Summe aus Maltose + Maltotriose dar (berechnet als Maltose).

Literatur

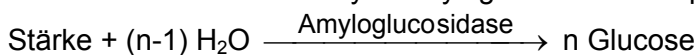
I. Gutmann in Methoden der enzymatischen Analyse (H.U. Bergmeyer, Hrsg.), Bd. 2, S. 1230, Verlag Chemie, Weinheim 1974
F. Drawert und W. Hagen, BWiss 23, 95 (1970)
F. Drawert und W. Hagen, BWiss 24, 157 (1971)
W. Postel, F. Drawert und W. Hagen, DLR 67, 107 (1971)
Methoden der enzymatischen Bioanalytik und Lebensmittelanalytik, Boehringer Mannheim 1989.

6.5.4 Stärke

Stärke, das Hauptkohlenhydrat im Malz, wird während des Maischprozesses teilweise zu vergärbaren Zuckern, teilweise zu (jodnormalen) Dextrinen hydrolysiert. Die Bestimmung der Stärke ist deshalb für die Brauereitechnologie von Interesse.

Prinzip/Chemismus

Stärke wird durch das Enzym Amyloglucosidase bei pH = 4,6 zu Glucose gespalten:



Die gebildete Glucose wird dann wie beschrieben bestimmt (siehe 6.5.1)

Geräte

Siehe Band II, 3. Aufl., S. 248

Reagenzien¹

Siehe Band II, 3. Aufl., S. 248

zusätzlich

Citronensäure · H₂O

Trinatriumcitrat · 2 H₂O

Dimethylsulfoxid

Salzsäure, 8 M

Natronlauge, 5 M

Amyloglucosidase als Suspension oder Lyophilisat²

¹ Die Bestimmung kann auch mit der Test-Combination Stärke, Boehringer Mannheim GmbH, Best.-Nr. 207748 durchgeführt werden

² Zu beziehen von Boehringer Mannheim GmbH bzw. E. Merck, Darmstadt