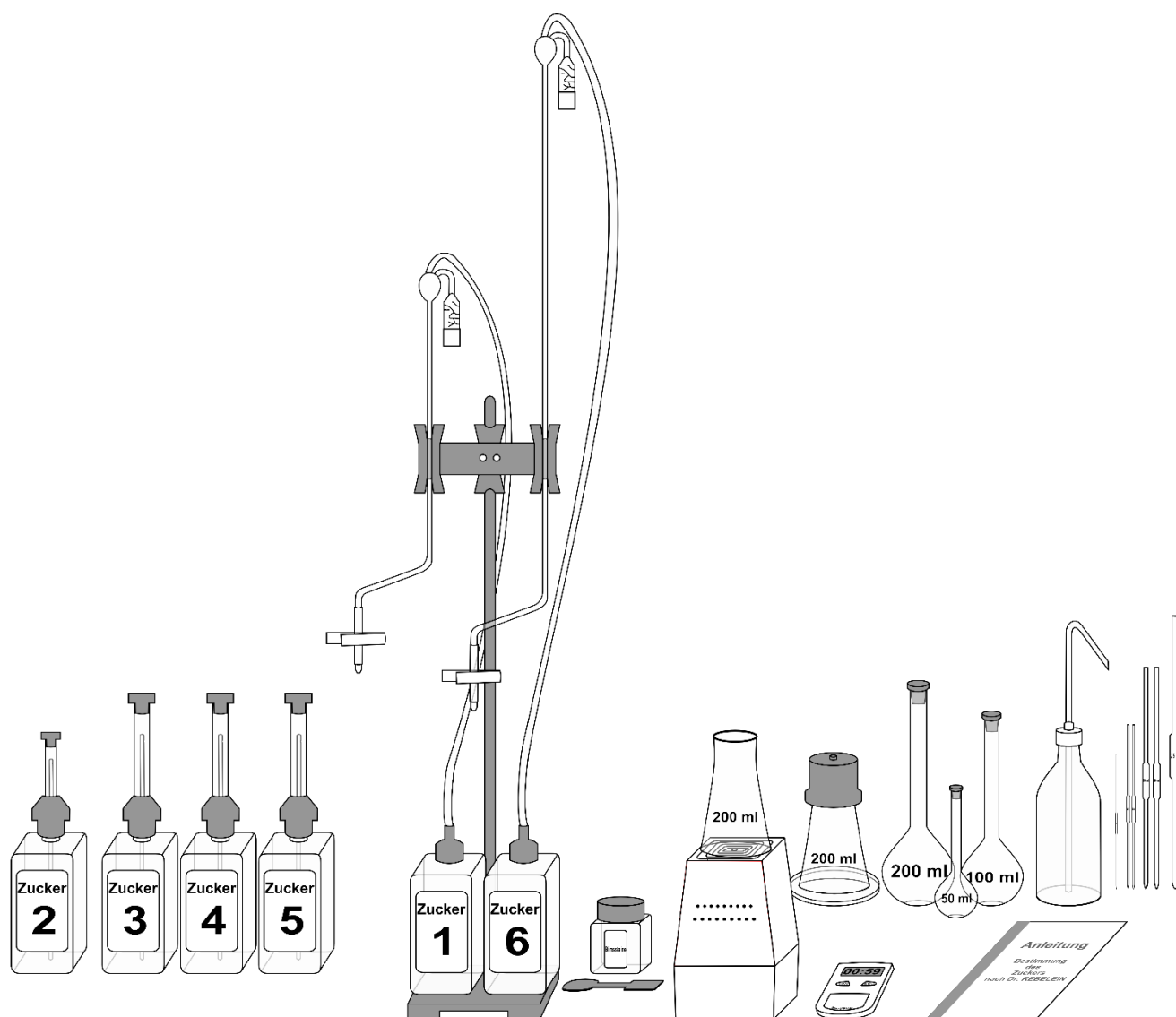


Getränkeanalytik

Bestimmung des Zuckers nach Dr. REBELEIN

Stand 05/2018

Seite 1/4



Prinzip der Methode:

Die Bestimmung reduzierender Zucker nach Dr. Rebelein ist eine seit mehr als vier Jahrzehnten gebräuchliche, bewährte Methode zur Messung der in Fruchtsäften und Weinen mengenmäßig wichtigen vergärbaren Zucker Glucose, Fructose und - nach Inversion - auch Saccharose.

Grundlage der Methode ist die quantitative Oxidation reduzierender Zucker mit Hilfe einer alkalischen Kupfersulfatlösung. Hierbei wird das zweiwertige Kupfer zu Kupferoxid reduziert, das nicht verbrauchte Kupfer mit Kaliumiodid umgesetzt und das dabei gebildete Jod anschließend mit Natriumthiosulfat rücktitriert.

Die genaue Befolgung des Analysengangs, insbesondere der Erhitzungsbedingungen, gewährleistet den quantitativen Ablauf der chemischen Reaktionen und sichert maßgeblich die Genauigkeit des gefundenen Ergebnisses.

Einschränkungen / Störungen der Methode:

Die ebenfalls reduzierend wirkenden, jedoch nicht vergärbaren Zucker Rhamnose und Arabinose (in Traubensaft und -wein ca. 0,5 -1,5g/L) und Pflanzenfarbstoffe (Flavonoide) besonders in dunklen Rot- und Fruchtweinen können etwas höheren Befunde ergeben, als sie mit den amtlichen Referenzmethoden (enzymatisch-fotometrisch oder HPLC) in derselben Probe gefunden werden.

Aus diesem Grund werden Rhamnose und Arabinose in Traubenwein durch eine rechnerische Verminderung des ermittelten Rebelein-Ergebnisses um 1g/L berücksichtigt. Flavonoide, die vor allem in tiefdunklen Rotweinen bis zu 4g Zucker pro Liter vortäuschen können, lassen sich mit folgender einfachen Probenvorbereitung entfernen:

Probenvorbereitung (nur in tiefdunklen Rot- und Fruchtweinen nötig bzw. empfehlenswert):

- Im 100mL-Erlenmeyerkolben ca. 5 g PVPP (Polyvinylpolypyrrolidon) in etwa 50 mL Wein einrühren,
- 5 Minuten abwarten, währenddessen gelegentlich aufrühren,
- Ansatz über Faltenfilter MN 615 ¼ oder SS 595 ½ in sauberen 100 mL-Erlenmeyerkolben filtrieren,
- Durchführung der Zuckerbestimmung im blanken, in der Farbe geschwächten Filtrat.

Zuckerbestimmung ohne oder mit Inversion?

Der natürliche Invertzucker (Glucose, Fructose) saccharosefreier Proben wird nach Methode 1 bestimmt. Enthält die Probe Saccharose, muss diese zuvor invertiert, d.h. zu Glucose und Fructose gespalten werden. Die Invertierung der Saccharose und anschließende Ermittlung des gesamten Invertzuckers erfolgt nach Methode 2.

Erfassungsgrenzen der Methode / Verdünnung der Probe:

Getränke mit Zuckergehalten bis maximal 28 g/L werden unverdünnt analysiert (Probenmenge 2,0 mL). Das Ergebnis wird direkt an der Bürette „Zucker nach Dr. Rebelein“ abgelesen, ausgedrückt als Invertzucker in g/L.

Getränke mit höheren Zuckergehalten als 28 g/L werden wie folgt vor der Untersuchung verdünnt und anschließend 2,0 mL dieser Verdünnung dem Analysengang unterzogen. Die Multiplikation des abgelesenen Büettenwertes mit dem Verdünnungsfaktor ergibt rechnerisch den Zuckergehalt der unverdünnten Getränkeprobe.

Herstellung von Verdünnungen:

Getränke mit 28 - 56 g/L Zucker (**Verdünnungsfaktor 2**):

25,0 mL Getränk in 50 mL Messkolben pipettieren, mit dest. Wasser auf Ringmarke auffüllen und mischen.

Getränke mit 56 - 112 g/L Zucker (**Verdünnungsfaktor 4**):

25,0 mL Getränk in 100 mL Messkolben pipettieren, mit dest. Wasser auf Ringmarke auffüllen und mischen.

Getränke mit 112 - 224 g/L Zucker (**Verdünnungsfaktor 8**):

25,0 mL Getränk in 200 mL Messkolben pipettieren, mit dest. Wasser auf Ringmarke auffüllen und mischen.

Getränke mit 224 - 560 g/L Zucker (**Verdünnungsfaktor 20**):

10,0 mL Getränk in 200 mL Messkolben pipettieren, mit dest. Wasser auf Ringmarke auffüllen und mischen.

Alternativ-Variante für den Untersuchungsbereich 0 - 56 g/L Zucker:

Setzt man statt 2,0 mL nur 1,0 mL unverdünntes Getränk für die Untersuchung ein, entspricht dies einer wie durch eine Getränkeverdünnung mit Wasser im Verhältnis 1:1. Der Büettenwert muss mit dem Faktor 2 multipliziert werden. Bei dieser Variante ergibt sich ein verdünnungsfreier Untersuchungsbereich von 0 - 56 g/L Zucker. Diese Arbeitsweise ist interessant, wenn die Zuckerwerte häufig im Grenzbereich um 28 g/L Zucker liegen.

Richtige Pipettiertechnik:

Die exakte Abmessung der Probe ist für die Genauigkeit des Untersuchungsergebnisses ausschlaggebend:

- Pipette stets mit der abzumessenden Flüssigkeit vorspülen;
- Flüssigkeit ca. 2 cm hoch über die Ringmarke aufziehen, Pipette mit Zellstofftuch abtrocknen;
- Probe auf Marke einstellen, indem man die Pipettenspitze zum Ablassen überschüssiger Flüssigkeit an die Wandung eines speziell dafür bereitgestellten Becherglases anlegt und anschließend abstreift;
- Probe verlustlos in den vorbereiteten Erlenmeyerkolben überführen (Pipettenspitze zum Auslaufenlassen an die Kolbenwand anlegen, nach ca. 15 Sekunden Pipette ausblasen und Pipettenspitze abstreifen).

Unser Informationsblatt „**Hinweise zu den Arbeitsmitteln für die Analysenmethoden nach Dr. Rebelein**“ gibt Hinweise für den richtigen Umgang mit Büetten und Dosierzylindern sowie die Entsorgung von Analysenabfällen.

Methode 1: Bestimmung von natürlichem Invertzucker (ohne Inversion):

- INFRAROT-Laborheizgerät ca. 5 Minuten vorheizen.
- Büretten überprüfen. Der Meniskus der Lösungen muss auf der obersten Marke der Büretten aufsitzen. Tropfen von Bürettenhähnen entfernen. Dosierzylinder auffüllen.
- In 200 mL-Erlenmeyer-Kolben 10,0 mL „Zucker 1“ langsam einfließen lassen, Bürettenhahn an der Innenwand des Kolbens abstreifen.
- 5 mL „Zucker 2“ (Dosierzylinder) und 5-8 Bimssteine hinzufügen.
- **2,0 mL der zu untersuchenden Flüssigkeit** zupipettieren (Ausblas-Vollpipette). Hinweise zu „Richtige Pipettiertechnik“ auf Seite 2 beachten!
- Erlenmeyer-Kolben auf angeheiztes INFRAROT-Laborheizgerät setzen, gleichzeitig Laborwecker auf **2½ Minuten** einstellen.
- ☒ Nach Ablauf dieser Zeit Gummikappe über Erlenmeyer-Kolben stülpen, Kolben in Petrischale stellen und mit Leitungswasser abkühlen.
- In die auf Raumtemperatur abgekühlte Flüssigkeit (nach 2-3 Min.) unter leichtem Umschwenken des Kolbens in dieser Reihenfolge je 10 mL „Zucker 3“, „Zucker 4“ und „Zucker 5“ kippen (Dosierzylinder).
- Die nun tiefblaue Flüssigkeit mit „Zucker 6“ auf den Farbton „rahmgelb“ titrieren. „Hinweise zur Titration“ auf dieser Seite unten beachten!
- Zuckergehalt der Untersuchungsflüssigkeit an der Titrationsbürette ablesen. Abgelesenen Wert erforderlichenfalls mit dem Verdünnungsfaktor multiplizieren (s. Berechnungsbeispiel unten!).
- Büretten für die nächste Bestimmung auf die Startmarke auffüllen. Büretten nicht total- oder teilentleert stehen lassen!

Berechnungsbeispiel für eine Verdünnung:

Es wurden 25 mL Getränkeprobe im Messkolben mit Wasser auf 100 mL verdünnt (Verdünnungsfaktor 4). Die Zuckerbestimmung in dieser Verdünnung ergibt eine Bürettenablesung von 24,8g/L. Die Getränkeprobe enthält damit $24,8 \times 4 = 99,2 \text{ g/L Zucker}$.

Hinweise zur Titration:

Die Flüssigkeit ist vor der Titration tiefblau. Man verlangsamt die anfangs zügige Titration, sobald die Flüssigkeit heller wird. Endpunkt ist eine Mischfarbe weiß-grau-beige. Diese Farbe wird in der Fachsprache als „rahmgelb“ bezeichnet. Sie ist schwierig zu charakterisieren, aber gut zu erkennen. Nähert sich die Titration dem beschriebenen Mischton, merkt man sich den Bürettenstand, lässt in die Mitte der Flüssigkeitsoberfläche einen weiteren Tropfen fallen und beobachtet, ob die Einfallzone heller wird. Ist dies nicht der Fall, gilt der vorherige Bürettenwert. Tritt dagegen eine weitere Aufhellung ein, mischt man durch Umschwenken und wiederholt den Vorgang, bis der Farbton konstant bleibt.

Methode 2: Bestimmung von natürlichem Invertzucker und Saccharose (mit Inversion):

- In einen 200 mL-Erlenmeyer-Kolben einige Bimssteine, 10,0 mL „Zucker 1“, 2 mL Inversionslösung (Dosierzylinder) und 2,0 mL Untersuchungsprobe geben.
- Kolben auf angeheiztes INFRAROT-Laborheizgerät setzen und Laborwecker auf **2 Minuten** einstellen.
- Nach Ablauf der 2 Minuten 5 mL „Zucker 2“ (Dosierzylinder) in die Mitte der siedenden Flüssigkeit einlaufen lassen, ohne dabei den Kolben vom INFRAROT-Laborheizgerät zu nehmen.
- Laborwecker auf **2½ Minuten** einstellen und Flüssigkeit bis zum Ablauf dieser Zeit weitersieden lassen.
- Nach Methode 1 bei ☒ fortfahren.
- Abgelesener Bürettenwert = Zuckergehalt nach Inversion in g/L; **ggf. Verdünnung berücksichtigen!**

Berechnung der Saccharose:

„Zucker mit Inversion“ – „Zucker ohne Inversion“ $\times 0,95$

Beispiel:

Zucker mit Inversion	26,0 g/L
Zucker ohne Inversion	- 22,0 g/L
Saccharose	4,0 g/L $\times 0,95 = 3,8 \text{ g/L}$

Berechnung des Gesamtzuckers:

„Zucker ohne Inversion“ + Saccharose

Beispiel:

Zucker ohne Inversion	22,0 g/L
Saccharose	+ 3,8 g/L
Gesamtzucker	25,8 g/L

Ermittlung des zuckerfreien Extrakts:

Gesamtextrakt - Saccharose - „Zucker ohne Inversion“ + 1g/L (für Arabinose und Rhamnose)

Beispiel:

Gesamtextrakt	45,0 g/L
Saccharose	- 3,8 g/L
Zucker ohne Inversion	- 22,0 g/L
	19,2 g/L
	+ 1,0 g/L
Zuckerfreier Extrakt	20,2 g/L

Blindtitration zur Kontrolle der Lösungen:

Es wird nach Methode 1 verfahren, jedoch als Untersuchungsflüssigkeit 2,0 mL dest. Wasser verwendet. Die Titration muss innerhalb einer Toleranz von nicht mehr als $\pm 0,2 \text{ g/L}$ eine Ablesung von 0 g/L ergeben.

Überprüfung der Heizleistung des Heizgeräts:

Die Heizleistung eines Laborheizgeräts reicht für die Analysen nach Dr. Rebelein aus, wenn es vorgeheizt 13mL Wasser im offenen 200 mL-Erlenmeyerkolben innerhalb von vier Minuten auf maximal 3 mL eindampft.

Zuckerbestimmung nach Rebelein - Stückliste -

Notwendiges Zubehör*:

- ☐ 1 Infrarot-Labor-Heizgerät (dazu Anleitung)
- ☐ 1 Laborwecker -digital-

Destillier- und Titriergerät:

- ☐ 1 Stativ mit Stativ-Stab 600 x 12 mm für Büretten
- ☐ 1 Bürettenhalter 10 – 10 / 12
- ☐ 1 Automatikus-Bürette 10 ml TTS für „Zucker 1“
- ☐ 1 Automatikus-Bürette „Zucker nach Dr. Rebelein“ TTS für „Zucker 6“
- ☐ 1 Ausblas-Vollpipette 1 ml
- ☐ 2 Ausblas-Vollpipetten 2 ml
- ☐ 2 Ausblas-Vollpipetten 10 ml
- ☐ 1 Ausblas-Vollpipette 25 ml
- ☐ 1 Dosierzylinder 5 ml für „Zucker 2“
- ☐ 3 Dosierzylinder 10 ml für „Zucker 3“, „Zucker 4“ und „Zucker 5“
- ☐ 2 Erlenmeyer-Kolben enghalsig 200 ml (Reaktionskolben)
- ☐ 1 Gummikappe Größe 4a als Haube für Reaktionskolben
- ☐ 1 Petrischale ca. 95 mm Ø
als Einstellbehälter für Reaktionsgefäß bei der Kühlung mit Leitungswasser
- ☐ 1 Poly-Spritzflasche mit Spritzverschluss 500 ml für destilliertes Wasser
- ☐ 1 x Bimssteine zur Analyse
- ☐ 1 Löffel für Bimssteine
- ☐ 1 Meßkolben 50 ml mit Poly-Stopfen für Verdünnungen
- ☐ 1 Meßkolben 100 ml mit Poly-Stopfen für Verdünnungen
- ☐ 1 Meßkolben 200 ml mit Poly-Stopfen für Verdünnungen
- ☐ 1 Mappe Informationsmaterial

Reagenzien-Erstausrüstung*:

Bedarf pro Analyse:

- | | |
|--|--------------------------|
| ☐ Zucker 1 500 ml in Poly-Flasche | (10,0 ml / Bürette) |
| ☐ Zucker 2 500 ml in Poly-Flasche | (5 ml / Dosierzylinder) |
| ☐ Zucker 3 500 ml in Poly-Flasche | (10 ml / Dosierzylinder) |
| ☐ Zucker 4 500 ml in Poly-Flasche | (10 ml / Dosierzylinder) |
| ☐ Zucker 5 500 ml in Poly-Flasche | (10 ml / Dosierzylinder) |
| ☐ Zucker 6 500 ml in Poly-Flasche | (variabel / Bürette) |

nur auf ausdrückliche Bestellung für Zuckerbestimmung mit Inversion*:

- | | |
|---|-------------------------|
| ☐ 500 ml Inversionslösung (2 n Schwefelsäure)
in Poly-Flasche | (2 ml / Dosierzylinder) |
| ☐ Dosierzylinder 2 ml | |

nur auf ausdrückliche Bestellung für die Probenvorbereitung mit PVPP (für extrem dunkle Rotweine)*:

- ☐ 45 g PVPP (Schraubverschlussdose)
- ☐ Kunststofftrichter Ø 75 mm
- ☐ Faltenfilter MN 615 ¼, Ø 185 mm
- ☐ 2 Erlenmeyerkolben weithalsig 100 ml

Empfehlenswertes Zubehör*:

- ☐ Abtropfgestell für Gläser, Kolben, Zylinder
- ☐ Pipettenstativ aus Polypropylen

*** Diese Artikel sind nicht im Gesamtpreis für das Destillier- und Titriergerät enthalten!**