

Egyszerű módszer a glükóz- és szacharóztartalom mérésére rögzített glükózoxidázzal

P O L A C S E K N É – R Á C Z M.

Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1983. január 15.

Az utóbbi másfél évtizedben a kémiai és klinikai analitikai célokra kidolgozott módszerekben egyre inkább elterjedt az enzimek alkalmazása. A szelektivitás fokozása egyre nagyobb tisztaságú készítményeket igényel, ami természetesen megnövelte az enzimelőállítás és ennek következtében az analízisek költségeit. Hogy a gyakorlatban is elterjedhessenek ezek az érzékeny, speciális meghatározási módszerek, világszerte előtérbe került a többször felhasználható, oldhatatlan enzimműködésű készítmények alkalmazása. Az oldhatatlan, ún. rögzített enzimeket ugyanis a reakció végén könnyen el lehet a rendszerből távolítani és megfelelő kimosás után az enzím mint biokatalizátor, újabb felhasználásra kész.

Az egyik legelsőként rögzített enzim a glükózoxidáz, amelyet sorozatvizsgálatokban vércukor-meghatározásra alkalmaztak. A rögzített enzimeket és ezen belül a rögzített glükózoxidázt is, enzimelektrodként (3, 5, 8, 11, 12, 16, 17), ill. oszloptöltetként alkalmazzák (1, 3, 4, 7, 10, 15).

Ha a rögzített enzimeket automatikus enzimanalizátorban működtetik, egy enzimműködtetett több ezer meghatározás is elvégezhető. Így az egy analízisre eső költségtényező lényegesen csökken és sorozatvizsgálatok esetén jelentős munkaerő-megtakarítás is elérhető. Az enzimreakciót az analizátorban is vagy elektrokémiai úton, vagy leggyakrabban színreakció alapján detektálják.

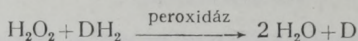
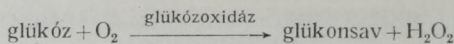
A szelektív enzim módszer bevezetését az élelmiszeriparban már 1972-ben szorgalmazták (14), 1976-ban pedig már az enzim módszer automatizálhatóságának lehetőségeivel foglalkoztak (6). A magunk részéről olyan módszer kidolgozását tűztük ki célul, amellyel költséges berendezések nélkül, viszonylag egyszerűen és bárhol könnyen megvalósíthatóan alkalmazhatunk rögzített enzimműködésű készítményeket az élelmiszeranalízisben.

Elsőként a glükóztartalom meghatározásához dolgoztunk ki módszert rögzített glükózoxidázzal, mivel a legtöbb élelmiszer, ill. élelmiszeripari nyersanyag tartalmaz glükózt, ill. glükóz alakjában meghatározható szénhidrátokat, és a mérésekhez szükséges megfelelő minőségű rögzített enzimműködésű készítmény kereskedelmi forgalomban kapható.

1. Anyagok és módszerek

1.1. A módszer elve

A glükóztartalom meghatározására Barton (2) módszerének módosításával az o-dianizidines színreakciót alkalmaztuk. A módszer lényege a következő:



ahol DH_2 a H-donort jelen esetben az o-dianizidint jelenti. Ez a vegyület redukált formában csaknem szintelen, oxidálva barnás színűvé válik, melynek színintenzitása spektrofotométeren 450 nm-en mérve arányos a minták glükóztartalmával.

Rögzített glükóoxidáz alkalmazása esetén nem biztos, hogy ugyanolyan kísérleti paraméterek szükségesek mint az oldott enzimes módszereknél. Ezért glükóz modell-oldatokon párhuzamosan vizsgáltuk az o-dianizidines színintenzitása és a reakcióidő, illetve a szubsztrátumkoncentráció összefüggését, rögzített és oldott glükóoxidáz alkalmazásával.

1.2. Meghatározási módszerek

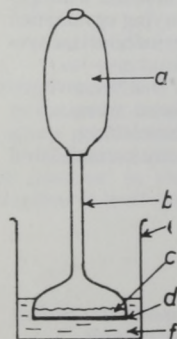
1.2.1. Glükózmeghatározás rögzített glükóoxidázzal

1.2.1.1. Oszlopreaktor alkalmazásával

A rögzített glükóoxidázt először hagyományos módon oszlopreaktorban működtettük, amelyet, tekintettel a kis térfogatra, 2 cm³-es inzulin-fecskendőből házilag készítettünk: 50–100 mg rögzített enzimen, melyet 0,1 mol dm⁻³ pH 5,5 acetát pufferrel hoztunk egyensúlyba (oszloptöltet térfogata 0,5–1,0 cm³), átengedtünk 0,5 cm³ perc⁻¹ sebességgel 1 cm³ 1–5 mg cm⁻³ koncentrációjú glükózt tartalmazó szubsztrátumot, melyet szintén ugyanazon pufferben oldottunk. Az eluátumból az enzim által átalakított glükóz mennyiségét o-dianizidines színreakcióval módosított Barton (2) módszer alapján határoztuk meg, kalibrációs görbéhez viszonyítva.

1.2.1.2. Merülőnucss-reaktor alkalmazásával

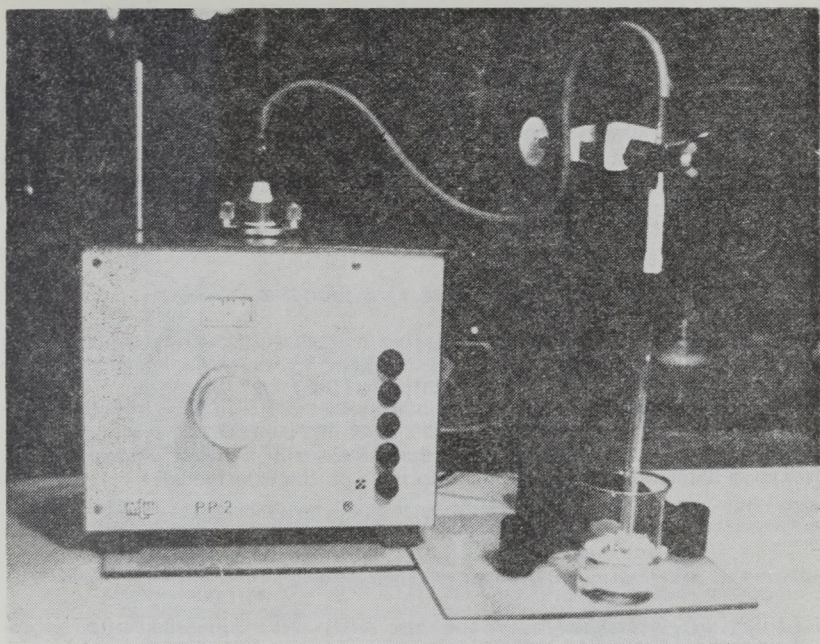
A rögzített enzimek alkalmazhatóságának új és egyszerű módszereként merülőnucss-reaktor állítottunk össze a következő módon: 3 cm átmérőjű G-3 zsugorított üvegszűrővel rendelkező merülőnucssba juttattunk 50–100 mg, 0,1 mol dm⁻³ pH 5,5 acetátpufferben duzzasztott rögzített GOD-t. A merülőnucss szárára savpipetta gumiballonját húztuk. A merülőnucssot 100 cm³-es főzőpohárba helyztük, amely 10 cm³ 0,1–0,5 mg cm⁻³ koncentrációjú glükóz-szubsztrátumot tartalmazott 0,1 mol dm⁻³ pH 5,5 acetátpufferes közegben (1. ábra).



1. ábra

A merülőnucss-reaktor felépítése;

a) savpipetta gumiballonja, b) merülőnucss, c) rögzített glükóoxidáz, d) zsugorított üvegszűrő, e) főzőpohár, f) szubsztrátum



2. ábra
Gépesített működtetésű merülőnuccs-reaktor

Az enzim és szubsztrátuma megfelelő érintkezését meghatározott időközönként (15–30 sec) kézi pumpálással biztosítottuk. A reakcióidő végén, – amely nem jelenti feltétlenül a teljes glükózmennyiség átalakítását, Enzygel R–300 alkalmazásakor 2 perc, Sigma gyártmányú enzim esetében 5 perces reakcióidőt találtunk megfelelőnek – az enzimet tartalmazó merülőnuccsot kivettük, ezáltal az enzimreakció leállt és a minta aliquot részéből (3 cm³) o-dianizidines színreakcióval módosított Barton (2) módszer alapján meghatároztuk az átalakított glükóz mennyiségét. Az ismeretlen minták glükóztartalmát 0,3 mg cm⁻³ koncentrációjú glükóz-standardhoz viszonyítottuk.

1.2.1.3. A merülőnuccs-reaktor gépesítése

A továbbiakban, hogy a meghatározás kivitelezése kényelmesebb és a mérések szórása is kisebb legyen, a kézi pumpálást gépesítettük, azáltal, hogy az enzimet tartalmazó merülőnuccsot NDK gyártmányú PP₂ (VEB MLW Labortechnik, NDK) automata pipetta szivattyújára kapcsoltuk. Ezt szemlélteti a 2. ábra.

Ezáltal az általunk összeállított egyszerű berendezés működése egyenletessé vált, mert az automata pipetta szivattyúja 5 sec-onként szívja be és nyomja ki a merülőnuccsból az átalakítandó szubsztrátumot.

1.2.1.4. Módosított Barton-módszer alkalmazása a glükóz átalakítás követésére

5 cm^3 reagensoldathoz (melynek összetétele $0,1 \text{ mg cm}^{-3}$ peroxidáz $0,2 \text{ mg cm}^{-3}$ o-dianizidin $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ pH 5,5 acetátpufferben) 3 ml olyan glükóztartalmú mintát adtunk, amely előzőleg áthaladt a rögzített glükóoxidáz tartalmú reaktoron, így glükóztartalma részben vagy teljesen glükonsavvá oxidálódott. Az átalakult glükóz mennyiségének meghatározására a reakcióelegyet $25 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 30 percig állni hagytuk, majd a keletkező barnás színt vakpróbával szemben 450 nm -en lemértük és intenzitását ismert glükóztartalmú standardéhoz viszonyítottuk.

1.2.2. A szacharóztartalom meghatározása a glükóztartalom mérésével

A szacharóztartalom meghatározásához a szacharózt invertázzal glükózzra és fruktózzra hidrolizáltuk a következőképpen: 10 cm^3 1% -os szacharóztartalmú oldathoz 9 cm^3 $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ pH 4,5 acetátpuffert és 1 cm^3 $0,5 \text{ mg cm}^{-3}$ invertázoldatot adtunk. A reakcióelegyet szobahőmérsékleten 1 órán keresztül állni hagytuk, ezalatt teljes mértékben végbement a szacharóz bontása. A keletkezett glükóz mennyiségéből – amelyet Barton (2) módszere szerint a glükóz standardhoz viszonyítva határoztunk meg – kiszámítottuk a szacharóztartalmat.

$$\text{Szacharóztartalom} = \text{glükóztartalom} \cdot 1,9$$

1.3. A felhasznált anyagok

1.3.1. Rögzített glükóoxidáz (a későbbiekben GOD): Két különböző készítményt alkalmaztunk, a Sigma St Louis, USA gyártmányú, poliakrilamid-gélre rögzítettet, amelynek aktivitása 20 E g^{-1} és a Boehringer Mannheim, NSZK cég Enzygel márkajelű R-300 készítményét, amely 50% -ban 300 E g^{-1} aktivitású rögzített glükóoxidáz és 50% szacharózt tartalmaz.

1.3.2. Oldható glükóoxidáz: Sigma St Louis, USA gyártmányú 1500 E g^{-1} aktivitású tisztítatlan preparátum.

1.3.3. Invertáz: Boehringer Mannheim gyártmányú $150\,000 \text{ E g}^{-1}$ aktivitású jól oldható tisztított enzimekészítmény, melyből $0,1 \text{ mol dm}^{-3}$ pH 4,5 acetátpufferben $0,5 \text{ mg cm}^{-3}$ -es oldatot készítettünk.

1.3.4. Peroxidáz: Reanal gyártmányú vízben jól oldódó technikai minőségű enzim.

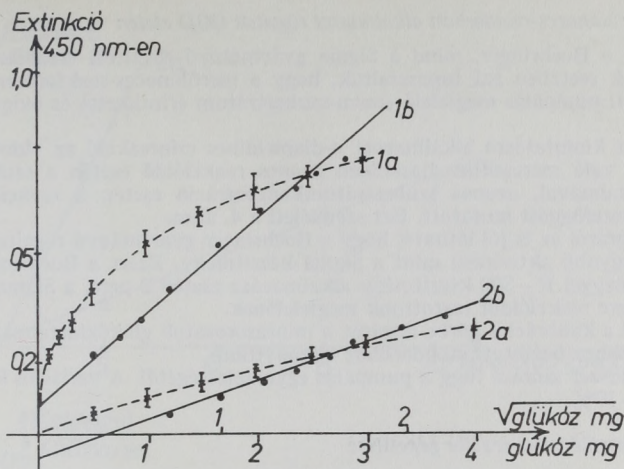
1.3.5. o-dianizidin: Reanal gyártmányú p.a. készítmény, amely metanolban oldódik.

1.3.6. Glükóz: Reanal gyártmányú alt. minőségű készítmény.

1.3.7. Szacharóz: Reanal gyártmányú alt. minőségű készítmény.

1.3.8. Mézek: Kereskedelmi forgalomban kapható és termelőtől beszerzett virág-, mézek, amelyekből $80 \text{ }^\circ\text{C}$ -os (vissz) homogenizálva, Carrez oldatokkal derítve 1% -os kivonatot készítettünk (13).

1.3.9. Melasz: A Szeszipari Kutató Intézettől Budapest, beszerzett 1980-es évjáratú melaszminták, melyekből $80 \text{ }^\circ\text{C}$ vízzel homogenizálva, Carrez oldatokkal derítve, 1% -os kivonatot készítettünk.



3. ábra

Rögzített glükózoxidáz működtetése oszlopreaktorban. Enzim: 50 mg. Hőmérséklet: 25 °C. Minta-térfogat: 1 cm³. Eluálás: 0,1 mol dm⁻³ pH 5,5 acetátpufferrel 0,5 cm³ perc⁻¹ átfolyási sebességgel.
* és.: átlag, I: szórás

- 1a. Enzygel R-300 működése a szubsztrátumkoncentráció függvényében
1b. Enzygel R-300 működése a szubsztrátumkoncentráció négyzetgyökének függvényében.
Regressziós egyenes: $y = 0,089 + 0,417 \times r^2 = 0,9869$, $n = 5$. Reakcióidő: 2 perc.
- 2a. Sigma GOD működése a szubsztrátumkoncentráció függvényében.
2b. Sigma GOD működése a szubsztrátumkoncentráció négyzetgyökének függvényében. Regressziós egyenes: $y = 0,071 + 0,179 \times r' = 0,9928$, $n = 6$. Reakció idő: 5 perc

1.4. A rögzített és az oldott glükózoxidázzal végzett meghatározások összehasonlítása

1.4.1. Oszlopreaktorban alkalmazott rögzített GOD esetén

Oldott glükózoxidáz enzimek készítmény alkalmazásakor azonos reakcióidő esetén, az o-dianizidinnel kapott szín intenzitása egyenesen arányos a szubsztrátum glükózkoncentrációjával, illetve azonos szubsztrátumkoncentráció esetén a reakcióidővel kaptunk lineáris összefüggést.

A rögzített glükózoxidáznak az általunk összeállított oszlopreaktorban való működtetése esetén azt tapasztaltuk, hogy az eluátum o-dianizidines színreakciója nem az oszlopra felvitt minta glükóztartalmával, hanem annak négyzetgyökével mutatott lineáris összefüggést. Ez arra utal, hogy az adott mérési körülmények között az enzimek reakció nem tud zavartalanul végbemenni. Ezt szemlélteti a 3. ábra

Oszlopreaktorban működtetve az enzimet, nem elegendő az ismeretlen mintasorozathoz egyetlen standardot beállítani, hanem több, ismert glükóztartalmú mintát átengedve, fel kell venni a kalibrációs görbét. Az ismeretlen minta glükóztartalmát vagy a kalibrációs görbéről lehet leolvasni, vagy 2–3 ismert glükóztartalmú minta színintenzitása alapján meg kell szerkeszteni a négyzetgyökös összefüggésnek megfelelő egyenest, és annak alapján kiszámítani az ismeretlen minták koncentrációját. Mindkét módszer eléggé munkaigényes és viszonylag nagy a hibalehetőség.

1.4.2. Merülönucss-reaktorban alkalmazott rögzített GOD esetén

Mind a Boehringer, mind a Sigma gyártmányú rögzített enzimmal végzett vizsgálatok esetében azt tapasztaltuk, hogy a merülönucss-reaktorban a 15–30 sec-onkénti pumpálás megfelelő enzim-szubsztrátum érintkezést és oxigén-ellátást biztosít.

Így a kimutatásra alkalmazott o-dianizidines színreakció az oldott glükóz-oxidázzal való mérésekhez hasonlóan azonos reakcióidő esetén a szubsztrátum glükóztartalmával, azonos szubsztrátumkoncentráció esetén a reakció idejével lineáris összefüggést mutatott. Ezt szemlélteti a 4. ábra.

Az ábráról az is jól látható, hogy a Boehringer gyártmányú rögzített glükóz-oxidáz nagyobb aktivitású mint a Sigma készítmény. Ezért a Boehringer gyártmányú Enzygel R–300 készítmény alkalmazása esetén 2 perc, a Sigma enzimnél pedig 5 perc reakcióidőt tartottunk megfelelőnek.

Mivel a kalibrációs görbe lineáris, a mintasorozatokat glükóztartalmát elegendő a sorozatokhoz beállított standardhoz viszonyítani.

A módszer szórása függ a pumpálás egyenletességétől. A variációs koefficiens értéke 3–10%.

1.4.3. A merülönucss-reaktor gépesítése

Azáltal, hogy a merülönucss-reaktor rákapcsoltuk a PP₂ automata pipetta-szivattyújára, annak működése teljesen egyenletessé vált, így az egyébként azonosan végzett meghatározások variációs koefficiense $\pm 3,0\%$ -ra csökkent. Természetesen a reakcióidők azonosságára gondosan ügyelni kell (5. ábra).

A pumpálás gépesítésére használt automata pipetta ilyen célra való alkalmazása semmiféle külön átalakítást nem igényel. Levéve a merülönucsról, bármikor használható mintaadagolóként vagy automata pipettaként.

2. Eredmények

2.1. Mézek glükóztartalmának meghatározása

A rögzített glükózoxidáz egyszerű módon való alkalmazására általunk kidolgozott merülönucss-reaktor eredményesen alkalmaztuk nem csak modell-oldatok glükóztartalmának vizsgálatára, hanem mézek glükóztartalmának mérésére is.

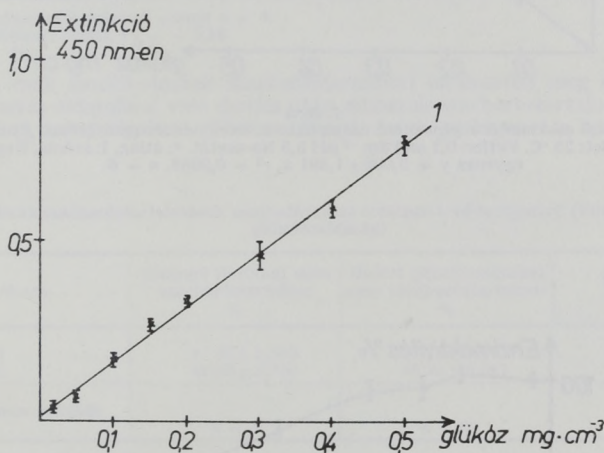
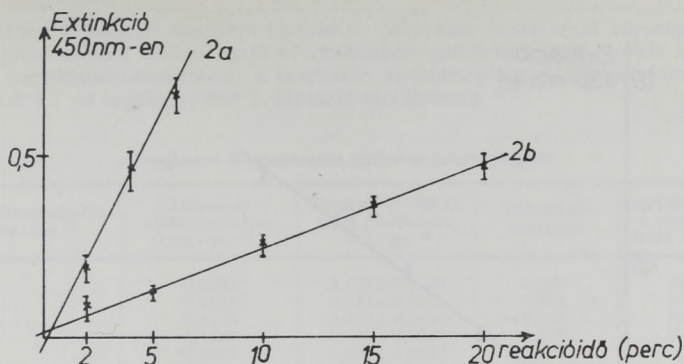
Az 1. táblázat két mézminta glükóztartalmának meghatározását mutatja oldott glükózoxidázzal és merülönucssba juttatott, Boehringer gyártmányú rögzített glükózoxidázzal mérve.

1. táblázat

Mézminták glükóztartalmának meghatározása oldatban levő és rögzített (Enzygel R–300) glükózoxidázzal

Minta	Glükóztartalom %		Számított t-érték
	Oldott GOD-dal	Enzygel R-300	
Termelői méz	26,07 ± 0,51	26,37 ± 0,10	0,1704
Bolti méz	31,23 ± 0,78	31,00 ± 0,70	0,4059
A párhuzamos meghatározások száma	n = 5	n = 9	

Táblázati t-érték $P_{5\%} = 2,18$



4. ábra

Rögzített glükózoxidáz működtetése merülőncs-reaktorban.

Enzim: 50 mg. Hőmérséklet: 25 °C. Puffer: 0,1 mol dm⁻³ pH 5,5 Na-acetát.*; átlag, 1: szórás.

1. Extinkció-változás a szubsztrátumkoncentráció függvényében Enzygel R-300-zal. Regressziós egyenes: $y = 0,0154 + 1,486x$, $r^2 = 0,9920$, $n = 5$.

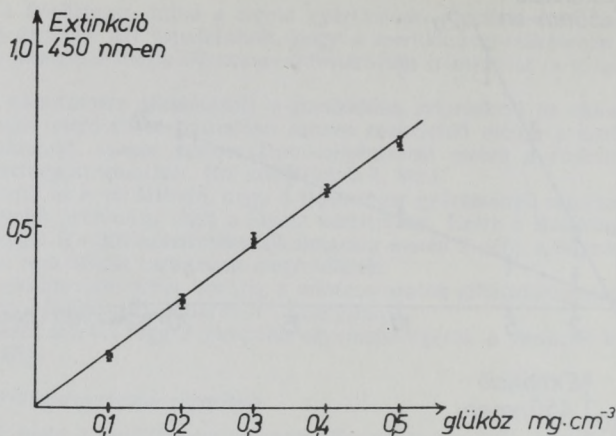
2a. Extinkcióváltozás a reakcióidő függvényében Enzygel R-300-zal töltve. Regressziós egyenes: $y = 0,0367 + 0,120x$, $r^2 = 0,9908$, $n = 3$;

2b. Extinkcióváltozás a reakcióidő függvényében Sigma GOD-dal töltve. Regressziós egyenes: $y = 0,0246 + 0,0224x$, $r^2 = 0,9896$, $n = 3$.

A táblázat adataiból látható, hogy a két módszerrel hibahatáron belül azonos eredményt kaptunk.

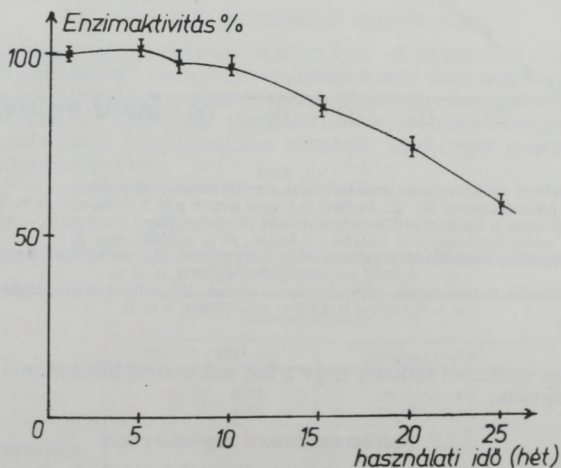
2.2. Szacharóztartalom meghatározása

A rögzített glükózoxidázt tartalmazó egyszerű berendezés nemcsak a glükóztartalom, hanem egyéb szénhidrátok glükóz alakjában való meghatározására is alkalmas. Például eredményesen alkalmaztuk szacharóztartalom mérésére. Ebben



5. ábra

Enzygel R-300 alkalmazása gépesített üzemeltetésű merülőnuccs-reaktorban. Enzim: 50 mg. Hőmérséklet: 25 °C. Puffer: 0,1 mol dm^{-3} pH 5,5 Na-acetát. *: átlag, l: szórás. Regressziós egyenes $y = 0,008 + 1,491 x$, $r^2 = 0,9988$, $n = 6$.



6. ábra

Enzygel R-300 stabilitása a használati idő függvényében. Enzim: 50 mg, hőmérséklet: 25 °C, puffer: 0,1 mol dm^{-3} pH 5,5 Na-acetát, reakcióidő: 2 perc, *: átlag, l = szórás, $n = 3$.

az esetben a minták szacharóztartalmát előzetesen invertázzal elbontottuk az 1.2.2. pontban leírt módon, majd a hidrolizátum glükóztartalmát mértük az ismeretett merülőnuccs-reaktorral. A szacharóz mennyiségét a glükóztartalomból számítottuk ki. Az eredményeket 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat

Szacharóz-meghatározás glükóztartalom alapján

Bemért szacharóz mg · cm ⁻³	Számított glükóztartalom mg · cm ⁻³	Enzygel R 300-al mért glükóztart. mg · cm ⁻³	Számított <i>t</i> -értékek	Mért átlagérték a számított érték %-ában
0,20	0,1050	0,103 ± 0,0098	0,204	98,10
0,40	0,2105	0,215 ± 0,0051	0,882	102,14
0,60	0,3158	0,323 ± 0,0199	0,013	102,14
0,80	0,4210	0,442 ± 0,0117	1,795	104,99
1,00	0,5263	0,503 ± 0,0145	1,607	95,57

Párhuzamos mérések száma $n = 4$
Táblázati t -érték $P_{5\%} = 3,18$

Nem csak modell-oldatok szacharóztartalmát határoztuk meg ilyen módon, hanem Carrez-oldatokkal való derítés után melaszok szacharóztartalmát is mértük mind oldott, mind rögzített glükózoxidázzal. Az eredményeket a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat

Melaszminták szacharóztartalmának meghatározása oldatban levő és rögzített (Enzygel R – 300) glükózoxidázzal

Minta	Enzygel R-300-al mért szacharóztartalom %	Oldott glükózoxidázzal mért szacharóztartalom %	Számított <i>t</i> -értékek
Melasz I	47,73 ± 1,580	47,23 ± 1,073	0,4678
Melasz II	46,36 ± 2,720	46,23 ± 0,317	0,0804
Párhuzamos mérések száma.....	$n = 4$	$n = 3$	

Táblázati t -érték $P_{5\%} = 2,57$

A táblázat adataiból látható, hogy a kétféle módszerrel ismét azonos eredményt kaptunk.

2.3. A rögzített glükózoxidáz stabilitása

Az ismertetett módon működtetett rögzített glükózoxidáz egy-egy töltetét 2-3 hónapig használtuk, miközben többszáz glükóz-, ill. szacharózmeghatározást végeztünk vele anélkül, hogy az enzim aktivitása csökkent volna. A mérések szüneteltetése idején 0,1 mol dm⁻³ pH 5,5 acetátpufferben, hűtőszekrényben tartottuk a merülőnuccsban levő enzimet. Fokozatos lassú aktivitáscsökkenést csak 2,5 hónapi használat után tapasztaltunk. Ezt szemlélteti a 6. ábra.

3. Következtetések

Egyszerű, könnyen kivitelezhető módszert dolgoztunk ki a glükóztartalom mérésére rögzített glükózoxidáz enzimmészítmény alkalmazásával. Az általunk

kidolgozott módszer nem igényel költséges műszerezettséget (pl. enzimanalizátort), mindössze egy spektrofotométer szükséges a színreakció mérésére.

A módszer egyszerűsége miatt alkalmas sorozatvizsgálatokra. Így kihasználható a rögzített enzimművelésnek az az előnye, hogy sokszor felhasználható. Ezáltal az egy vizsgálatra eső enzimművelés annál nagyobb mértékben csökken, minél több mérést végeznek az enzimműveléssel. Mivel az ismert módszer nem igényel drága műszerezettséget, szinte bárhol alkalmazható, így megkönnyíti az enzimes analízis elterjesztését az élelmiszeranalízisben.

Egy töltetre való (50 mg) Boehringer gyártmányú, Enzygel R-300 márkajelű rögzített glükózoxidáz katalógusárán számolva 10,65 DM. Oldott glükózoxidáz alkalmazása esetén, ha az o-dianizidines színreakcióhoz szükséges reagens összeállításához III. tisztasági fokú Boehringer gyártmányú glükózoxidázt használunk annak 1 g-ja 25,55 DM. 1 g enzimművelés kb. 400 meghatározásra elegendő reagens készíthető, tehát 100 mérésre való reagens glükózoxidáz költsége 6,38 DM. Ebből látható, hogy 200 meghatározáson túl a rögzített glükózoxidáz alkalmazása már gazdaságosabb, mint a hasonló tisztaságú oldható készítményé.

Közleményünkben a glükóz és szacharóztartalom mérésére kidolgozott módszerrel számoltunk be, amelyet nemcsak cukormodell-olatokban, hanem méz- és melaszminták glükóz, illetve szacharóztartalmának meghatározására is alkalmaztunk. Az általunk összeállított egyszerű berendezés azonban nemcsak glükóz-meghatározásra, illetve oligoszacharidoknak glükóz alapon való mérésére alkalmas, hanem más rögzített enzimműveléssel töltve egyéb anyagok vizsgálatára is.

I R O D A L O M

- (1) Asrow, G.; *Analyt. Biochem.*, 28, 130, 1969.
- (2) Barton, R. R.; *Analyt. Biochem.*, 14, 1958, 1966.
- (3) Bergmeyer, H. U. - Hagen, A.; *Z. Anal. Chem.*, 261, 333, 1972.
- (4) Bostick, D. T. - Hercules, D. M.; *Analyt. Chem.*, 47, (3), 447, 1975.
- (5) Campbell, J., Chawla, A. S. - Chang, T. M. S.; *Analyt. Biochem.*, 83, 330, 1977.
- (6) Fischman, M. M. - Schiff, H. F.; *Analyt. Chem.*, 48, (5), 322, 1976.
- (7) Fresenius, R. E., Wöhne, K. G. - Fleming, W.; *Z. Anal. Chem.*, 271, (3), 194, 1974.
- (8) Guilbault, G. G. - Lubrano, G. J.; *Analytica chim. Acta*, 64, 439, 1973.
- (9) Hicks, G. P. - Updike, S. J., 1966; in G. G. Guilbault: *Enzymatic Methods of Analysis*. Pergamon Press, Oxford, 246, 1970.
- (10) Höhne, W. E., Heimann, P., Fleming, Ch - Reichert, A.; *Z. med. Labortechn.*, 17, 79, 1976.
- (11) Mell, L. D. - Maloy, J. T.; *Analyt. Chem.*, 47, (2), 229, 1975.
- (12) Nagy, G., Storp, L. H. - Guilbault, G. G.; *Analytica chim. Acta*, 66, 443, 1973.
- (13) Polacsek-Rácz, M., Pauli, P. M., Horváth, Gy. - Vámos-Vigyázó, L.; *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 172, 115, 1981.
- (14) Rehkaemper; *Ann. Technol. agric.*, 21, (4), 629, 1972.
- (15) Tammes, A. R. - Nordschow, C. D.; *Am. J. clin. Path.*, 19, (5), 613, 1968.
- (16) Updike, S. J. - Hicks, G. P., 1967; in G. G. Guilbault: *Enzymatic Methods of Analysis*. Pergamon Press, Oxford, 246, 1970.
- (17) Weise, H., Scheller, F., Siegler, K. - Pfeiffer, D.; *Lebensmittel-Ind.*, 26, (5), 206, 1979.

УПРОЩЕННЫЙ МЕТОД ИЗМЕРЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ГЛЮКОЗЫ И САХАРОЗЫ ПУТЕМ ФИКСИРОВАННОЙ ГЛЮКОЗОКСИДАЗЫ

М. Полячек-Рау

Был разработан простой, быстрый метод измерения содержания глюкозы с применением фиксированного глюкозооксидазного энзимного материала. Метод не требует дорогого оборудования.

Успешно применялось оборудование для определения содержания сахарозы на основе содержания глюкозы, после предварительного гидролиза инвертазой.

В течение 1–3 месяцев было проведено многократное определение содержания глюкозы и сахарозы с помощью одного энзимного наполнителя.

Учтя нынешние цены, при проведении более 200 определений, применение фиксированного энзима является более экономным, чем применение подобной чистоты прививаемого материала.

EINFACHE METHODE ZUR BESTIMMUNG VON GLUKOSE- UND SACHAROSEGEHALT MITTELS FIXE GLUKOSOXYDASE

М. Polacsek-Rác

Eine einfache und leicht anwendbare Methode wurde zur Bestimmung von Glukosegehalt mit der Anwendung fixe Glukosoxydase ausgearbeitet, die kein aufwendiges Gerät bedarf. Die Methode ist für Serienuntersuchungen besonders nutzbar, es wurde und automatisierte Betriebsweise geschrieben.

Erfolgreich wurde das Gerät für die Bestimmung des Sacharosegehaltes angewandt, nach einer vorherigen enzymatischen Hydrolyse.

Mit einer einziger Enzymfüllung konnten während 2–3 Monaten mehrere hundert Bestimmungen des Glukose- und Sacharosegehaltes durchgeführt werden.

Die jetzigen Preise beachtend ist die Anwendung dieser Methode bei mehr als 200 Bestimmungen ökonomischer, als dasselbe mit löslichen Enzymen ähnlicher Reinheit.

SIMPLE METHOD FOR THE DETERMINATION OF GLUCOSE AND SUCROSE CONTENT WITH IMMOBILIZED GLUCOSE-OXIDASE

М. Polacsek-Rác

A simple, easily performable method was elaborated for the determination of glucose content using immobilized glucose-oxidase preparation. The method does not need expensive equipment and it is suitable for routine analysis. Manual operation and mechanized variation are described alike.

The equipment was successfully used for the determination of sucrose on the base of glucose content measured after hydrolysis.

Using the same enzyme load several hundred glucose and sucrose content determinations were carried out in 2–3 months. Taking into consideration the present prices, performing more than 200 determinations, the use of immobilized enzyme is more economical than that of a soluble preparation of similar purity.

UNE SIMPLE MÉTHODE D'ANALYSE DE LA TENEUR EN GLUCOSE ET SACCHAROSE AU MOYEN DE GLUCOSIDASE FIXÉE

M. Polacsek-Rácz

Une simple méthode a été élaborée pour la détermination de la teneur en glucose au moyen de glucosidase fixée. La méthode ne demande pas de l'appareillage coûteux et elle est propre aux analyses de série.

On fait connaître l'altération à main et automatisée de cette méthode.

L'appareillage a été employé utilement pour la détermination de saccharose à la base de la teneur en glucose après une hydrolyse préalable avec invertase.

Plusieurs centaines de déterminations de glucose et saccharose ont été réalisées pendant 2-3 mois avec une seule charge d'enzyme.

Hors de 200 analyses, l'emploi de l'enzyme fixée est plus économique que l'emploi des produits solubles de même pureté.