

Ueber Identifizierung der in der Schweiz zugelassenen Gelier- und Verdickungsmittel durch Elektrophorese und Anfärbung auf Celluloseacetatfolien

Autor(en): **Padmoyo, M. / Miserez, A.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **58 (1967)**

Heft 1

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-982933>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ueber Identifizierung der in der Schweiz zugelassenen Gelier- und Verdickungsmittel durch Elektrophorese und Anfärbung auf Celluloseacetatfolien

M. Padmoyo und A. Miserez

Eidg. Gesundheitsamt, Bern

1. Einleitung

Bei der Lebensmittelherstellung zeigen die Gelier- und Verdickungsmittel außer ihrer gelierenden und verdickenden Wirkung auch noch eine andere wichtige Eigenschaft, ihr Emulgier- und Dispergiervermögen, woraus sich ihre immer umfangreichere Verwendung als Stabilisatoren in der Lebensmittelindustrie leicht erklärt.

Im Artikel 443^{bis} der Eidg. Lebensmittelverordnung sind die Gelier- und Verdickungsmittel definiert als Stoffe, die imstande sind, bereits in schwacher Konzentration wasserreiche Gelee, bzw. wässrige, hochviskose Lösungen zu bilden. (Betreffend ihre Zulässigkeit siehe auch diese Mitteilungen **56**, 110 [1965]). Obwohl oft als Stabilisatoren verwendet, sind sie aber in der Lebensmittelverordnung als solche nicht bezeichnet. In den im Rahmen der Europäischen Wirtschaftsgemeinschaft diskutierten lebensmittelrechtlichen Planungen hinsichtlich der Zulassung von Emulgatoren, Stabilisatoren, Gelier- und Verdickungsmitteln (*Weiß*, 1966), sind Stabilisatoren definiert als Stoffe, die für die Aufrechterhaltung einer einheitlichen Dispersion zweier oder mehrerer nicht mischbarer Stoffe geeignet sind. Zu ihnen gehören die meisten Gelier- und Verdickungsmittel.

Es hat in der Lebensmittelkontrolle an Anstrengungen nicht gefehlt, brauchbare Untersuchungsmethoden zur Analyse der Gelier- und Verdickungsmittel zu entwickeln. Die Schwierigkeit der Identifizierung liegt darin, daß es sich um hochmolekulare Stoffe handelt, für welche außer bei der Stärke und den Alginaten keine leicht durchführbaren spezifischen Reaktionen bekannt sind. Außerdem kommen sie in Lebensmitteln meist nur in sehr geringen Mengen zur Anwendung, da sie schon bei Konzentrationen unter 0,5 % oft die gewünschte verdickende oder stabilisierende Wirkung zu entfalten vermögen. Die viskosimetrische Untersuchungsmethode (*Letzig*, 1934), die auf einer beträchtlichen Viskositätserhöhung ihrer wässrigen Lösungen durch Verdickungsmittel beruht, gestattet einen generellen Hinweis auf die eventuelle Anwesenheit eines verdickend wirkenden Stoffes, nicht aber auf dessen Identifizierung. Für den qualitativen Nachweis der Gelier- und Verdickungsmittel sind heutzutage verschiedene Methoden bekannt, die u. a. auf mikroskopischen Prüfungen (*Czaja*, 1962; *Beythien* und *Diemair*, 1963), auf Flockungsreaktionen (*Letzig*, 1955) oder auf papierchromatographischen Untersuchungen ihrer Hydrolysate (*Becker*, 1956; *Sulser*, 1957;

Stoll und Prat, 1962), d. h. der entsprechenden Monosaccharide beruhen. Wenn die zu untersuchenden Gelier- und Verdickungsmittel in reiner Form vorliegen, so lassen sie sich mikroskopisch oder mit Hilfe der Flockungsreaktionen meistens auf eine einfache Weise prüfen. Ist der Nachweis derselben hingegen in einem Lebensmittel durchzuführen, in dem störende Substanzen, wie z. B. Eiweißstoffe vorhanden sind, dann verspricht die papierchromatographische Untersuchung der Hydrolysate mehr Erfolg als die Flockungsreaktionen. Allerdings gibt es Fälle, wo einige Gelier- und Verdickungsmittel nach der Hydrolyse ähnliche Zuckerkomponenten ergeben oder wo bereits im Lebensmittel vorhandene Zuckerarten wie Glukose und Galaktose (z. B. aus Laktose in Milchprodukten) papierchromatographisch mitbestimmt werden, so daß ein eindeutiger Schluß aus dem Chromatogramm nicht möglich ist. Für einige Verdickungsmittel wurden Identitäts- und Reinheitsprüfungsmethoden publiziert (*Organisation mondiale de la santé*, 1964 und 1966). Ueber ihre zahlreichen Anwendungen außerhalb des Gebietes der Lebensmittelverarbeitung siehe auch *Glicksman* (1964).

Für den Gelatinenachweis in Milchprodukten hat sich das Verfahren der Papierelektrophorese gut bewährt (Siehe diese Zeitschrift, Mitt. **56**, 110 [1965]). Als Trägermaterial sind jedoch die Celluloseacetatfolien dem Papier vorzuziehen, weil eine gute Auftrennung in kurzer Zeit erzielt werden kann und dank geringer Adsorption der Farbstoffe die Folien sich rasch auswaschen lassen (siehe Abschnitt 2.4.1.). Die Methode der Elektrophorese haben wir weiter zur Analyse der Gelier- und Verdickungsmittel, die zur Gruppe der Polysaccharide gehören, herangezogen.

Bei der hier beschriebenen Untersuchungsmethode besteht neben der Identifizierung der Gelier- und Verdickungsmittel auch die Möglichkeit einer quantitativen Auswertung, welche durch einen Vergleich der Farbstärke mit Lösungen bekannter Konzentrationen des betreffenden Gelier- und Verdickungsmittels erfolgen kann. Aus den Ergebnissen unserer Versuche hat es sich herausgestellt, daß dieses schnell und leicht durchführbare Verfahren der Elektrophorese mit anschließender Anfärbung für die Analytik der Gelier- und Verdickungsmittel gute Dienste zu leisten verspricht.

Aus den Lebensmitteln lassen sich die Polysaccharide nach Entfernung der Fett- und Eiweißbestandteile durch Alkoholfällung trennen und anreichern (AOAC, 1965) und anschließend mit der weiter beschriebenen Methode bestimmen.

2. Die Elektrophorese der Gelier- und Verdickungsmittel

2.1. Celluloseacetatfolie als Trägermaterial

Für die elektrophoretische Untersuchung der Gelier- und Verdickungsmittel der Polysaccharidegruppe ist das Filterpapier kein geeignetes Trägermaterial. Beim Sichtbarmachen der zu untersuchenden Gelier- und Verdickungsmittel nach der

elektrophoretischen Auftrennung (siehe Abschnitt 3.3.), reagiert bei der angewandten Anfärbungsmethode das Filterpapier als Polysaccharid auch positiv. Anstatt Filterpapier haben wir Glasfaserstreifen sowie Celluloseacetatfolien ausprobiert. Die letzteren erwiesen sich als besonders gut geeignet. Auch für die Untersuchung von Gelatine, bei der sich das Verfahren der Papierelektrophorese gut bewährt hat, sind die Celluloseacetatfolien als Trägermaterial dem Filterpapier noch vorzuziehen, weil dank geringer Adsorption der Farbstoffe die Folien sich rasch auswaschen lassen (siehe Abbildungen 1a und 1b).

Ein wichtiger Vorteil der Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien besteht darin, daß die Versuchsdauer kürzer ist als bei der Papierelektrophorese, etwa 15 bis 30 Minuten bei der Mikroelektrophorese (Abschnitt 2.4.2.), wodurch nachteilige Nebenerscheinungen während des Trennvorgangs, wie Verdunstung der Pufferflüssigkeit und die dadurch bedingte unerwünschte Konzentrationssteigerung des Puffers nur eine unbedeutende Rolle spielen.

2.2. *Verwendete Pufferlösungen*

Als leitende Elektrolytlösung können die bei der Papierelektrophorese üblichen Pufferlösungen auch für die Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien verwendet werden. Im allgemeinen pflegt man die Pufferlösungen für das letztere Verfahren verdünnter anzuwenden. Für die Elektrophorese der Gelier- und Verdickungsmittel der Polysaccharidgruppe haben wir Boratpuffer von $\text{pH} = 10$ gewählt, für die Untersuchung von Gelatine ist jedoch der Natriumkarbonat-Natriumhydrogenkarbonat-Puffer besser geeignet (siehe Abschnitt 2.4.3.). Die Konzentration der Pufferlösungen wird so eingestellt, daß bei einer Klemmspannung von 200 Volt ein elektrischer Strom von weniger als 1 mA pro cm Folienbreite fließt. Bei Anwendung beider Pufferlösungen zeigen alle untersuchten Gelier- und Verdickungsmittel eine anodische Wanderung, so daß sie am Anfang des Versuches auf der Kathodenseite aufgetragen werden müssen.

2.3. *Sichtbarmachen der Gelier- und Verdickungsmittel*

Nach der elektrophoretischen Wanderung wird die Celluloseacetatfolie aus der Elektrophoresekammer genommen und die Lage der zu untersuchenden Gelier- und Verdickungsmittel durch Färbung derselben sichtbar gemacht. Da die verschiedenen Gelier- und Verdickungsmittel chemisch unterschiedliche Eigenschaften zeigen, brauchen wir vier verschiedene Anfärbungsmethoden (siehe Abschnitt 3), welche die elektrophoretisch gleich schnell wandernden Gelier- und Verdickungsmittel durch Färbung zu differenzieren gestatten.

2.4. *Resultate*

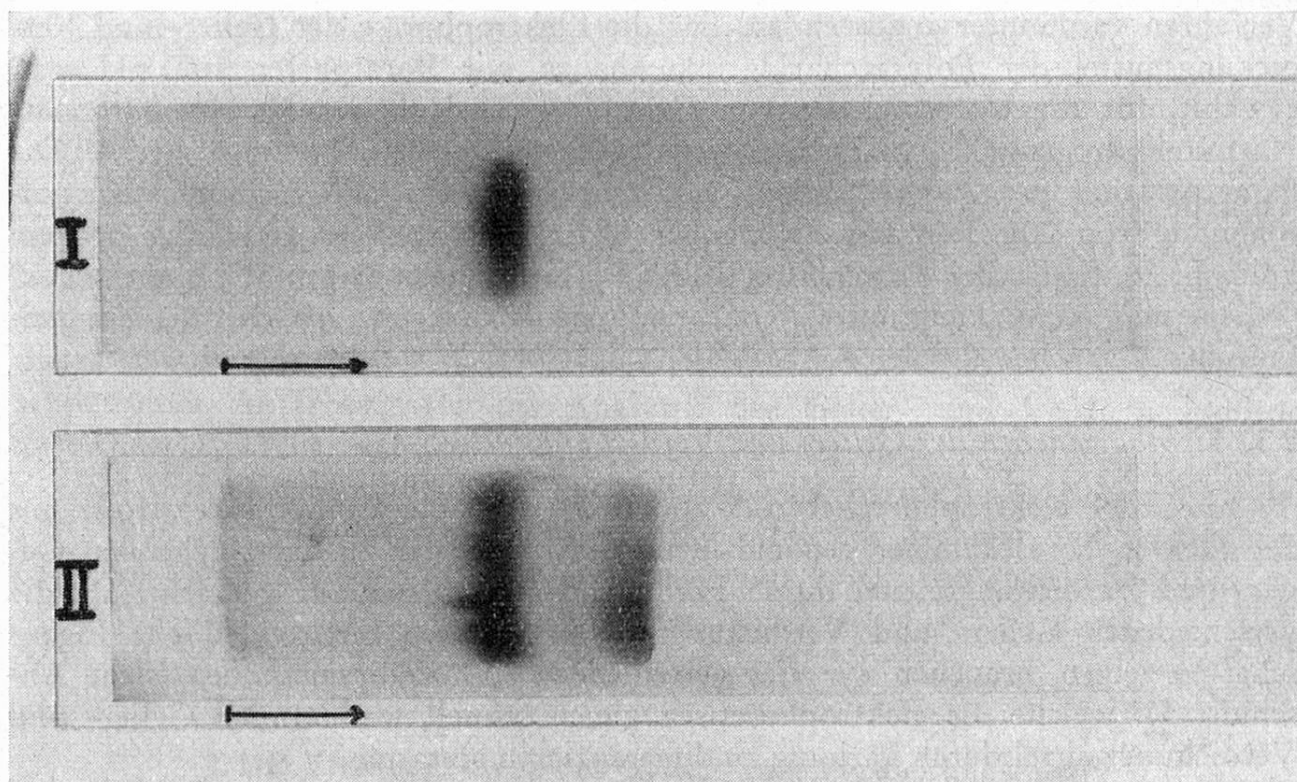
2.4.1. *Vergleich zwischen Celluloseacetatfolien und Papierstreifen*

Die Pherogramme I und II auf Abbildung 1a zeigen die Resultate unseres Elektrophoreseversuches auf Celluloseacetatfolien (4×30 cm) in der Elphor-H

Elektrophoresekammer nach *Graßmann* und *Hannig*. Mit Ausnahme der Pufferkonzentration und der Art des Auftragens der untersuchten Substanz, sind die Versuchsbedingungen gleich wie bei der Papierelektrophorese. Der verwendete Karbonatpuffer von $\text{pH} = 10$ und Ionenstärke $\mu = 0,15$ wird mit dem gleichen Volumen destillierten Wassers verdünnt. Das Auftragen der untersuchten Substanz erfolgt nicht mit einer Mikropipette, sondern mit einem Stempel, bestehend aus zwei parallel verlaufenden Platinlamellen, die jeweils etwa $6 \mu\text{l}$ Flüssigkeit aufnehmen.

Aus dem Vergleich zwischen den Abbildungen 1a und 1b ist ersichtlich, daß bei der Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien eine gute Auftrennung von Gelatine und Milcheiweiß in viel kürzerer Zeit erreicht werden kann als bei der Papierelektrophorese (3 Stunden anstatt 14 Stunden). Außerdem lassen sich die Folien bei der Anfärbung auch viel rascher auswaschen (20 Minuten anstatt 2 Stunden).

Abbildung 1a
Elektrophorese auf Celluloseacetatfolien



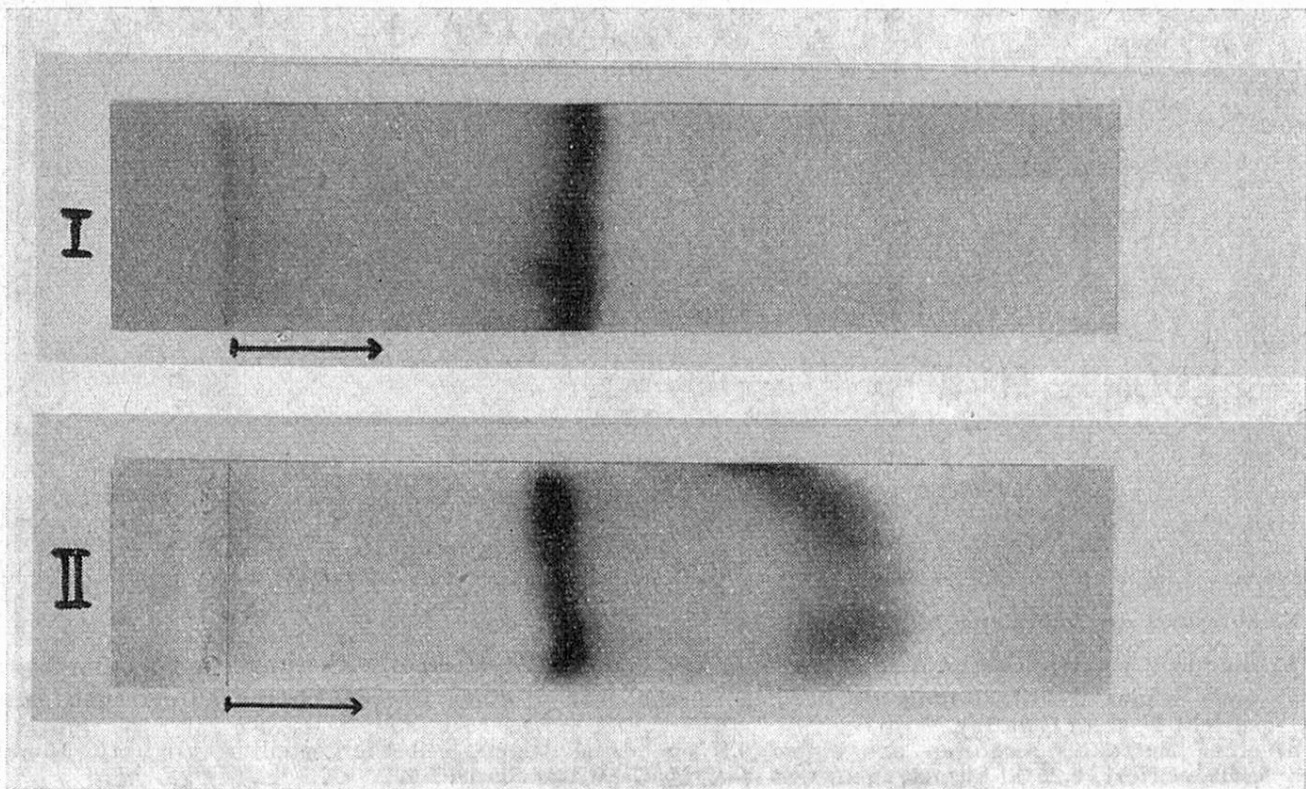
Erläuterung zur Abbildung 1a:

- I = Gelatine (aus einer 1%igen Gelatinelösung, mit Stempel aufgetragen, enthält etwa $60 \mu\text{g}$ Gelatine).
- II = Gelatine und Milcheiweiß (isoliert aus einem 0,2%-gelatinehaltigen Yoghurt, mit Stempel aufgetragen).
- = Wanderungsrichtung (anodisch).

Versuchsdauer: 3 Stunden.

Anfärbezeit samt Auswaschen: 20 Minuten.

Abbildung 1 b
Papierelektrophorese



Erläuterung zur Abbildung 1b:

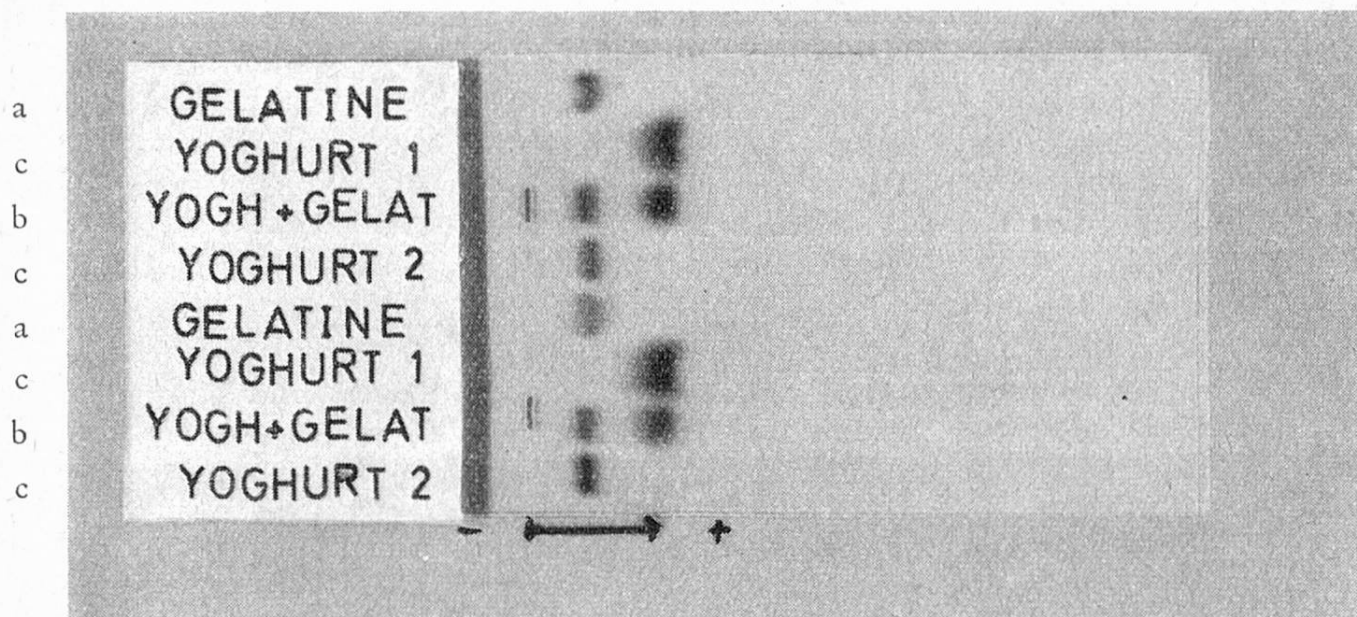
- I = Gelatine (aus einer 1%igen Gelatinelösung, 10 μ l mit Mikropipette aufgetragen, enthält 100 μ g Gelatine).
 II = Gelatine und Milcheiweiß (isoliert aus einem 0,2%-gelatinehaltigen Yoghurt, mit Stempel aufgetragen).
 —————> = Wanderungsrichtung (anodisch)
 Versuchsdauer: 14 Stunden.
 Anfärbezeit samt Auswaschen: 2 Stunden.

2.4.2. Mikroelektrophorese von Gelatine auf Celluloseacetatfolien

Mit dem Beckmann-Spinco Mikrozonenelektrophorese-System (siehe Abschnitt 4) ist es möglich, auf einer Celluloseacetatfolie von $5,5 \times 14$ cm gleichzeitig acht Trennungen mit Probenmengen von je 0,25 μ l Substanzlösung, entsprechend 2—10 μ g untersuchter Substanz, durchzuführen. Das Auftragen der untersuchten Substanz erfolgt mit einem Mikrotempel. Die Trennzeit läßt sich dabei auf 15—30 Minuten reduzieren. Normalerweise beträgt die Trennzeit auf Celluloseacetatfolie von 4×30 cm, z. B. mit der Elphor-H Elektrophoresekammer nach *Graßmann* und *Hannig*, etwa 3 Stunden (siehe Abschnitt 2.4.1.).

Aus den Pherogrammen ist festzustellen, daß Yoghurt 1 gelatinefrei und Yoghurt 2 gelatinehaltig ist. Bei der Isolierung der Gelatine wurde bei Yoghurt 2 das Milcheiweiß durch Hitzebehandlung des Yoghurts vollkommen gefällt und durch Zentrifugieren oder Filtrieren entfernt. Zur Anreicherung der Gelatine wird das Filtrat durch Eindampfen im Vakuum etwa 10mal konzentriert. Bei einer nicht vollständigen Entfernung des Milcheiweißes kommen dessen Eiweißbanden auf

Abbildung 2



Erläuterung zur Abbildung 2:

Abbildung 2 zeigt 8 Pherogramme folgender mit einem Mikrostempel aufgetragenen Doppelproben:

- a) einer reinen Gelatinelösung als Vergleichsprobe, $0,25 \mu\text{l}$ einer 1% igen Lösung aufgetragen, entspricht $2-3 \mu\text{g}$ Gelatine.
- b) eines Extraktes, erhalten aus einem $0,2\%$ -gelatinehaltigen, selbsthergestellten Yoghurt, 10mal konzentriert, $0,25 \mu\text{l}$ aufgetragen, was $4-6 \mu\text{g}$ Gelatine entspricht.
- c) von Extrakten, erhalten aus zwei auf dem Markt erhältlichen Yoghurtproben (Yoghurt 1 und Yoghurt 2), gleich konzentriert wie bei b).

Versuchsbedingungen:

Klemmspannung: 200 Volt
Karbontpuffer: $\text{pH} = 10$; Ionenstärke, $\mu = 0,075$
Anodische Wanderung
Trennzeit: 25 Minuten
Anfärbung: mit Amidoschwarz 10 B.

dem Pherogramm zum Vorschein (siehe das Bild bei dem selbsthergestellten Yoghurt (b) und dasjenige bei Yoghurt 1). Bei Yoghurt 1 zeigt das Pherogramm noch wanderungsfähiges zurückgebliebenes Milcheiweiß. Bei der selbsthergestellten Yoghurtprobe (Yogh + Gelat) sind neben der Gelatine sowohl vollkommen denaturiertes (auf der Auftragsstelle liegen geblieben) wie auch wanderungsfähiges Milcheiweiß sichtbar.

Aus den Pherogrammen geht also hervor, daß für den Gelatinenachweis in Milchprodukten die getrennte Gelatine nicht unbedingt vollkommen rein sein muß. Auch wenn der nach der Hitzebehandlung des Yoghurts und nach der Anreicherung der Gelatine erhaltene Extrakt noch Milcheiweiß enthält, ist eine saubere Abtrennung der Eiweiße von der Gelatine durch Elektrophorese gut möglich.

2.4.3. Mikroelektrophorese von Gelier- und Verdickungsmitteln der Polysaccharidgruppe

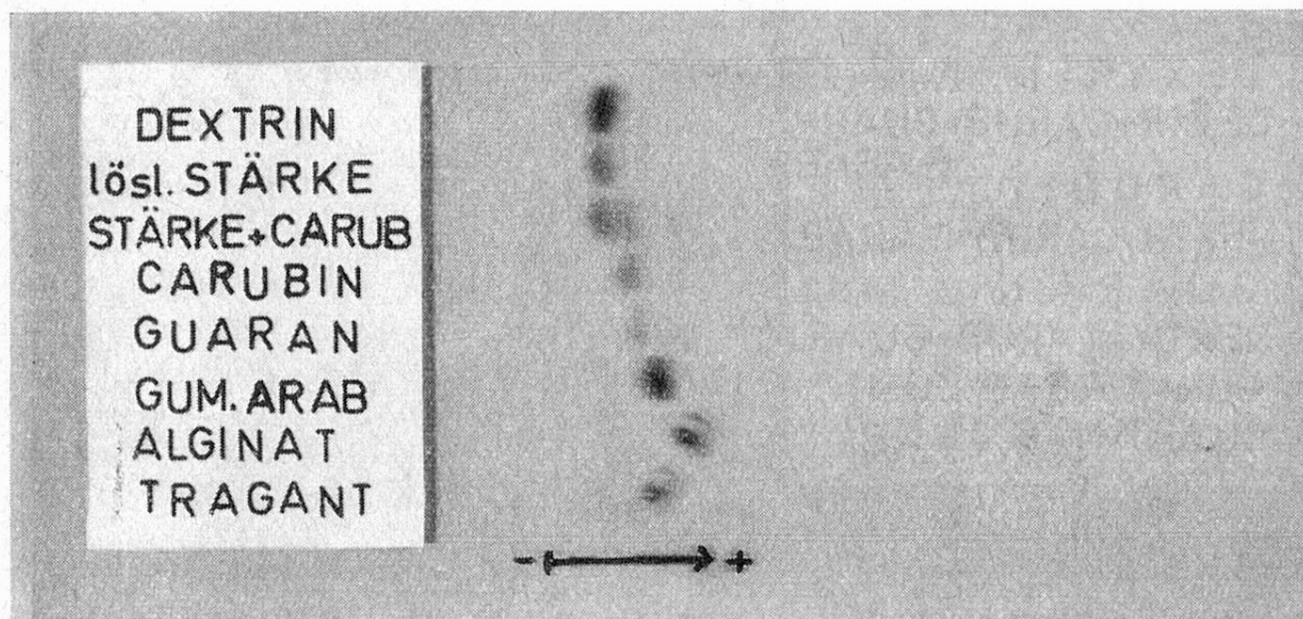
Als leitende Elektrolytlösung bei der Elektrophorese von Gelier- und Verdickungsmitteln der Polysaccharidgruppe haben wir Boratpuffer von $\text{pH} = 10$

und Ionenstärke $\mu = 0,065$ gewählt. Außer der Anfärbung sind die anderen Versuchsbedingungen ungefähr gleich wie diejenigen bei der Untersuchung von Gelatine (Abschnitt 2.4.2.). Die Durchführung der Anfärbung und der Mikroelektrophorese sind im Abschnitt 4 beschrieben. Abbildung 3 zeigt die Pherogramme der PAS-positiven, Abbildung 5 diejenigen der nach Vorbehandlung mit Tannin und anschließender PAS-Anfärbung sichtbar gemachten und Abbildung 6 diejenigen der mit Toluidinblau O anfärbbaren Gelier- und Verdickungsmittel. Die Pherogramme auf Abbildung 4 geben uns die Resultate der elektrophoretischen Auftrennung der Mischungen von 2, 3 bis 4 verschiedenen PAS-positiven Gelier- und Verdickungsmitteln. Ueber die Anfärbbarkeit der einzelnen Gelier- und Verdickungsmittel sowie ihre Einteilung nach den verwendeten Anfärbungsmethoden wird im Abschnitt 3 eine eingehende Abhandlung gegeben.

Aus den Pherogrammen läßt sich zeigen, daß die untersuchten Gelier- und Verdickungsmittel nicht nur verschieden schnell wandern, sondern daß sie bei der Anfärbung auch verschieden stark empfindlich sind.

Bei den gewählten Versuchsbedingungen erleiden die Alginat- sowie die Tragantflecken eine merkwürdige, jedoch konstante Krümmung (siehe auch Abbildung

Abbildung 3
Pherogramme PAS-positiver Gelier- und Verdickungsmittel



Erläuterung zu Abbildung 3:

Die aufgetragene Menge beträgt für Dextrin 4—5 μg , lösl. Stärke 2—3 μg , Carubin 7—8 μg , Guarant 7—8 μg , Gummi Arabicum 7—8 μg , Alginat 2—3 μg und Tragant 2—3 μg .

Versuchsbedingungen:

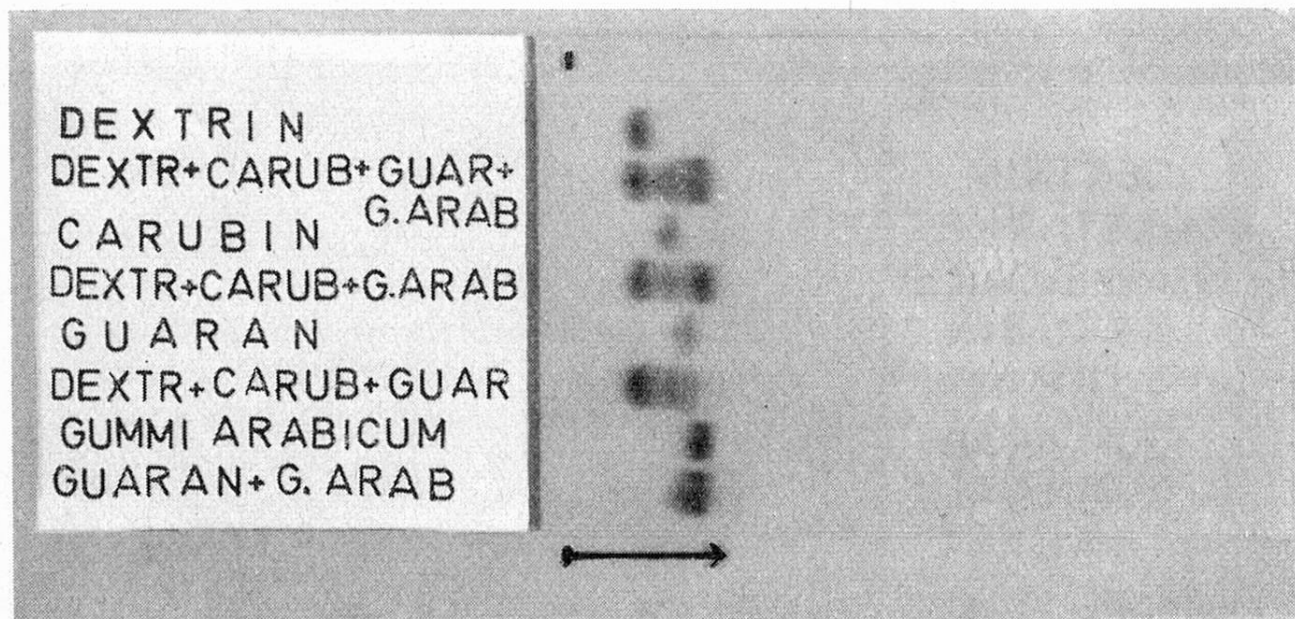
Klemmspannung: 200 Volt
 Boratpuffer: pH = 10; Ionenstärke, $\mu = 0,065$
 Anodische Wanderung
 Trennzeit: 15 Minuten
 PAS-Anfärbung

5 und 6), deren Ursache uns noch unbekannt ist. Auch Gelatine zeigt bei der Mikroelektrophorese mit Boratpuffer diese Erscheinung (Abbildung 5), was nicht der Fall ist bei der Anwendung von Karbonatpuffer (Abbildung 2).

Bei den Pherogrammen auf Abbildung 3 zeigen Carubin, Guaran und Gummi Arabicum nahezu die gleiche Wanderungsgeschwindigkeit. Durch Anwendung einer längeren Trennzeit von 25 Minuten (Abbildung 4) anstatt 15 Minuten lassen sie sich jedoch von einander trennen.

Wenn wir die Pherogramme auf den Abbildungen 5 und 6 näher betrachten, sehen wir, daß einige Gelier- und Verdickungsmittel nahezu gleich schnell wandern. Agar-Agar, Carubin und Tragant auf Abbildung 5, Carrageen, Natriumpektat und Alginat auf Abbildung 6 sind folglich elektrophoretisch bei den verwendeten Versuchsbedingungen nicht von einander aufzutrennen. Für ihre Identifizierung können wir wie bei den PAS-positiven Gelier- und Verdickungsmittel (Abbildung 4) durch eine längere Trennzeit von 20—30 Minuten eine bessere Auftrennung erzielen und sie durch ihre unterschiedliche Anfärbbarkeit (siehe Tabelle 1, Abschnitt 3) weiter differenzieren.

Abbildung 4
Elektrophoretische Auftrennung von Mischungen
PAS-positiver Gelier- und Verdickungsmittel



Erläuterung zur Abbildung 4:

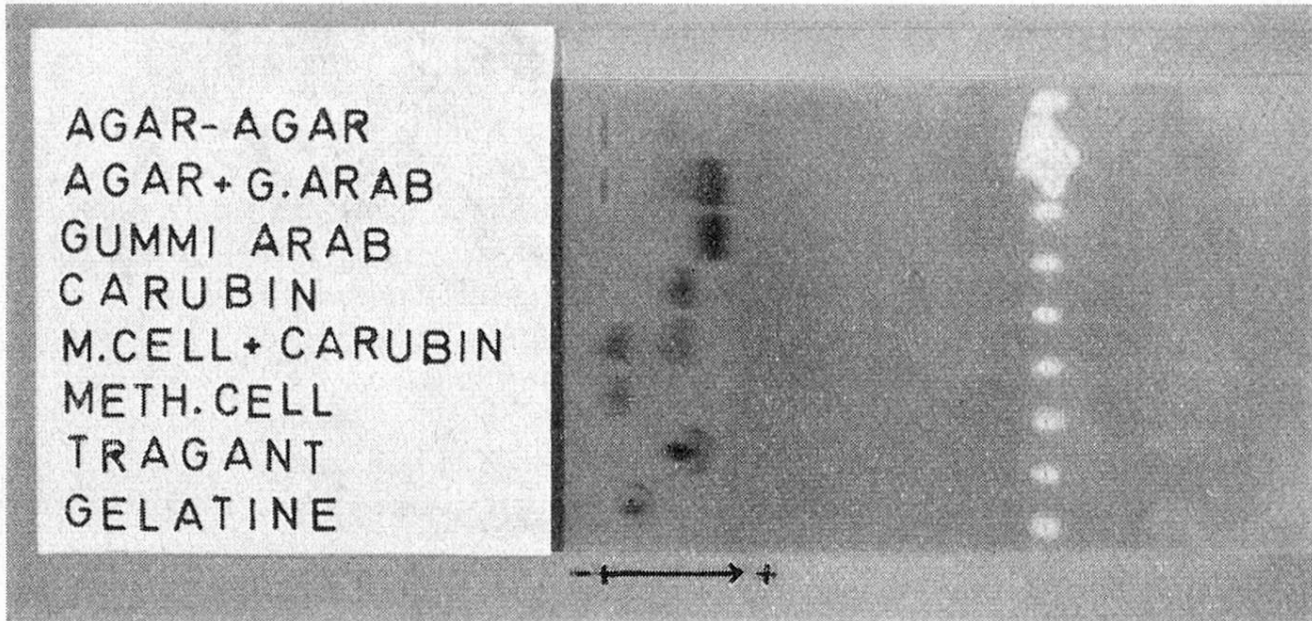
An aufgetragener Menge für Dextrin haben wir etwas weniger (2—3 μg anstatt 4—5 μg), für Carubin und Guaran etwas mehr (8—10 μg anstatt 7—8 μg) genommen als bei den Pherogrammen der Abbildung 3. Zu ihrer Auftrennung haben wir eine längere Versuchsdauer benötigt (25 Minuten anstatt 15 Minuten).

Versuchsbedingungen:

Klemmspannung: 200 Volt
Boratpuffer: pH = 10; Ionenstärke, $\mu = 0,065$
Anodische Wanderung
Trennzeit: 25 Minuten
PAS-Anfärbung

Abbildung 5

Pherogramme der nach Vorbehandlung mit Tannin und PAS-Anfärbung sichtbar gemachten Gelier- und Verdickungsmittel



Eräuterung zur Abbildung 5:

Die aufgetragene Menge beträgt für Agar-Agar 4—5 μg , Gummi Arabicum 7—8 μg , Carubin 8—10 μg , Methylcellulose 4—5 μg , Tragant 4—5 μg und Gelatine 2—3 μg .

Versuchsbedingungen:

Klemmspannung: 200 Volt

Boratpuffer: pH = 10; Ionenstärke, $\mu = 0,065$

Anodische Wanderung

Trennzeit: 15 Minuten

Vorbehandlung mit Tannin und PAS-Anfärbung*.

Zusammenfassung

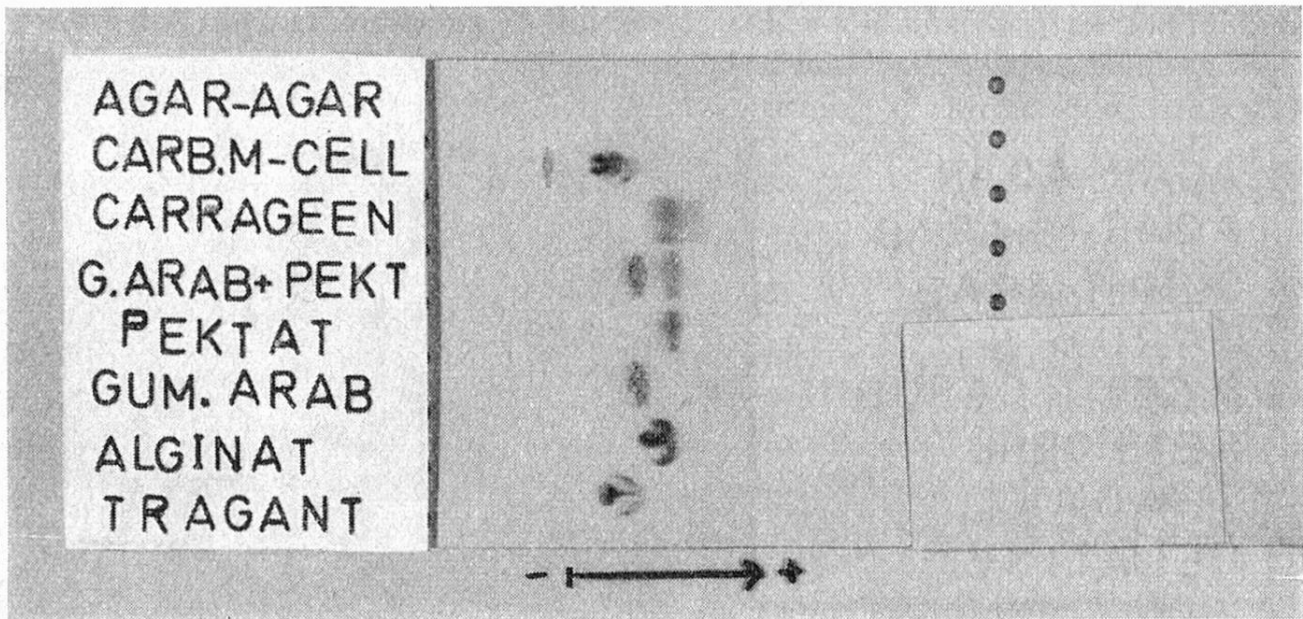
Mit dem beschriebenen Analysenverfahren ist es nun möglich, die einzelnen Gelier- und Verdickungsmittel als solche zu identifizieren. In «The official Methods of Analysis» der AOAC (1965) ist eine Methode beschrieben, welche die Gelier- und Verdickungsmittel aus Lebensmitteln, wie Rahmeis und Mayonnaise, nach der Entfernung der Fett- und Eiweißbestandteile durch eine Alkohol-Fällung aufzutrennen gestattet. Ist die Fällungsreaktion positiv, so ermöglicht die Elektrophorese und unsere Anfärbungsmethode eine genaue Identifizierung des durch die Alkohol-Fällung isolierten Niederschlags.

Die quantitative Auswertung kann durch den Vergleich der Farbstärke mit Lösungen bekannter Konzentrationen des betreffenden Gelier- und Verdickungsmittels erfolgen. Grobe Abschätzungen können mit bloßem Auge gemacht werden, während für genauere Messungen die Photometrie geeignet ist.

* Nur ein in dieser Abbildung kaum sichtbarer Teil des aufgetragenen Agar-Agar wandert durch Elektrophorese auf der Celluloseacetatfolie. Der am Start zurückbleibende Bestandteil ist besser sichtbar. Gelöst in 0,1-n Salzsäure mit nachfolgender Neutralisation, läßt sich Agar-Agar besser auftragen und sichtbarmachen als in Pufferlösung. Ferner hat sich gezeigt, daß für Agar-Agar bei der Vorbehandlung mit Tannin eine 0,1%ige alkoholische Tanninlösung besser geeignet ist als die hier angewandte 10%ige wässrige Tanninlösung.

Abbildung 6

Pherogramme der mit Toluidinblau O anfärbbaren Gelier- und Verdickungsmittel



Erläuterung zur Abbildung 6:

Die aufgetragene Menge beträgt für Agar-Agar 4—5 μg , Carboxy-Methylcellulose 4—5 μg , Carrageen 2—3 μg , Pektat 4—5 μg , Gummi Arabicum 7—8 μg , Alginat 2—3 μg und Tragant 4—5 μg .

Versuchsbedingungen:

Klemmspannung: 200 Volt

Boratpuffer: pH = 10; Ionenstärke, $\mu = 0,065$

Anodische Wanderung

Trennzeit: 15 Minuten

Anfärbung: mit Toluidinblau O

3. Die Anfärbung der Gelier- und Verdickungsmittel auf Celluloseacetatfolien

3.1. Fixierung

Vor dem Anfärben sollen die auf der Celluloseacetatfolie aufgetragenen Gelier- und Verdickungsmittel zunächst fixiert werden, damit sie während des Färbeprozesses nicht im Färbepool gelöst werden. Gelatine kann wie andere Eiweißkörper durch Trocknen zwischen 80 und 100 °C denaturiert und somit fixiert werden, was bei den Celluloseacetatfolien leider nicht zu empfehlen ist, weil die Beschaffenheit der Folien darunter leidet. An Stelle einer Trocknung verwenden wir ein Fixierbad, das für Gelatine aus einer Trichloressigsäurelösung und für die Gelier- und Verdickungsmittel der Polysaccharidgruppe aus Aethanol besteht.

3.2. Anfärbung von Gelatine

Die Anfärbung der Gelatine, die zu der Gruppe der Proteine gehört, erfolgt mit dem üblich gebrauchten Eiweißfarbstoff Amidoschwarz 10 B, einem sauren Azofarbstoff. Der Färbeprozess beruht auf der Salzbildung der sauren Gruppen

des Farbstoffes mit den freien Aminogruppen des Eiweißes. Bei den Gelier- und Verdickungsmitteln der Polysaccharidgruppe muß die Anfärbung anders vorgenommen werden, da sie keine freien Aminogruppen enthalten und somit nicht auf Amidoschwarz 10 B ansprechen (siehe Abbildung 7 und Tabelle 1).

3.3. PAS-Anfärbung

Die von *Hotchkiss* (1948) in der Histologie für die Anfärbung von Polysacchariden in pflanzlichen und tierischen Gewebepräparaten empfohlene PAS-Reaktion (Periodic Acid Schiff-Reaction) haben wir auf Gelier- und Verdickungsmittel übertragen. Es hat sich gezeigt, daß sich auf diese Weise nicht alle Gelier- und Verdickungsmittel anfärben lassen. Demnach unterscheiden wir PAS-positive und PAS-negative Gelier- und Verdickungsmittel.

Das bei der PAS-Anfärbung verwendete Schiff'sche Reagenz besteht aus einer farblosen Lösung der fuchsin-schwefligen Säure, die aus einer roten wässrigen Fuchsinlösung durch Zusatz von Kaliumpyrosulfit und Salzsäure hergestellt wird. Dabei reduziert das freigemachte Schwefeldioxid das rote Fuchsin zu einer farblosen Leukoverbindung. Dieses Schiff'sche Reagenz ist ein bekanntes Nachweisreagens für Aldehydgruppen. Die anzufärbenden Gelier- und Verdickungsmittel lassen wir zunächst zur Erzeugung von Aldehydgruppen mit Perjodsäure reagieren. Dabei werden zwei benachbarte Hydroxylgruppen im Polysaccharidmolekül unter Spaltung der C-C-Bindung zu Aldehydgruppen oxydiert. Die entstandenen Aldehydgruppen reagieren mit dem Schiff'schen Reagenz unter Erzeugung einer lilarötlichen Färbung. Zu den PAS-positiven Gelier- und Verdickungsmitteln gehören Carubin, Guaran, lösliche Stärke, Dextrin, Alginat, Tragant und Gummi Arabicum. Natrium-Pektat und Carrageen sind schwach PAS-positiv, wobei die Farbe bei Carrageen sehr langsam zum Vorschein kommt.

Polysaccharide wie Methylcellulose, Celluloseacetat und Agar-Agar, die keine benachbarten Hydroxylgruppen enthalten, sind entsprechend PAS-negativ. Wasserlösliche Methylcellulose hat einen durchschnittlichen Substitutionsgrad von 1,64—1,92 (*Glicksman*, 1963) und enthält also Methoxylgruppen nicht nur am Kohlenstoffatom C-6 sondern in gewissem Ausmaß auch an den Kohlenstoffatomen C-2 und C-3.

Für die PAS-negativen und schwach PAS-positiven Gelier- und Verdickungsmittel fanden wir zwei andere Anfärbungsmethoden:

1. eine Vorbehandlung mit Tannin und anschließend PAS-Anfärbung,
2. eine Anfärbung mit Toluidinblau O.

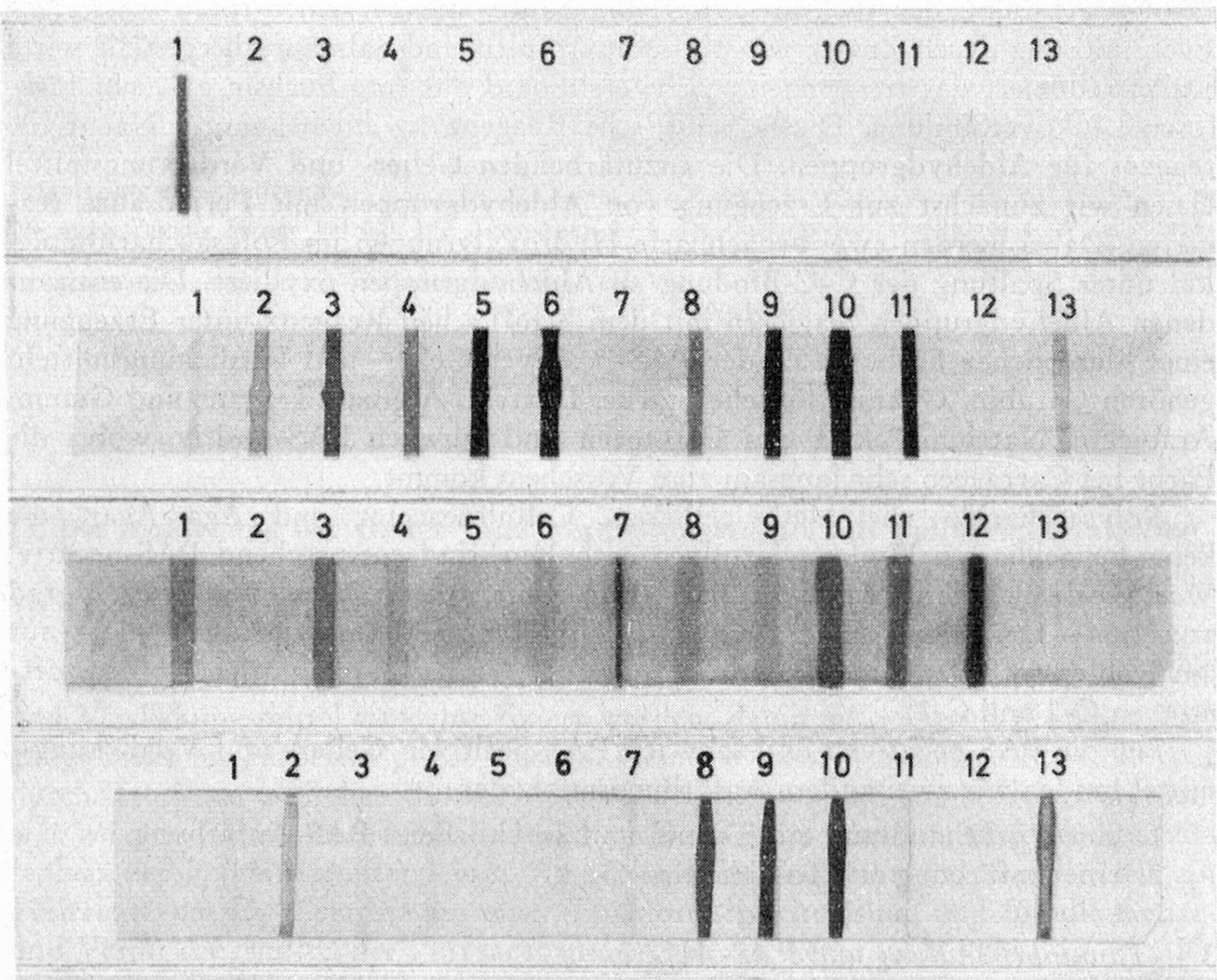
3.4. Tanninbehandlung und PAS-Anfärbung

Wir haben zunächst an die Anwendung von Tannin zur Fixierung der Gelier- und Verdickungsmittel gedacht. Es hat sich dann gezeigt, daß nach einer solchen Behandlung die Methylcellulose mit der PAS-Reaktion sich auch anfärben ließ. Vorher hatten wir lange Zeit vergeblich nach einer Anfärbungsmethode für Methylcellulose gesucht. Außer Methylcellulose lassen sich auf diese Weise auch

Gelatine, Carubin, Agar-Agar, Tragant und Gummi Arabicum sichtbar machen. Ueber die Reaktion des Tannins, die sich bei diesem Färbevorgang abspielen kann, ist uns außer dessen Beizwirkung noch nichts bekannt.

Neben Tannin haben wir viele andere Fällungsmittel für Polysaccharide, wie basisches Bleiacetat, Phosphorwolframsäure, Mercurichlorid und Bariumchlorid ausprobiert, jedoch ohne befriedigende Resultate. Einzig durch die Vorbehandlung mit Bariumchlorid erzielt man eine bessere Anfärbung von Carboxymethylcellulose. Die Anfärbung desselben mit Toluidinblau O ist jedoch viel empfindlicher.

Abbildung 7
Anfärbung der Gelier- und Verdickungsmittel auf Celluloseacetatfolien



Erläuterung zur Abbildung 7:

Die Zahlen 1 bis 13 entsprechen den in nachstehender Tabelle 1 aufgeführten Gelier- und Verdickungsmitteln. Bei dem Anfärbungsversuch werden die Proben mit einem Stempel in Abständen von etwa 1,5 cm auf die über einem Tragrahmen aufgespannte Membranfolie (2,5×30 cm) aufgetragen. Die aufgetragene Menge beträgt jeweils etwa 6 μ l einer 1%igen Lösung, d. h. etwa 60 μ g des betreffenden Gelier- und Verdickungsmittels. Die Durchführung der Anfärbung wird im Abschnitt 4.4. beschrieben.

3.5. Anfärbung mit Toluidinblau O

Toluidinblau O ist ein Thiazinfarbstoff und wird in der Histochemie zur Anfärbung von sauren Mucopolysacchariden, wie Heparin und Chondroitinsulphat, verwendet (Rienits, 1953). Die Voraussetzung für die Anfärbbarkeit der Polysaccharide mit Toluidinblau O ist die Gegenwart von sauren Gruppen im Molekül. Diejenigen Gelier- und Verdickungsmittel, die sich mit Toluidinblau O anfärben lassen, nämlich Natrium-Pektat, Alginat, Tragant, Gummi Arabicum, Carboxymethylcellulose und Carrageen, enthalten entweder Uronsäuren oder Sulfatgruppen im Molekül.

3.6. Resultate.

Mit den vier verschiedenen Anfärbungsmethoden lassen sich nun unterschiedlich alle im Artikel 443^{bis} der Schweizerischen Lebensmittelverordnung zulässigen Gelier- und Verdickungsmittel auf Celluloseacetatfolien anfärben (Abbildung 7 und Tabelle 1).

Tabelle 1
Anfärbbarkeit der Gelier- und Verdickungsmittel auf Celluloseacetatfolie

Gelier- und Verdickungsmittel	Amido-Schwarz 10B	PAS-Anfärbung	Tanninbehandlung + PAS-Anfärbung	Toluidin-Blau O.
1. Gelatine	++	—	(+)	—
2. Na-Pektat	—	(+)	—	(+)
3. Carubin*	—	+	+	—
4. Guaran*	—	+	—	—
5. Lösliche Stärke	—	++	—	—
6. Dextrin	—	++	—	—
7. Agar-Agar	—	—	+	—
8. Carrageen	—	+	(+)	++
9. Alginat	—	++	—	++
10. Tragant	—	++	+	++
11. Gummi Arabicum	—	++	+	—
12. Methyl-Cellulose	—	—	++	—
13. Carboxy-Methyl-Cellulose	—	(+)	—	+

++ = stark anfärbbar

+ = gut anfärbbar

(+) = schwach anfärbbar

— = nicht anfärbbar

* Von Carubin und Guaran löst sich nur 16—19 % im Boratpuffer. Das Unlösliche wurde zentrifugiert. Je nach Qualität ist die Anfärbbarkeit des Carubins mehr oder weniger stark. Am stärksten ist sie für Carboxymethyl-Carubin; für Carubin-«fleur» ist sie sehr schwach. Die Anfärbbarkeit nach Qualität und Herkunft wird für weitere Handelsprodukte geprüft.

Aus den Anfärbungsergebnissen der untersuchten Gelier- und Verdickungsmittel auf Abbildung 7 versuchen wir in Tabelle 1 die Anfärbbarkeit derselben mit den vier verwendeten Anfärbungsmethoden durch + und — Zeichen übersichtlicher darzustellen.

4. Arbeitsvorschrift

4.1. Spezialapparate:

Beckman-Spinco *Mikrozonenelektrophorese-System**, bestehend aus:

Mikroelektrophorese-Zelle,

Mikro-Probenauftragstempel (0,25 μ l Probenmenge),

Celluloseacetatfolien (auch Membranfolien genannt), 5,5 \times 14 cm, für je 8 Proben.

Stromversorgungsgerät (Spannung 0—500 Volt, Stromstärke 0—50 mA).

Zur *Elektrophorese auf großen Celluloseacetatfolien*:

Elphor-H Elektrophoresekammer nach *Graßmann* und *Hannig*, mit zugehörigem Gleichrichter und Regeltransformator (Firma Dr. Bender & Dr. Hobein, München, Zürich).

Membranfolien 4 \times 30 cm (Firma Schleicher & Schüll AG, Feldmeilen).

Probenauftragstempel, etwa 6 μ l Probenmenge (Firma Kontron AG, Zürich).

4.2. Reagenzien:

Boratpuffer (pH = 10 und Ionenstärke μ = 0,13): 12,37 g (= 0,2 Mol) Borsäure in 100 ml 1-n NaOH lösen und mit destilliertem Wasser auf 1 Liter auffüllen. 600 ml dieser Lösung mit 400 ml 0,1-n NaOH mischen.

Natriumkarbonat-Natriumhydrogenkarbonatpuffer (pH = 10 und Ionenstärke μ = 0,15): 750 ml einer 0,1-m Natriumkarbonatlösung, 750 ml einer 0,1-m Natriumhydrogenkarbonatlösung und 500 ml destilliertes Wasser mischen.

Perjodsäurelösung: 2 g Perjodsäure in 10 ml destilliertem Wasser lösen und mit 90 ml 96 Vol.% Äthanol mischen.

Trichloressigsäure: 5%ige wässrige Lösung.

Tanninlösung: 10%ige wässrige Lösung**.

Gesättigte Lösung von Amidoschwarz 10 B: Ca. 0,1 g Amidoschwarz in einer Mischung von 9 Volumenteilen Methanol und 1 Volumenteil Eisessig durch wiederholtes Schütteln lösen. Vor jedem Gebrauch soll die Lösung filtriert werden.

Schiff'sches Reagenz: 1 g Fuchsin in 100 ml destilliertem Wasser heiß lösen, auf etwa 50 ° C abkühlen, mit 1 ml konz. Salzsäure und 2 g Kaliumpyrosulfit versetzen, gut schütteln, über Nacht bei Zimmertemperatur stehen lassen. Vor der Anwendung mit etwa 1 g Aktivkohle schütteln und filtrieren.

* Vertretung: Firma Kontron AG, Zürich.

** Bei neueren Versuchen hat sich eine 0,1%ige alkoholische Lösung meistens besser bewährt.

Toluidin O-Lösung: 0,2%ige wässrige Lösung.

Formaldehyd-Ammoniak-Mischung: 1-m Formaldehydlösung und 1-m Ammoniumhydroxydlösung zu gleichen Volumteilen mischen.

Alkohol-Salzsäure-Mischung: 1 Volumenteil in 1-n Salzsäure und 2 Volumenteile Acetonsprit (= vergällter Alkohol) mischen.

Methanol-Eisessig-Mischung: 1 Volumenteil Eisessig und 9 Volumenteile Methanol mischen.

Transparenzlösung: 1 Volumenteil Eisessig und 3 Volumenteile Methanol mischen (jeweils frisch herstellen).

Methanol-Lösungen der untersuchten Gelier- und Verdickungsmittel: 1%ige Lösung der einzelnen Gelier- und Verdickungsmittel in Boratpuffer. Als Ausnahme wird bei Agar-agar eine kleinere Konzentration von 0,3 % verwendet, weil eine 1%ige Lösung bereits eine Gelbindung hervorrufen kann. Bei Carubin, Guaran und Tragant geht nur ca. 20 % der Substanz in Boratpuffer in Lösung.

4.3. Durchführung der Mikroelektrophorese

4.3.1. Füllen der Mikroelektrophorese-Zelle mit Pufferlösung

Die Mikroelektrophorese-Zelle besteht aus den Pufferbehältern der Elektrodenräume, einem Tragrahmen zum Aufspannen und Membranfolie, einem Zelloberdeckel und einem Zelloberteil mit Spalten und Furchen, zum Auflegen des Mikroauftragsstempels beim Auftragen der Proben. Nach dem Entfernen des Zelloberdeckels, des Zelloberteils und des Tragrahmens wird der zwischen den Elektrodenräumen befindliche Siphon mit einem Finger horizontal gestellt und die Zelle mit Pufferlösung durch das Löchlein des Siphons bis zu einer Höhe zwischen den markierten Linien «Fluid Level» gefüllt. Zur Untersuchung von Gelier- und Verdickungsmitteln der Polysaccharidgruppe wird Boratpuffer von $\text{pH} = 10$ und Ionenstärke $\mu = 0,065$ und zum Gelatinenachweis Natriumkarbonat-Natriumhydrogenkarbonat-Puffer von $\text{pH} = 10$ und Ionenstärke $\mu = 0,075$ verwendet. Dafür werden die im Abschnitt 4.2. beschriebenen Pufferlösungen zunächst mit gleichen Volumteilen destillierten Wassers verdünnt. Nach dem Füllen der Mikroelektrophorese-Zelle werden Puffertropfen an der Zellwand oberhalb des Pufferniveaus sorgfältig mit Filterpapier entfernt, um Nebenkontakte des elektrischen Stroms außerhalb der Membranfolie zu vermeiden.

4.3.2. Auflegen der Membranfolie

Die Membranfolie wird zunächst mit dem verwendeten, nicht verdünnten Puffer (siehe Abschnitt 4.2.) leicht benetzt. Zur gleichmäßigen Benetzung wird die Membranfolie flach auf die Oberfläche der Pufferlösung aufgelegt. Nach erfolgter Durchnetzung wird die Folie mit einer Pinzette in die Pufferlösung eingetaucht. Auf diese Weise werden weiße Stellen von Lufteinschlüssen vermieden. Die nasse Membranfolie wird dann herausgenommen und leicht zwischen zwei Blättern von dickem Filterpapier gepreßt.

Die gleichmäßig feuchte Membranfolie wird nun auf dem Tragrahmen so aufgespannt, daß alle Stifte des Tragrahmens in den Löchern der Membranfolie sitzen, wodurch die Folie überall gleich in straffer Lage gehalten wird. Der Tragrahmen mit der aufgespannten Membranfolie wird in die Mikroelektrophorese-Zelle so eingesetzt, daß das Bezugslöchlein in der Folie gerade mit Nr. 1 der auf dem Zelloberteile markierten Zahlen zusammenfällt. Dies dient als Gedächtnisstütze für die Reihenfolge der aufgetragenen Proben.

4.3.3. *Auftragen der Proben*

Nach dem Aufsetzen des Zelloberteils kann mit dem Auftragen der Proben angefangen werden. Von den zu untersuchenden Lösungen wird mit einem Glasstab ein Tropfen auf eine saubere Glasplatte gebracht. Der Probetropfen wird mit den Platinlamellen des Mikro-Probenauftragstempels berührt und der entstandene Flüssigkeitsfilm auf die Membranfolie aufgetragen, wobei die Platinlamellen etwa zwei Sekunden mit der Membranfolie in Berührung gebracht werden. Vor dem Auftragen der nächsten Probe werden die Platinlamellen des Mikrotempels mit destilliertem Wasser gespült und durch vorsichtiges Antupfen mit Filterpapier getrocknet. Wenn alle acht Proben aufgetragen sind, wird der Zelloberdeckel aufgesetzt und die elektrophoretische Wanderung kann beginnen.

4.3.4. *Die elektrophoretische Wanderung*

Die Mikroelektrophorese-Zelle wird mit dem Stromversorgungsgerät so angeschlossen, daß die Auftragsstelle der Proben auf die Kathodenseite zu liegen kommt. Die Wanderung der Proben verläuft in anodischer Richtung. Die Klemmspannung wird auf 200 Volt eingestellt. Mit der verwendeten Pufferkonzentration beträgt die Stromdichte nicht mehr als 1 mA pro cm Folienbreite (= 5,5 mA), was sich als günstig für die Wanderung und Auftrennung der untersuchten Proben erwiesen hat. Nach Ablauf der gewünschten Versuchsdauer, die zwischen 15 und 30 Minuten betragen kann, wird der Strom abgestellt, die Elektrophorese-Zelle geöffnet, die Membranfolie herausgenommen und anschließend angefärbt. Die Anfärbung erfolgt nach Abschnitt 4.4.

4.4. *Anfärbung der Gelier- und Verdickungsmittel.*

In den folgenden Abschnitten werden die vier verschiedenen Anfärbungsmethoden beschrieben.

4.4.1. *Anfärbung mit Amidoschwarz 10 B*

Diese Methode dient zum Sichtbarmachen von Gelatine neben anderen Eiweißkörpern. Zur Fixierung der Eiweiße werden die Membranfolien 2—3 Minuten in 5%iger Trichloressigsäurelösung eingelegt. Anschließend erfolgt die Anfärbung während 10 Minuten in der gesättigten Lösung von Amidoschwarz 10 B. Die Entfärbung des nicht mit Eiweiß beladenen Membranfolienanteils erfolgt durch Einlegen der Folie in die Methanol-Eisessig-Mischung. Nach 2—3 Minuten wird die Lösung abgegossen und durch neue ersetzt. Nach dreimaligem wiederholtem

Auswaschen werden weiße Folien erhalten, auf denen die Flecken von Gelatine und eventuell anderen Eiweißkörpern dunkelblau gefärbt erscheinen. Das Transparentmachen der Folie erfolgt nach Abschnitt 4.5.

4.4.2. *PAS-Anfärbung*

Diese Methode dient zum Sichtbarmachen von Carubin, Guaran, löslicher Stärke, Dextrin, Alginat, Tragant und Gummi Arabicum. Die Membranfolie wird 5 Minuten in die Perjodsäurelösung eingelegt. Hier erfolgt nicht nur der Oxydationsvorgang, sondern auch zugleich die Fixierung mit dem Alkohol der Perjodsäurelösung. Anschließend legt man die Membranfolie 10 Minuten in das Schiff'sche Reagenz, wobei sich die einzelnen Flecken der untersuchten Gelier- und Verdickungsmittel lilarötlich gefärbt abzeichnen. Zur Entfernung des überschüssigen Schiff'schen Reagenz wird die Membranfolie eine Minute in die Formaldehyd-Ammoniak-Mischung eingelegt, wobei sich Lösung und Folie wegen freigesetztem Fuchsin intensiv rot färben. Zur Entfärbung des nicht mit Gelier- und Verdickungsmitteln beladenen Folienanteils wird die Folie zunächst mit denaturiertem Alkohol und anschließend einige Male mit der Alkohol-Salzsäure-Mischung ausgewaschen. Der Farbton der Flecken der Gelier- und Verdickungsmittel wechselt von Lilarot zu Rotviolett. Das Transparentmachen der Folie erfolgt nach Abschnitt 4.5.

4.4.3. *Vorbehandlung mit Tannin und PAS-Anfärbung*

Diese Methode dient vor allem zum Sichtbarmachen von Methylcellulose und Agar-Agar. Andere Gelier- und Verdickungsmittel, die sich auf diese Weise auch anfärben lassen, sind Gelatine, Carubin, Tragant und Gummi Arabicum. Die Membranfolie wird 7—8 Minuten in die 10⁰/_oige Tanninlösung und anschließend 5 Minuten in die Perjodsäurelösung eingelegt. Bei der Behandlung mit Perjodsäure färben sich Lösung und Folie braun. Die braune Lösung wird abgegossen und durch neue Perjodsäure ersetzt. Die Anfärbung verläuft weiter wie im Abschnitt 4.4.2. beschrieben.

4.4.4. *Anfärbung mit Toluidinblau O*

Diese Methode dient vor allem zum Sichtbarmachen von Carrageen, Carboxymethylcellulose und Natrium-Pektat. Andere Gelier- und Verdickungsmittel, die sich mit Toluidinblau O auch anfärben lassen, sind Alginat, Tragant und Gummi Arabicum. Die Membranfolie wird 10 Minuten in die Färbelösung eingelegt. Anschließend wird der Hauptteil des überschüssigen Farbstoffes durch Pressen der gefärbten Folie zwischen zwei Blättern Filterpapier entfernt. Nach Auswaschen mit Leitungswasser wird die Membranfolie an der Luft getrocknet.

4.5. *Transparentmachen der Folien zur photometrischen Auswertung.*

Nach der Anfärbung wird die Membranfolie 2 bis 3 Minuten in Methanol eingelegt. Dann wird sie auf eine Glasplatte gelegt und während 30 Sekunden in einer frisch hergestellten Mischung von 3 Volumteilen Methanol und 1 Volum-

teil Eisessig gelassen. Glasplatte und Membranfolie werden aus dem Methanol-Eisessigbad herausgenommen. Nach Entfernung der überschüssigen Flüssigkeit mit einem Gummiwischer oder mit Filterpapier werden sie im Trockenschrank bei 110 °C während 5 Minuten getrocknet. Die transparent gewordenen Pherogramme können auf den Glasplatten aufbewahrt werden. Zur photometrischen Auswertung können sie eventuell von den Glasplatten vorsichtig abgelöst und in Plastikschutzfolien gebracht werden. Die mit Toluidinblau O angefärbten Folien werden nicht mit dem Methanol-Eisessigbad behandelt, weil die Flecken der untersuchten Gelier- und Verdickungsmittel, außer denjenigen von Carrageen, dadurch herausgelöst werden.

Für die Ueberprüfung dieser Arbeit in redaktioneller Hinsicht sei Herr *Wenger* lic. chem., Bern, bestens gedankt.

Zusammenfassung

Die Anwendung der Elektrophorese auf Celluloseacetatfolie zur Identifizierung der in der Schweiz für Lebensmittel zulässigen Gelier- und Verdickungsmittel wird untersucht und beschrieben. Nach der Elektrophorese werden die Substanzen auf der Folie durch Anfärbung sichtbar gemacht. Mit vier verschiedenen Anfärbungsmethoden lassen sich die Gelier- und Verdickungsmittel unterschiedlich auf Celluloseacetatfolie anfärben, wodurch die Möglichkeit gegeben wird, elektrophoretisch gleich schnell wandernde Gelier- und Verdickungsmittel weiter zu differenzieren. Je nach der Sorte lassen sich 2 bis 10 µg noch nachweisen.

Résumé

L'électrophorèse sur feuilles d'acétate de cellulose est appliquée à l'identification des agents gélifiants et épaississants dont l'emploi est autorisé en Suisse pour les denrées alimentaires. Après l'électrophorèse les substances sont révélées sur la feuille d'acétate de cellulose par quatre procédés de coloration, permettant encore de différencier les agents gélifiants et épaississants de même migration. Selon l'espèce on peut déceler de 2 à 10 µg de substance.

Summary

Description of the electrophoretic separation, on Cellulose acetate strips, of the gelation and thickening agents (gums) permitted in Switzerland. After separation these substances are made visible by dyeing. By using 4 different dyeing methods all the examined gums are made visible and those having the same electrophoretic mobility can be differentiated.

Literatur

- Becker E.* und *Eder M.*: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch., **104**, 187 (1956).
Beythien A. und *Diemair W.*: Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker, 8. Auflage, Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig (1963) S. 616.
Czaja A. Th.: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch., **117**, 499 (1962).
Glicksman M.: Advances in Food Research, Vol. 12, Academic Press, New York, London (1963) S. 283—368.

- Hotchkiss R. D.*: Arch. Biochem., **16**, 131 (1948).
Letzig E.: Z. Lebensm. Untersuch. u. Forsch., **68**, 301 (1934).
Letzig E.: Deutsche Lebensm. Rundschau, **51**, 41 (1955).
Official Methods of Analysis of the AOAC, 10. Auflage, Washington D. C. (1965) S. 255 und 478.
Organisation mondiale de la santé, série de rapports techniques No 281 et 339, Genève (1964 et 1965).
Padmoyo M. und Miserez A.: diese Mitt., **56**, 110 (1965).
Rienits K. G.: Biochem. J., **53**, 79 (1953).
Stoll S. et Prat Y.: Ann. Fals. Exp. Chim., 159 (1962).
Sulser H.: diese Mitt., **48**, 19 (1957).
Weiß H.: Fette. Seifen. Anstrichmittel, **68**, 625 (1966).

Zur analytisch-chemischen Bewertung der Fleischwarenqualität

Beitrag zur Diskussion über sog. «Muskeleiweiß»

O. Wyler

Laboratorium des Eidg. Veterinärarnantes Bern

Die routinemäßige chemisch-analytische Erfassung der tierischen Eiweiß-Stoffe gehört wohl zu denjenigen Problemen der Lebensmittelchemie, welche noch weiterer Bearbeitung bedürfen. Daher ist es nicht überraschend, wenn in dieser wichtigen Stoffklasse immer wieder Diskussionen darüber auftreten, wie die Eiweißkörper kontrollmäßig zu erfassen sind und wie der Nährwert der verschiedenen Eiweißarten einzuschätzen, abzugrenzen und zu bewerten ist.

Die Schwierigkeiten, die für die laufende analytische Bestimmung der Eiweiß-Stoffe vor allem in amtlichen Kontroll-Laboratorien bestehen, haben vor mehreren Jahrzehnten zum konventionellen Begriff des «Rohproteins» geführt, welcher heute richtigerweise und eindeutiger als «Stickstoffsubstanz» bezeichnet werden sollte. Darunter versteht man die Gesamtheit der stickstoffhaltigen Substanzen, welche man aus den Resultaten der *Kjeldahl*'schen Stickstoffbestimmung ermittelt und durch Multiplikation des Stickstoffes mit einem durchschnittlichen Faktor 6,25 als Protein ausdrückt, unbeachtet des jedem Chemiker bekannten Umstandes, daß neben reinen Fleisch- oder Pflanzenproteinen, mit unter sich verschiedenen Stickstoffgehalten und somit verschiedenen Umrechnungsfaktoren, auch eine größere Menge von Nichtproteinen vorhanden sind, wie Aminosäuren, Eiweißhydrolysate, Purine, Pyrimidine, Nucleoside, Nucleotide, Ammoniumverbindungen und dgl. Auch wird dabei bewußt die Tatsache nicht berücksichtigt, daß eine beträchtliche Zahl von Eiweißkörpern, z. B. die verschiedenen Bindegewebesubstanzen, ernährungsphysiologisch von untergeordneter Bedeutung sind