

Ethanol-Bestimmung von Fruchtsäften im Headspace mit einem amperometrischen Biosensor

Verfasser: Dipl.-Ing. Claudia Schlangen

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden die Enzyme Alkohol-Dehydrogenase und Alkohol-Oxidase verwendet, um einen amperometrischen Biosensor für die Analyse flüchtiger Alkohole, v.a. von Methanol und Ethanol, im Headspace von Fruchtsäften zu entwickeln. Durch diese Art der Analyse können sowohl Interferenzen nicht flüchtiger Inhaltstoffe als auch die Kontamination des Sensors durch Kontakt mit der wässrigen Probe vermieden werden. Die Konzentrationen beider Alkohole könnten durch eine Kombination zweier Sensoren, einmal basierend auf Alkohol-Dehydrogenase, welche sich durch seine Selektivität für Ethanol auszeichnet, einmal unter Verwendung von Alkohol-Oxidase, die primäre Alkohole oxidiert, getrennt ermittelt werden.

Unter Verwendung eines bereits vorhandenen Sensoraufbaus wurde versucht, einen Sensor auf der Basis von Alkohol-Dehydrogenase aus *S. cerevisiae* bzw. *E. caballus* zu entwickeln. Bei der Untersuchung zeigten sich stets eine Abnahme der Enzymaktivität sowie ein sehr langsames Einstellverhalten des Grundstroms, was auch durch die Variation verschiedener Parameter nicht verbessert werden konnte. Auch der Vergleich des Einstellverhaltens des Sensors unter Verwendung verschiedener Proteine und eine Untersuchung der Stabilität der eingesetzten Alkohol-Dehydrogenasen lieferte keine aufschlussreichen Ergebnisse für die Gründe dieser Probleme. Die hohe Selektivität des Enzyms auf Ethanol gegenüber Methanol konnte jedoch durch Selektivitätsmessungen bestätigt und eine Querempfindlichkeit auf Methanol ausgeschlossen werden.

Mit einem Biosensor basierend auf Alkohol-Oxidase wurden verschiedene Fruchtsäfte auf ihren Ethanolgehalt untersucht. Die Messungen zeichneten sich durch eine hohe Reproduzierbarkeit und Stabilität aus und wiesen einen linearen Messbereich von 0,1-15 mM auf. Die bekannte Querempfindlichkeit des Enzyms auf Methanol, welches auch in Fruchtsäften zu finden ist, musste bei den Ethanolmessungen ebenfalls berücksichtigt werden. Unter Verwendung einer berechneten relativen Selektivität für Methanol und den Analysenergebnissen eines als Referenz eingesetzten enzymatischen UV-Testkits, konnten aus den Sensorsignalen sowohl Ethanol- als auch Methanolkonzentrationen der Säfte berechnet werden. Als Vergleich diente eine HPLC-Analyse der Fruchtsäfte, mit der sowohl Ethanol als auch Methanol bestimmt werden konnte.

Eine Durchflussversion des Biosensors wurde an den Ausgang der HPLC angeschlossen. Der Sensor zeigte, möglicherweise aufgrund sich bildender Luftblasen, starke Schwankungen der Signalthöhe und eine deutliche Drift der Signale über den eingesetzten Zeitraum und ist somit in der gegenwärtigen Form für die Quantifizierung des Ethanolgehalts nicht empfehlenswert.

Kontakt

E-Mail: Funktionsmaterialien@Uni-Bayreuth.de
Telefon: +49 921 55 7400