

## DIN 10750-2



ICS 67.180.10

**Untersuchung von Honig –  
Bestimmung der Diastase-Aktivität –  
Teil 2: Nitrophenol-basiertes Verfahren**

Analysis of honey –  
Determination of diastase activity –  
Part 2: Nitrophenol-based process

Analyse du miel –  
Détermination de l'activité de diastase –  
Partie 2: Methodes à base de nitrophénol

Gesamtumfang 11 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 Reagenzien . . . . .                                                | 5     |
| 6 Geräte . . . . .                                                    | 5     |
| 7 Probenahme . . . . .                                                | 6     |
| 8 Durchführung . . . . .                                              | 6     |
| 8.1 Probenvorbereitung . . . . .                                      | 6     |
| 8.1.1 Flüssiger oder kandierter Honig ohne Verunreinigungen . . . . . | 6     |
| 8.1.2 Flüssiger oder kandierter Honig mit Verunreinigungen . . . . .  | 6     |
| 8.1.3 Wabenhonig . . . . .                                            | 7     |
| 8.2 Herstellung der Probenlösung . . . . .                            | 7     |
| 8.3 Kalibrierung . . . . .                                            | 7     |
| 8.3.1 Manuelle Kalibrierung . . . . .                                 | 7     |
| 8.3.2 Kalibrierung mittels Random-Access-Analyse . . . . .            | 7     |
| 8.4 Bestimmung . . . . .                                              | 8     |
| 8.4.1 Manuelle Bestimmung . . . . .                                   | 8     |
| 8.4.2 Bestimmung mittels Random Access Analyser . . . . .             | 8     |
| 8.5 Blindwertkontrolle . . . . .                                      | 8     |
| 9 Auswertung . . . . .                                                | 9     |
| 9.1 Berechnung der Diastase-Aktivität in U/l . . . . .                | 9     |
| 9.2 Präzision des Verfahrens . . . . .                                | 9     |
| 10 Untersuchungsbericht . . . . .                                     | 9     |
| Anhang A (informativ) Präzision des Verfahrens . . . . .              | 10    |
| A.1 Ergebnisse des Ringversuchs . . . . .                             | 10    |
| A.1.1 Allgemeines . . . . .                                           | 10    |
| A.1.2 Wiederholgrenze $r$ und Vergleichgrenze $R$ . . . . .           | 10    |
| Literaturhinweise . . . . .                                           | 11    |

## Tabellen

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabelle 1 — Pipettierschema (beispielhaft) für die Kalibrierung . . . . . | 7  |
| Tabelle 2 — Manuelles Pipettierschema . . . . .                           | 8  |
| Tabelle A.1 — Im Ringversuch bestimmte Wiederholgrenzen . . . . .         | 10 |

## Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Arbeitsausschuss NA 057-05-08 AA „Bienenprodukte“ 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.

DIN 10750 besteht unter dem allgemeinen Titel *Untersuchung von Honig — Bestimmung der Diastase-Aktivität* aus den folgenden Teilen:

- Teil 1: *Verfahren nach Schade*
- Teil 2: *Nitrophenol-basiertes Verfahren*

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN ([www.din.de](http://www.din.de)) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

## 1 Anwendungsbereich

Dieses Dokument legt ein Verfahren zur nitrophenol-basierten Bestimmung der Diastase-Aktivität ( $\alpha$ -Amylase-Aktivität) in Honig fest.

## 2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. 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 10742, *Untersuchung von Honig — Leitfaden zur Probenahme*

## 3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

DIN und DKE stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

- DIN-TERMinologieportal: verfügbar unter <https://www.din.de/go/din-term>
- DKE-IEV: verfügbar unter <http://www.dke.de/DKE-IEV>

### 3.1

#### Diastase-Aktivität

nach dem in dieser Norm beschriebenen Verfahren ermittelte Enzymaktivität U/l ( $\mu\text{mol}/\text{min}$ ), in der von einer definierten Menge Honig eine Umsetzung der Substratlösung (E-pNP-G7) in Abhängigkeit von der Zeit (dE/min) gemessen wird

Anmerkung 1 zum Begriff: Die Diastase-Zahl wird in Schade-Einheiten angegeben [1]. Die Schade-Einheit gibt die Menge an Enzym in 1 g Honig an, welche 0,01 g Stärke in einer Stunde bei 40 °C bis zu einem vorgegebenen Endpunkt abzubauen vermag. Die Umrechnung der Enzymaktivitäten U/l in die Diastase-Zahl nach Schade wird durch einen empirisch ermittelten Faktor  $F_{\text{DZ}}$  zwischen 0,21 und 0,24 durchgeführt. Dieser Faktor kann im Labor ermittelt werden (z. B. Schade-Methode [1], [4], Laborvergleichsuntersuchungsdaten).

## 4 Kurzbeschreibung

Für die Bestimmung der Aktivität von  $\alpha$ -Amylase (Diastase) in Honig gibt es verschiedene Messprinzipien. Das vorliegende Verfahren benutzt das Reagenz Ethyliden-pNP-G7 (E-pNP-G7) [siehe Gleichung (1)] als Substrat für die  $\alpha$ -Amylase. Der Ethylidenrest hindert Exo-Enzyme (wie  $\beta$ - und  $\gamma$ -Amylase) daran, das Substrat aufzuspalten, so dass bei Abwesenheit von  $\alpha$ -Amylase kein Substratumsatz beobachtet wird. Wenn das Substrat durch  $\alpha$ -Amylase gespalten wird, können die kleineren Fragmente durch  $\alpha$ -Glucosidase weiter hydrolysiert werden, was zur Freisetzung des Chromophors p-Nitrophenol führt [siehe Gleichung (2)]. Die Absorption des p-Nitrophenols wird über einen definierten Zeitraum (mindestens 4 Messpunkte) bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen.



Dabei ist

E Ethyliden(rest);