

### **Biosensorisches on line - Monitoring der Qualität von Zuckerrübenrohsaft**

Birgit Schulz<sup>1</sup>, Alexander Schwock<sup>2</sup>, Peter U. Abel<sup>1,3</sup>, Ulrich Guth<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Forschungszentrum Sensorik Greifswald e.V., Brandteichstraße 19, 17489 Greifswald

<sup>2</sup>BCS Bio- und ChemoSensoren GmbH, Brandteichstraße 19, 17489 Greifswald

<sup>3</sup>Institut für Pathophysiologie, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald, Greifswalder Straße 11 a,  
17495 Karlsburg

[schulz@biosensoren.de](mailto:schulz@biosensoren.de)

Registriernummer der Online-Anmeldung: 159b

#### **Poster**

---

#### **1. Einleitung**

Zuckerrüben, die im Herbst gerodet wurden, werden bis zu ihrer Verarbeitung, die sich bis zum Ende eines Jahres erstrecken kann, unter Freiluftbedingungen gelagert. Während der Lagerungsperiode kommt es zu einem anaeroben Abbau von Saccharose in der Zuckerrübe zu Glucose und Fructose, wodurch die Ausbeute an Weißzucker sinkt. Zur Optimierung des Rodungs- und Lagerungszeitregimes sind die Zuckerproduzenten an einer kontinuierlichen Bestimmung von Glucose im Rohsaft interessiert. Darüberhinaus ermöglicht die kontinuierliche Erfassung der Lactatkonzentration im Rohsaft, die Aufschluß über den mikrobiellen Zustand der verarbeiteten Rüben gibt, den Zuckerproduzenten ein rechtzeitiges Eingreifen in den Produktionsprozeß im Sinne einer Desinfektion.

Mit Hilfe enzymatisch-amprometrischer Biosensoren kann man sowohl Glucose als auch Lactat im Zuckerrübenrohsaft on line bestimmen, wenn die Sensorpräparation an die besonderen Bedingungen dieses Mediums angepaßt wird.

#### **2. Material und Methoden**

Elektroden vom Clark-Typ in zylindersymmetrischer (SME/S3/01, ELBAU GmbH, Berlin) und Chip-Bauform (CPSG-02, BCS Bio- und ChemoSensoren GmbH) wurden verwendet. Glucoseoxidase (GOD) wurde entweder durch kovalente Bindung an mit Bromcyan aktivierte Sepharosekugeln oder durch Einbettung in eine Polyvinylacetatmembran immobilisiert. Der Mediator Ferrocen wurde im Gemisch mit dem Enzym immobilisiert. Zur Einstellung des Meßbereiches wurde zum einen ein Membransystem aus

perforiertem Polyethylen und regenerierter Cellulose und zum anderen eine Polyacrylatmembran aufgebracht.

Als Referenzverfahren zur Bestimmung der Glucosekonzentration im Rohsaft wurde der Boehringer Test-Kit (E0139106) eingesetzt.

### **3. *Beeinflussung von Biosensoren durch Zuckerrübenrohsaft***

Der Zuckerrübenrohsaft wird durch Heißwasserextraktion der Rübenschnitzel im Gegenstromprinzip gewonnen. Neben der Saccharose als Hauptbestandteil sind darin u. a. auch andere Kohlenhydrate, Ionen, Proteine und mitgerissene feste Bestandteile enthalten. Komponenten dieses komplexen Untersuchungsmediums sind - wie das bei der enzymatischen Glucose- oder Lactatumsetzung der Analytkonzentration proportional gebildete Wasserstoffperoxid - elektroaktiv und erzeugen einen analytenspezifischen Strom. Der Sauerstoffpartialdruck des strömenden Rohsaftes liegt unter 1 kPa. Die Anwesenheit elektrochemisch interferierender Substanzen und der geringe und vor allem instabile Sauerstoffpartialdruck im Zuckerrübenrohsaft erfordern den Einsatz eines Mediators, der bei einer Polarisierungsspannung  $< 700$  mV wirksam ist. Da der Rohsaft am Meßort in Abhängigkeit von der Eingangstemperatur der Zuckerrüben eine Temperatur zwischen 20 und 35 °C aufweist, ist für eine Langzeitanwendung von Biosensoren zum on line - Monitoring eine Kompensation temperaturbedingter Signalbeeinflussung notwendig.

### **4. *Ergebnisse***

Um die grundsätzliche Eignung eines Glucose-Biosensors für eine Messung in sauerstoffarmen Medien zu prüfen, wurden die Sensoren bei 300 mV ohne und mit Stickstoffbegasung in Standardlösungen kalibriert. Geeignete Sensoren wurden anschließend in frischem Zuckerrübenrohsaft kalibriert. Durch Optimierung wurde sowohl für die zylindersymmetrische als auch für die planare Elektrodenform eine Sensorpräparation gefunden, bei dem die Kalibrierung im Rohsaft hinsichtlich der Sensitivität der in stickstoffbegaster Standardlösung entspricht (Abb. 1 und 2). Der lineare Meßbereich ist bei Messung im Rohsaft im Vergleich zur Standardlösung jedoch verringert, und die Antwortzeit des Sensors im Rohsaft ist deutlich verlängert, was auf Veränderungen der Membranpermeabilität durch Rohsaftbestandteile hinweist. Nach wiederholtem Einsatz im Rohsaft ist die Abnahme von Sensitivität und Linearität der Sensoren zu beobachten. Da diese Effekte allerdings auch in stickstoffbegasten Standardlösungen auftreten, ist zunächst von einem Funktionsverlust des Mediators auszugehen. Sensoren, die bei Erhöhung der Glucosekonzentration um 2,5 mM entsprechend der Kalibriergeraden linear antworteten, wurden für eine kontinuierliche Messung im Rohsaftfluß eingesetzt. Über den Meßzeitraum von einer Stunde wird auf diese Weise der tatsächliche Glucosewert im Rohsaft ermittelt (Abb. 3). Bei längeren Meßzeiten kommt es vermutlich wegen ungleichmäßiger Anströmung des Rohsaftes am Sensor zu Störungen des Diffusionsgleichgewichtes und Veränderungen der Meßtemperatur (hier nicht kompensiert), was zu teilweise erheblichen Schwankungen des Sensorsignals führt. Im Mittel wird der

tatsächliche Wert innerhalb von 8 bis 10 Stunden aber reproduzierbar wiedergegeben. Über einen weiter verlängerten Zeitraum ist eine Abnahme des Meßstromes zu beobachten, die wiederum auf Veränderungen der Membranpermeabilität zurückzuführen ist (Abb. 4).

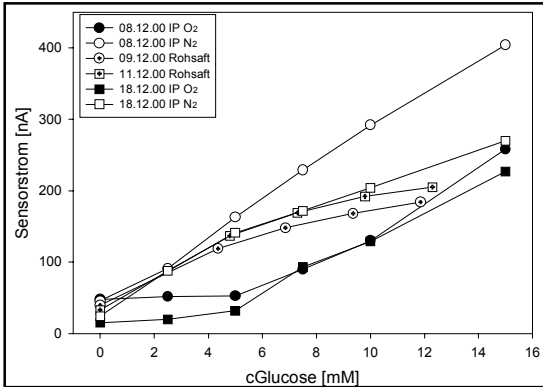


Abb.1: Kalibriercharakteristik eines Glucose-Chip-Sensors.

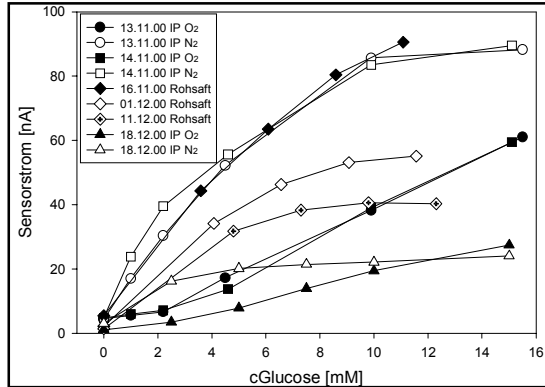


Abb.2: Kalibriercharakteristik eines zylinder-symmetrischen Glucosesensors.

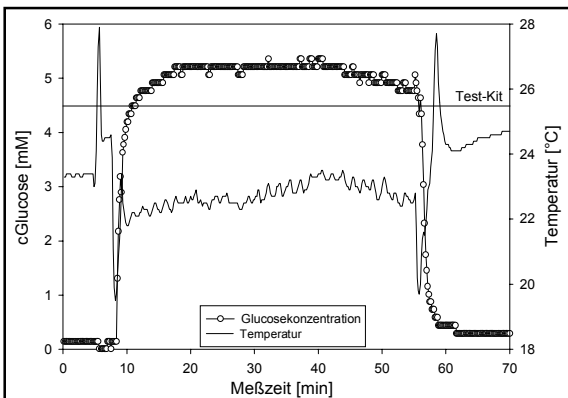


Abb.3: On line Glucosemessung im Rohsaftfluß über 1 Stunde.

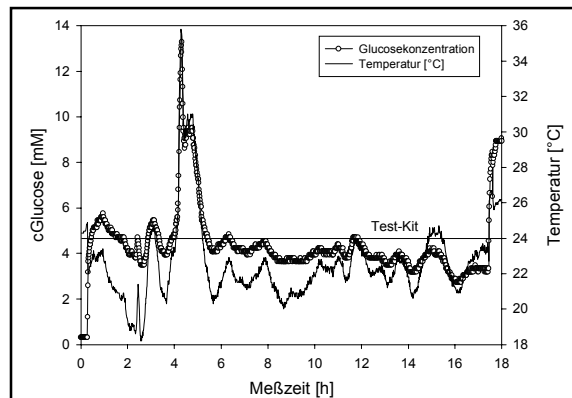


Abb.4: On line Glucosemessung im Rohsaftfluß über 18 Stunden.

## 5. Zusammenfassung

Die Ergebnisse belegen die grundsätzliche Eignung von Biosensoren für die Bestimmung von Glucose im strömenden Zuckerrübenrohsaft zur Prozeß- und Qualitätskontrolle. Voraussetzungen für den Einsatz sind jedoch eine Anpassung der Sensorpräparation an die besonderen Bedingungen im Rohsaft und die strömungstechnische Optimierung der Meßanordnung in der Produktionsanlage. Während für die Enzymimmobilisierung bekannte Lösungen als geeignete Verfahren übernommen und weiterentwickelt wurden, sind die Fixierung des Mediators und die Gestaltung der diffusionslimitierenden Membran weiter anwendungsspezifisch zu optimieren. Analoge Schwerpunkte bestehen bei der Entwicklung von Lactatsensoren für diesen Anwendungsfall.

