

DIN 10486

ICS 67.100.10

**Milch und Milcherzeugnisse –
Bestimmung des Lactosegehaltes in lactosereduzierter Milch und
lactosereduzierten Milcherzeugnissen in Gegenwart von Glucose –
Enzymatisches Verfahren**

Milk and milk products –

Determination of lactose content of lactose-reduced milk and milk products in the presence of
glucose –

Enzymatic method

Lait et produits laitiers –

Détermination de la teneur en lactose du lait et des produits laitiers réduits en lactose en
présence de glucose –

Méthode enzymatique

Gesamtumfang 13 Seiten

DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL)

Inhalt

	Seite
Vorwort	3
1 Anwendungsbereich.....	4
2 Normative Verweisungen	4
3 Begriffe	4
4 Kurzbeschreibung	4
5 Chemikalien.....	5
6 Geräte und Hilfsmittel	7
7 Probenahme	7
8 Durchführung.....	7
8.1 Probenvorbereitung.....	7
8.2 Herstellung der Probelösung	7
8.3 Klären der Probelösung (Protein-Entfernung)	7
8.4 Oxidation der frei vorliegenden Glucose	8
8.5 Enzymatische Bestimmung der Lactose	8
9 Auswertung.....	9
9.1 Allgemeines	9
9.2 Berechnung.....	10
9.3 Präzision	10
10 Prüfbericht.....	12
Literaturhinweise.....	13

Vorwort

Diese Norm wurde vom Arbeitsausschuss NA 057-05-13 AA „Milch und Milchprodukte — Probenahme- und Untersuchungsverfahren“ im DIN-Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) erarbeitet.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. DIN ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

1 Anwendungsbereich

Diese Norm legt ein enzymatisches Verfahren zur Bestimmung von Lactose bei Milch und Milchprodukten fest, deren Lactosegehalte durch enzymatische Spaltung der Lactose reduziert wurden und die somit über einen relativ hohen Gehalt freier Glucose und Galactose verfügen. Bei Proben, die von Natur aus lactosefrei sind (z. B. Hartkäse), kann die Lactosebestimmung über die Methode DIN 10344 erfolgen.

Mit dem in dieser Norm festgelegten Verfahren werden neben Lactose auch andere Substanzen erfasst, die durch β -Galactosidase spaltbar sind, zum Beispiel Galactooligosaccharide (GOS). Der mit diesem Verfahren bestimmte Wert stellt daher den in der Probe enthaltenen maximalen Lactosegehalt dar, der sich auch aus Lactose und den miterfassten Substanzen zusammensetzen kann. Im Rahmen der Validierung wurde für das vorliegende Verfahren eine mittlere Bestimmungsgrenze von 0,03 g/100 g ermittelt.

Bei Überschreitung von Zielwerten ist eine Absicherung mit anderen Methoden, z. B. chromatographischen Verfahren, notwendig.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente, die in diesem Dokument teilweise oder als Ganzes zitiert werden, sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

DIN EN ISO 707, *Milch und Milcherzeugnisse — Leitfaden zur Probenahme*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gilt der folgende Begriff.

3.1

Lactosegehalt

der nach dieser Norm bestimmte Gehalt an Lactose in g/100 g Probe, angegeben als „Lactose wasserfrei“ oder als „ α -Lactose-Monohydrat“

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Gehalt an α -Lactose-Monohydrat wird durch Multiplikation des Gehaltes an wasserfreier Lactose mit dem Faktor 1,0526 erhalten.

4 Kurzbeschreibung

In dem von Fett und Eiweiß befreiten, wässrigen Extrakt der Probe wird die vorhandene frei vorliegende Glucose durch das Enzym Glucose-Oxidase (GOD) und Wasserstoffperoxid zu Gluconsäure oxidiert. Anschließend wird Lactose mit Hilfe des Enzyms β -Galactosidase in die Monosaccharide Glucose und Galactose gespalten.

Glucose wird in Gegenwart des Enzyms Hexokinase (HK) durch Adenosin-5'-triphosphat (ATP) zu Glucose-6-phosphat (G-6-P) phosphoryliert, welches anschließend in Gegenwart des Enzyms Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G6P-DH) durch Nicotinamid-adenin-dinucleotidphosphat (NADP) zu Gluconat-6-phosphat oxidiert wird.

Die Menge der bei dieser Reaktion gebildeten reduzierten Form des Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphats (NADPH) wird durch Messung des Extinktionsanstiegs der Probelösung bei 340 nm bestimmt und ist der gesamten im Testansatz vorhandenen Glucose (aus Lactose stammende Glucose und restliche freie nicht oxidierte Glucose) proportional.