

Gelpermeationschromatographie zum Nachweis von Gelier- und Verdickungsmitteln

Autor(en): **Hunziker, H.R. / Miserez, A.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **71 (1980)**

Heft 1

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983504>

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.

H. R. Hunziker und *A. Miserez*, Bundesamt für Gesundheitswesen, Bern

Gelpermeationschromatographie zum Nachweis von Gelier- und Verdickungsmitteln

Allgemeines

In den letzten Jahren wurden bedeutende Arbeiten geleistet, Polysaccharide, die als Gelier- und Verdickungsmittel (GVM) in der Lebensmittelverarbeitung Verwendung finden, qualitativ durch Bestimmung der Zuckerbausteine nachzuweisen (1).

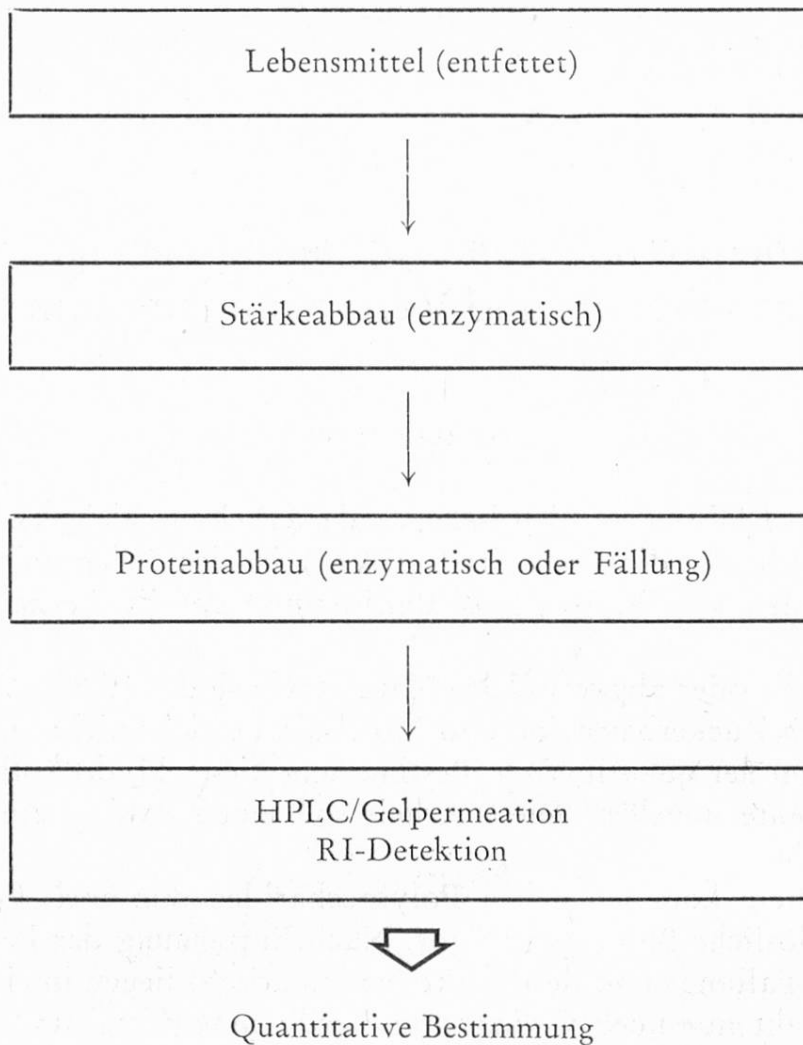
Als Naturstoffe oder abgewandelte Naturstoffe sind Gelier- und Verdickungsmittel hinsichtlich Zuckerbausteine und Molekulargewicht nicht einheitlich aufgebaut. Das Problem der quantitativen Bestimmung dieser Hydrokolloide in Lebensmitteln ist bis heute ungelöst. Diese Arbeit soll einen Beitrag zur Lösung dieses Problems darstellen.

In Lebensmitteln kommen neben Polysacchariden nur noch Polypeptide (Eiweiß) als wasserlösliche Biopolymere vor. Nach Entfernung der Peptide (enzymatisch oder durch Fällung) und der Stärke (enzymatisch) liegen in einem wässrigen Lebensmittelextrakt nur noch Gelier- und Verdickungsmittel und andere je nach Lebensmittel wasserlösliche Polysaccharide (Hemicellulose) als hochmolekulare Stoffe vor (Analysenschema 1). Hochleistungsflüssigchromatographie mit Gelpermeationssäule, gekoppelt mit einem unspezifischen RI-Detektor (Differentialrefraktometer) wird zur Bestimmung dieser hochmolekularen Hydrokolloide herangezogen (Abb. 1). Bedingung für eine quantitative Bestimmung ist die Kenntnis der natürlichen Streubreite der Peakflächen der löslichen Bestandteile der Gelier- und Verdickungsmittel.

Untersuchungen und Resultate

15 untersuchte Gelier- und Verdickungsmittel (14 der Positivliste der Zusatzstoffverordnung (2); Agar, Alginat, Carrageenan, Guar-Gummi, Gummi arabicum, Carubin, Karaya-Gummi, Pektin, Propylenglykolalginat, Tara-Gummi, Tragant, oxidiertes Guar-Gummi, Natriumcarboxymethylcellulose, Xanthan-Gummi; nicht in der Positivliste: Tamarindenkernelmehl) wurden gereinigt und in drei parallel untersuchten Proben die Peakflächen ermittelt. Die Wiederholstandardabweichung innerhalb dieser 3 parallelen Proben beträgt im Mittel 2,6%. Die

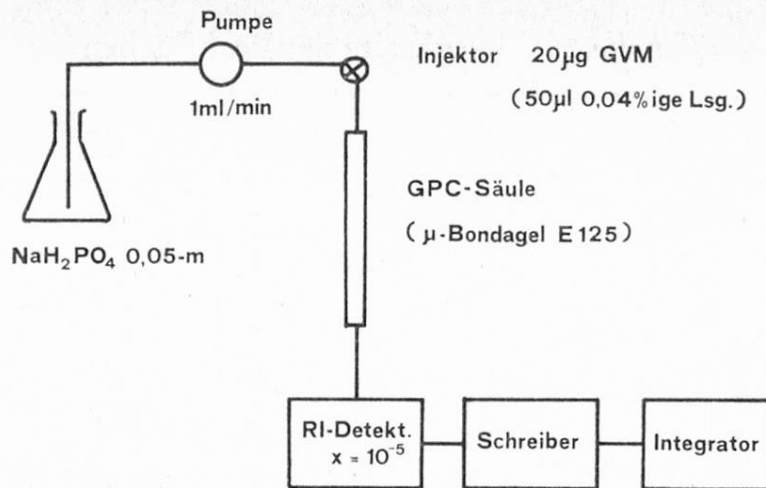
Analysenschema 1. Probevorbereitung zur Gelier- und Verdickungsmittelbestimmung in Lebensmitteln



Mittelwerte der Peakflächen des gleichen Dickungsmittels verschiedener Provenienz mit der dazu gehörenden relativen Standardabweichung sind der Tabelle 1 zu entnehmen.

Die Mittelwerte der Peakflächen dieser 15 untersuchten Dickungsmittelarten (62 Muster unterschiedlicher Provenienz) weisen eine relative Standardabweichung von 10,7% auf. Die Peakflächen sind im untersuchten Konzentrationsbereich von 10—50 mg/100 ml linear. Klare Lösungen höherer Konzentration können bei einzelnen Gelier- und Verdickungsmitteln nicht hergestellt werden. Methylcellulose und analoge Celluloseäther ergeben mit den gewählten Versuchsbedingungen (Abb. 2) keine Peaks. Als Eichstandard für die Praxis bietet sich Natriumcarboxymethylcellulose an. Bei diesem liegen die gefundenen Mittelwerte, die eine sehr kleine Standardabweichung aufweisen, sehr nahe beim Mittelwert aller untersuchten Dickungsmittel. Natriumcarboxymethylcellulose ist in ausreichender Reinheit im Handel erhältlich, so daß sich ohne Reinigungsaufwand Standardlösungen mit bekanntem Gehalt herstellen lassen.

Abbildung 2 zeigt die Häufigkeitsverteilung (Peakflächen) der untersuchten Hydrokolloide. Eine Prüfung der Klassen im Wahrscheinlichkeitsnetz ergibt eine



GVM (Ausschluss ab MG ca. 50 000)

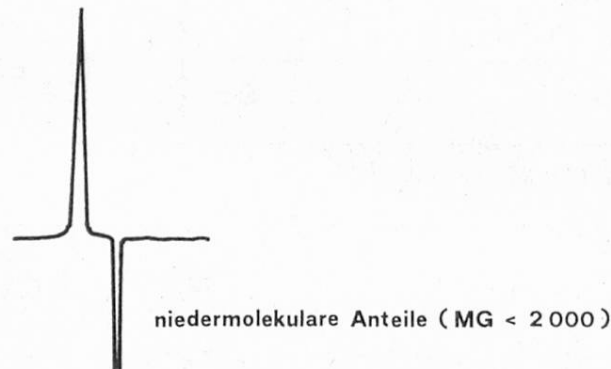


Abb. 1. HPLC-Apparatur mit Chromatogramm

lineare Abhängigkeit. Dies bedeutet, daß die gefundenen Meßwerte normal verteilt sind und somit Angaben über den Streubereich gemacht werden können. Bei $P = 68\%$ liegen die einzelnen Meßwerte im Bereich $\mu \pm s$. Mittelwert und Zentralwert liegen sehr nahe bei 70800. Der Streubereich T für $P = 95\%$ ist ± 15330 . Der Vertrauensbereich des Mittelwertes kann mit ± 1150 angegeben werden.

Diskussion

Mit der nachstehend beschriebenen Methode (ein Chromatogramm dauert lediglich ca. 5 min) lassen sich nun die Gelier- und Verdickungsmittel schnell und quantitativ ermitteln (Abb. 1). Sie liefert aber nur Gehaltsangaben der löslichen hochmolekularen Anteile eines Gelier- und Verdickungsmittels. Löslichkeitsuntersuchungen an Handelsprodukten zeigen jedoch, daß von einigen Ausnahmen abgesehen (Agar-Agar, Karaya-Gummi, Tragant), die meisten der in der Lebensmittelindustrie verwendeten Hydrokolloide wasserlöslich sind. Unlösliche Anteile werden mit der Ballaststoffanalyse erfaßt (3). Die quantitative Isolierung der Gelier- und Verdickungsmittel aus den Lebensmitteln ist im Analysenschema 1 (Fortsetzung Seite 91)

Tabelle 1. Streubreite der Peakflächen

GVM	<i>n</i>	Peakfläche ¹	s %
Agar	1	69 400	—
Alginat	9	76 100	7,7
Carrageenan	10	63 000	6,5
Guar-Gummi	5	72 700	5,0
Gummi Arabicum	5	76 100	7,7
Carubin	5	70 200	5,9
Karaya-Gummi	2	58 500	12,1
Pektin	8	75 100	7,2
Propylenglykolalginat	4	69 300	6,8
Tara-Gummi	2	80 500	8,3
Tragant	3	57 800	5,1
Oxidierter Guar-Gummi	2	77 200	1,8
Natriumcarboxymethylcellulose	4	71 800	1,1
Xanthan-Gummi	1	60 000	—
Tamarindenkernmehl	1	70 600	—
Total 15 verschiedene GVM-Arten	62	70 700	10,7

¹ Mittelwert aus *n* Mustern unterschiedlicher Provenienz (20 µg GVM)*

* *Herkunft der GVM* (Anzahl Muster in Klammern)

Agar: Dänischer Agar (1).

Alginat: Na- und K-Salz: USA (2), England (2), Norwegen (1), Frankreich (1), Japan (2), unbekannte Herkunft (1). Diese Muster stammen aus den Species *Macrocystis pyrifera*, *Laminaria hyperborea*, *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria digitana*.

Carrageenan: Frankreich (5), Kanada (1), Mexiko (1), Chile (1), Philippinen (1), Japan (2). Die Muster aus Frankreich sind nach Molekularstruktur unterschieden in Iota-, Kappa-, Lamda-Carrageenan. Soweit exakte Angaben möglich waren, wurden folgende Spezies untersucht: *Chondrus crispus*, *Gigartina canaliculata*, *Iridea*, *Eucheum cottonii*, *Euchema spinos*.

Guar-Gummi: Muster von 5 verschiedenen Handelsfirmen.

Gummi arabicum: 85% der Weltproduktion stammt aus dem Sudan. Muster von 5 verschiedenen Handelsfirmen wurden untersucht.

Carubin: Stammt aus dem Mittelmeerraum. Muster 5 verschiedener Handelsfirmen wurden untersucht.

Karaya-Gummi: Wird vor allem in Indien gewonnen. Muster von 3 verschiedenen Handelsfirmen, wobei ein Muster ungenügende Löslichkeit zeigte, wurden untersucht.

Pektin: Apfel- und Citruspektin sind die wichtigsten Vertreter. 4 Apfelpektine (Veresterungsgrad 70—74%, 60—64%, 30—35% und niedrigverestert amidiert) und 4 Citruspektine (hoch, mittel-, niedrigverestert und niedrigverestert amidiert) wurden untersucht. ▶

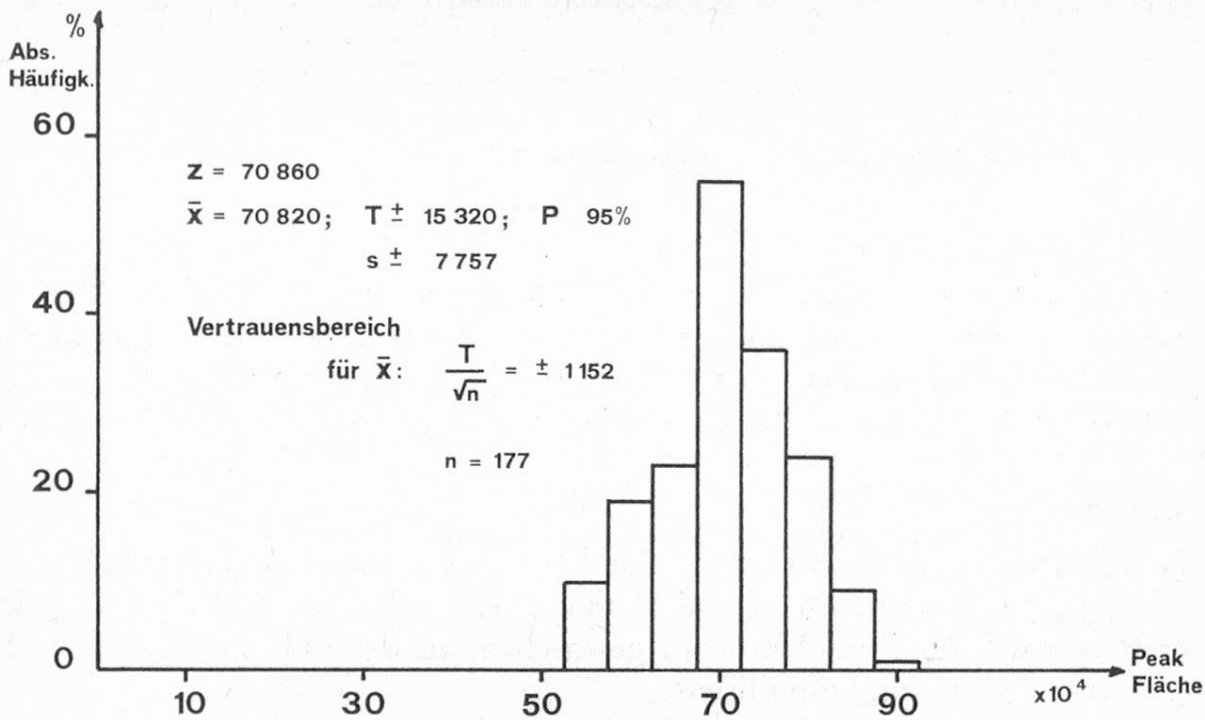


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung

dargestellt. Da erwiesenermaßen Wechselwirkungen (Bindungen) bestehen zwischen Proteinen und Geliermitteln (z. B. Carrageenan), kann deren Isolation Probleme bereiten. Mit enzymatischem Stärke- und Proteinabbau sollte es jedoch möglich sein, diese Wechselwirkungen zu reduzieren. Liegen im Lebensmittel hohe Konzentrationen an Salzen oder kleinen organischen Molekeln (z. B. Zucker) vor, kann die Trennung mit der verwendeten Gelpermeationssäule ungenügend werden. Es muß dann eine Dialyse vorgeschaltet werden oder es muß eine zweite in Serie geschaltete Trennsäule zum Einsatz gelangen. Eventuell kann auch eine kleinere Einspritzmenge in Kombination mit einem empfindlicheren Detektor (z. B. Interferometer) die Auflösung verbessern.

Propylenglykolalginat: USA (1), Japan (1), England (2).

Tara-Gummi: Kommt hauptsächlich aus Peru. Muster von 2 verschiedenen Handelsfirmen wurden untersucht.

Tragant: Stammt vor allem aus dem Iran. Muster von 3 verschiedenen Handelsfirmen wurden untersucht.

Oxidierter Guar-Gummi: Wird in Europa nur von einer Firma hergestellt. 2 Muster des Schweizer Herstellers wurden untersucht.

Natriumcarboxymethylcellulose: 4 Muster der wichtigsten vier Hersteller Europas wurden untersucht.

Xanthan-Gummi: Biopolymeres (1), das vor allem in den USA von einer Firma hergestellt wird.

Tamarindenkernmehl: Wird im asiatischen Raum gewonnen. Ein Muster aus Japan wurde untersucht.

Experimenteller Teil

Reinigung der Gelier- und Verdickungsmittel (GVM)

Es werden je 3 g der GVM wie folgt behandelt:

Agar, Na-Alginat, Carubin, Oxidierter Guar-Gummi

Nach Entfetten mit Aceton wird das GVM mehrmals mit 70%igem Methanol gewaschen, um eventuell vorhandene Salze zu entfernen. Nach dem Waschen mit Aethanol abs. und Trocknen an der Luft wird eine gesättigte, wässrige, klare (Zentrifugieren 15 min bei 14000 U/min) Lösung hergestellt, die lyophilisiert wird.

Carrageenan

Nach Entfetten mit Aceton wird eine klare (zentrifugierte), gesättigte, wässrige Lösung* mit der 4fachen Menge Methanol (gesättigt mit NH_4HCO_3) gefällt. Die Fällung wird 3mal mit Methanol gewaschen, an der Luft getrocknet, in Lösung gebracht (H_2O) und lyophilisiert.

Guar-Gummi, Tragant, Natriumcarboxymethylcellulose, Tamarindenkernmehl

Nach Entfetten mit Aceton wird eine klare (zentrifugierte) gesättigte, wässrige Lösung lyophilisiert.

Pektin

Während 30 min und 2mal während 15 min wird mit der 5fachen Menge saurem Isopropanol (800 ml Isopropanol 70% + 200 ml HCl 1:1) gewaschen. Danach wird mit 70%igem Aethanol so lange gewaschen, bis die Waschlösung Cl^- frei ist. Mit Aethanol abs. wird gewaschen und an der Luft getrocknet. Eine klare (zentrifugierte), wässrige Lösung wird lyophilisiert.

Gummi arabicum, Karaya-Gummi, Tara-Gummi, Xanthan-Gummi

Eine konzentrierte, wässrige Lösung* wird mit dem gleichen Volumen 50%iger Trichloressigsäure versetzt und zentrifugiert. Die klare Lösung wird mit der 4fachen Menge Aethanol abs. gefällt. Die Fällung wird mit Aethanol 80% gewaschen bis neutral. Nach Trocknen an der Luft wird eine wässrige Lösung hergestellt, die lyophilisiert wird.

Propylenglykolalginat

Eine klare (zentrifugierte), gesättigte, wässrige Lösung* wird mit der 5fachen Menge Isopropanol gefällt. Eine mit dem Niederschlag hergestellte wässrige Lösung wird lyophilisiert.

* Außer bei Gummi arabicum (40%ige Lösung) handelt es sich in der Regel um ca. 1%ige Lösungen.

HPLC-Geräte und Parameter

Pumpe	Altex 100 mit Netzfilter
Säule	μ -Bondagel E 125 (Waters), 4,8 x 300 mm (O-CH ₃ Bonded Phase) mit Luftmantel (stabiler Basislinie)
Mobile Phase	0,05 m NaH ₂ PO ₄ 1 ml/min (entgast)
Probenaufgabe	Valco-Valve mit 50 μ l Loop (20 μ g GVM)
RI-Detektor	LDC $x = 1 \cdot 10^{-5}$
Auswertung	Spectra Physics System IV

Der Detektor ist ununterbrochen in Betrieb. Er wurde an der fließenden Kaltwasserleitung thermostatisiert. Um Algenbildung auf der Säule zu vermeiden, wird während den Wochenenden die mobile Phase mit 0,1% NaN₃ versetzt. 40 mg lyophilisiertes GVM werden genau eingewogen, in H₂O gelöst und auf 100 ml aufgefüllt. Die visuell klare Lösung wird mit 5 μ Milipore-Filter filtriert vor der Probenaufgabe. Von jeder Lösung werden 3—4 Einspritzungen ausgeführt.

Dank

Frau K. Völgyi danken wir für die Mithilfe bei den praktischen Arbeiten.

Zusammenfassung

Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) mit Gelpermeationssäule wird gekoppelt mit einem RI-Detektor zur quantitativen Bestimmung der Gelier- und Verdickungsmittel herangezogen. 15 verschiedene GVM-Arten (Agar, Alginat, Carrageenan, Guar-Gummi, Gummi arabicum, Carubin, Karaya-Gummi, Pektin, Propylenglykolalginat, Tara-Gummi, Tragant, Oxidierter Guar-Gummi, Natriumcarboxymethylcellulose (Na-CMC) Xanthan-Gummi, Tamarindenkernmehl) unterschiedlicher Provenienz wurden gereinigt und als 0,04%ige Lösung chromatographiert. Die Peakflächen der untersuchten GVM sind im untersuchten Konzentrationsbereich von 10—50 mg/100 ml linear. Die gefundenen Einzelwerte ($n = 177$) sind normal verteilt und weisen bei $P = 95\%$ einen Streubereich von $\pm 21,6\%$ (rel.) auf. Der Vertrauensbereich des Mittelwertes kann mit $\pm 1,6\%$ (rel.) angegeben werden. Als Eichstandard eignet sich Na-CMC. Methylcellulose und analoge Celluloseäther ergeben mit den Versuchsbedingungen (μ -Bondagelsäule E-125, 1 ml/min 0,05 m NaH₂PO₄, RI-Detektor $x = 1 \cdot 10^{-5}$, 20 μ g GVM pro Spritzung) keinen Peak. Möglichkeiten der quantitativen Isolierung von GVM werden diskutiert.

Résumé

La chromatographie à haute performance (HPLC) avec colonne à gel de silice et détection par réfractométrie est utilisée pour déterminer quantitativement les agents gélifiants et épaississants (AGE).

15 sortes différentes d'AGE (agar, alginates, carraghénane, gomme de guar, gomme arabique, caroubine, gomme karaya, pectine, alginate de propylène glycol, gomme de tara,

gomme adragante, gomme de guar oxydée, carboxyméthylcellulose sodique (Na-CMC), gomme de xanthane, farine de graine de Tamarin) de provenances diverses ont été purifiées et chromatographiées en solutions à 0,04⁰/. Les surfaces des pics des AGE examinés sont linéairement proportionnelles, aux concentrations allant de 10 à 50 mg/100 ml. Les valeurs obtenues ($n = 177$) ont une répartition normale et la dispersion relative est de $\pm 21,6^0$ /% ($P = 95^0$ /%). On peut indiquer comme limite de confiance de la moyenne $\pm 1,6^0$ /%. La carboxyméthylcellulose sodique sert de substance de référence (étalon). La méthylcellulose et les éthers cellulosiques analogues ne donnent pas de pics dans les conditions d'expérience adoptées (colonne μ -Bondagel E-125, 1 ml/min 0,05 m NaH_2PO_4 , détecteur RI sensibilité $x = 1 \cdot 10^{-5}$, injection 20 μg AGE). Les possibilités d'isoler quantitativement, des denrées alimentaires, les AGE sont mentionnées et succinctement expliquées.

Summary

High performance liquid chromatography on a gel permeation column in series with a refractive index detector was used for quantitative determination of thickening agents. Fifteen different agents (agar, alginate, carrageenan, guar gum, gum arabic, carob bean gum, karaya gum, pectin, propylene glycol alginate, Tara gum, gum tragacanth, oxidised guar gum, carboxymethylcellulose (CMC), xanthan gum, Tamarind kernel powder) from different sources were purified and chromatographed as 0.04⁰/% solutions. The peak areas of the gelifying agents examined were directly proportion to the concentration in the range 10 to 50 mg/100 ml. The measured individual values for the peak areas are distributed normally with a deviation range T ($T = s \cdot t$) of $\pm 21.6^0$ /% (rel.) at $P = 95^0$ /%. The confidence limit of the mean value is $\pm 1.6^0$ /% (rel.)

A good standard is CMC. Methylcellulose and analogous cellulose ethers do not give peaks with the experimental conditions used (μ -Bondagel column E-125, 1 ml/min 0.05 m NaH_2PO_4 , RI-detector $x = 1 \cdot 10^{-5}$, 20 μg thickening agent per 50 μl loop-injection).

The possibilities of a quantitative isolation of gelifying agents from foodstuffs are discussed.

Literatur

1. Mergenthaler, E., Scherz, H. und Schmolck, W.: Beiträge zur Analytik von Polysacchariden, die als Lebensmittelzusatzstoffe verwendet werden. Z. Lebensm. Untersuch.-Forsch. **152**, 87—99; 263—273 (1973); **155**, 193—202 (1974); **162**, 25—29; 159—162 (1976); **166**, 225—227 (1978).
2. Verordnung über die in Lebensmitteln zulässigen Zusatzstoffe (Zusatzstoffverordnung) vom 31. Oktober 1979. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1979.
3. Elchazly, E. und Thomas, B.: Ueber eine biochemische Methode zur Bestimmung der Ballaststoffe und ihren Komponenten in pflanzlichen Lebensmitteln. Z. Lebensm. Untersuch.-Forsch. **162**, 329—340 (1976).

Dr. H. R. Hunziker
Dr. A. Miserez
Bundesamt für Gesundheitswesen
Abteilung Lebensmittelkontrolle
Haslerstraße 16
CH-3008 Bern