

Einsatz von Dehydrogenasen in einem Fließ-Injektions-Analyse-System mit elektrochemischer Detektion

Ramona Fraas, M.Sc.

Zusammenfassung

Mit einem am Lehrstuhl für Funktionsmaterialien bestehenden Fließ-Injektions-Analyse-System (FIA-System) wurde ein Messaufbau entwickelt, mit dem der Glukosegehalt von Flüssigkeiten, wie beispielsweise Fruchtsäften oder Fermentationsbrühen detektiert werden kann. Grundlage ist die enzymatische Umsetzung von Glukose zu Glukonolacton durch Glukose-Dehydrogenase. Das bei dieser Reaktion gebildete reduzierte Koenzym Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) kann elektrochemisch detektiert werden. Um das angelegte Potential möglichst gering zu halten, werden Mediatoren eingesetzt, welche den Elektronenübergang erleichtern.

Im Rahmen der Arbeit wurden verschiedene Elektrodentypen für die elektrochemische NADH-Detektion untersucht: Stabelektroden auf Basis von Glaskohlenstoffstäben oder Kohlenstoffpasten sowie kommerziell erhältliche Kohlenstoff-Siebdruckelektroden auf einem Aluminiumoxid-Träger – jeweils mit Mediatoren modifiziert. Als Mediatoren wurden Phenothiazin und Meldolablaw eingesetzt. Phenothiazin wurde als Lösung in Acetonitril auf die Elektroden aufgetragen. Mit Meldolablaw beschichtete Siebdruckelektroden konnten kommerziell erworben werden und Glaskohlenstoff-Stabelektroden wurden mittels Elektropolymerisation mit Meldolablaw beschichtet. Außerdem wurde ein schwerlösliches Meldolablaw-Reinecke Salz mit Kohlenstoffpulver und Binder zu Stabelektroden verarbeitet.

Das Enzym Glukose-Dehydrogenase wurde zum einen über Quervernetzung direkt auf den Elektroden immobilisiert, zum anderen wurde das Enzym kovalent an poröses Glas gebunden (*Aminopropyl-controlled porous glass*, Aminopropyl-CPG). Mit dem enzymmodifizierten Glas wurde eine Enzymsäule befüllt, die im Fließsystem stromaufwärts relativ zur Elektrode für die NADH-Detektion platziert wurde.

Nach Charakterisierung der verschiedenen Detektionssysteme und Optimierung des FIA-Systems wurden verschiedene Fruchtsäfte auf ihren Glucose-Gehalt hin untersucht und die Ergebnisse mit einem kommerziell erhältlichen, enzymatischen Glucose-Test-Kit verglichen. Dabei konnte der Glukosegehalt von drei Fruchtsäften zuverlässig nachgewiesen werden. Bei der Analyse von Orangensaft wurden Abweichungen festgestellt.

Die Zusammenstellung der möglichen Fehlerquellen und deren Vermeidung bzw. Behebung soll in Zukunft die Bedienung des FIA-System für diese und weitere Anwendungen mit anderen Dehydrogenasen erleichtern.

Kontakt

Dr. Martin Hämmerle

Telefon: +49 921 55 7402

E-Mail: Martin.Haemmerle@Uni-Bayreuth.de