

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 56 (1965)

Heft: 2

Artikel: Gelatinenachweis, besonders in Yoghurt und Quark, mit Hilfe der Papierelektrophorese

Autor: Padmoyo, M. / Miserez, A.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-982194>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 02.02.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Gelatinenachweis, besonders in Yoghurt und Quark, mit Hilfe der Papierelektrophorese

Von *M. Padmoyo* und *A. Miserez*

Eidg. Gesundheitsamt, Unterabteilung Lebensmittelkontrolle, Bern

1. Einleitung

Gelatine gehört zu den im Artikel 443bis der eidg. Lebensmittelverordnung (LMV) aufgeführten Gelier- und Verdickungsmittel, deren Verwendung zulässig ist (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1 Zulässige Gelier- und Verdickungsmittel (LMV, Artikel 443 bis)

a) <i>Naturstoffe:</i>	Gelatine — Pektinstoffe — Galaktomannane (Carubin, Guaran) — Stärkeprodukte — Agar-Agar — Carrageen — Alginat — Tragant — Gummi arabicum.
b) <i>Derivate von Naturstoffen:</i>	Methylzellulose — Carboxymethylstärke — Carboxymethylzellulose.
c) <i>Andere Produkte:</i>	Nach erfolgter Genehmigung durch das Eidg. Gesundheitsamt.

Gelier- und Verdickungsmittel sind als solche keine eigentliche Nahrungsmittel sondern Zusatzstoffe, obwohl einige von ihnen wie zum Beispiel Stärke und in vermindertem Maße Gelatine und Pektinstoffe wichtige Bestandteile unserer Nahrung bilden. Die andern zugelassenen Gelier- und Verdickungsmittel sind gesundheitlich unbedenkliche Zusatzstoffe, die in der Literatur als solche erwähnt werden (siehe z. B.: 7e rapport du Comité mixte FAO/OMS, 1964). Sie werden Lebensmitteln nur in geringer Menge zugesetzt um Wasser zu binden und bestimmten Produkten eine gewisse Konsistenz zu verleihen. Vom Organismus werden sie manchmal überhaupt unverändert ausgeschieden, wie zum Beispiel Johannisbrotkernmehl (Carubin). Ihr Zusatz in bestimmten Mengen zu Lebensmitteln ist gemäß Artikel 9 der LMV nur in solchen Fällen zulässig wo dies ausdrücklich erlaubt ist (siehe Tabelle 2). Da Gelier- und Verdickungsmittel beträchtliche Mengen Wasser zu binden vermögen, würde eine nicht beschränkte Verwendung dieser Stoffe den Nährwert unserer Nahrung herabsetzen und leicht zu einer Täuschung des Konsumenten führen.

Tabelle 2

Lebensmittel in denen der Zusatz von Gelier- und Verdickungsmittel erlaubt ist	Artikel der LMV	Zulässige Substanzen und deren höchstzulässige Konzentration
1. Milchmischgetränke ¹	75bis	a)* und b)*; bis 0,2 ‰.
2. Rahmeis (Ice-Cream)	78	Gelatine; bis 0,6 ‰.
3. Salatsaucen	118bis	a)* und b)* mit Ausnahme von Gelatine, Stärke, Mehl und Dextrin; Konzentration nicht festgelegt.
4. Sulzen	123	Gelatine; Konzentration nicht festgelegt.
5. Pudding- und Crèmepulver	159	a)* und b)*; bis 25 ‰.
6. Spinatkonserven	208	Mehl; bis 1 ‰ als Stärke.
7. Speiseeis	247	Gelatine, Traganth, Pektin oder pektinähnliche Stoffe; bis 0,6 ‰
8. Fruchtgelées, Konfitüren	255, 257	Pektinstoffe; Konzentration nicht festgelegt.
9. Brotaufstrich	258	a)* und b)*; Konzentration nicht festgelegt.
10. Tafelsenf	326	Reismehl, Stärkemehl 10 ‰.

* Siehe Tabelle 1.

¹ Fruchtyoghurt wird im Artikel 75bis der LMV (Milchmischgetränke) erwähnt. Da es sich nicht um ein Getränk handelt, dürfen keine Gelier- und Verdickungsmittel zugesetzt werden. Eine Revision der Artikel 75 (Yoghurt) und 75bis (Milchmischgetränke) der LMV ist im Gang; die Frage des Zusatzes von Gelatine als Stabilisator zu Fruchtyoghurt wird bei dieser Gelegenheit geprüft werden.

Als hochmolekulare Stickstoffverbindung unterscheidet sich Gelatine von den andern zulässigen Gelier- und Verdickungsmitteln, welche hochmolekulare Polysaccharide sind. Letztere können nach Fällung mit Bleiacetat durch Papierchromatographie ihres sauren Hydrolysats (Identifizierung der verschiedenen in dieser Weise erhaltenen Zuckerarten und Uronsäuren) nachgewiesen werden (siehe *H. Sulser*, 1957). Die papierchromatographische Untersuchung eines Hydrolysats könnte auch bei Gelatine eine Orientierung über ihre Anwesenheit bieten. Dieser Eiweißkörper (die Gelatine) enthält in der Tat mehr Prolin und Hydroxyprolin als andere in Lebensmitteln vorhandenen Proteine (*Block und Bolling*, 1951). Geht es darum eine derart kleine Menge Gelatine zu bestimmen wie sie zum Beispiel für Milchmischgetränke zugelassen ist (max. 0,2 ‰) oder muß sichergestellt werden, daß Produkte wie Yoghurt oder Quark frei von Gelatine sind, dann ist eine solche Methode wie auch diejenigen, die im Schweizerischen Lebensmittelbuch 4. Auflage (1937) zum Nachweis von Gelatine in Rahm, Konfitüren, Fruchtgelées und Schokolade angegeben sind, ungenügend.

Walser und *Bohl* (1963) haben eine Methode beschrieben, die einen eventuellen Zusatz von Gelatine in Yoghurt und Quark mit Hilfe der Papierelektrophorese nachzuweisen gestattet. Die Papierelektrophorese hat im Verlauf der letzten zehn Jahre ihre Anwendung auf dem Gebiet der Lebensmittelchemie vor allem bei der Untersuchung von Proteinen gefunden (siehe z. B. *Padmoyo* und *Högl*, 1962). Sie ist ein schnell durchführbares, empfindliches, billiges, für Routineuntersuchungen geeignetes Verfahren. Die Eiweißkörper werden bei dieser Untersuchungsmethode in ihrer nativen Form auf einem Papierstreifen unter Einfluß eines angelegten elektrischen Feldes zum Wandern gebracht. Die aus der Wanderungsgeschwindigkeit abgeleitete elektrophoretische Beweglichkeit ist unter standardisierten Versuchsbedingungen eine stoffeigene, charakteristische Größe. Dank dieser Stoffkonstante ist es möglich, einen eventuellen Zusatz von Gelatine in Nahrungsmitteln papierelektrophoretisch eindeutig nachzuweisen. Außerdem lassen sich die gefärbten Elektropherogramme mittels Transparenzphotometrie auswerten, wodurch die Papierelektrophorese auch die Möglichkeit einer Bestimmung der zugesetzten Gelatine bietet. Die gleichzeitige Anwesenheit von anderen Verdickungsmitteln stört den Gelatinenachweis nicht, weil sie keine Proteine sind und bei der Eiweißfärbung nicht auf die verwendeten Färbstoffe ansprechen. Störend wirken könnten hingegen andere Eiweißkörper wie Milcheiweiß. Bei der Isolierung der Gelatine aus Yoghurt und Quark läßt sich das Milcheiweiß jedoch praktisch vollständig entfernen. Auch wenn die isolierte Gelatine kleine Verunreinigungen von Milcheiweißresten enthält, ist unserer Erfahrung nach eine saubere Auftrennung der Eiweiße mit Hilfe der Papierelektrophorese gut möglich.

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, die von *Walser* und *Bohl* (1963) beschriebene Arbeitsmethode zu überprüfen und zu untersuchen, ob sich nicht eine Vereinfachung vornehmen oder eine Verbesserung finden ließe. Mit der von uns modifizierten Methode haben wir Proben verschiedener auf dem Markt erhältlichen Yoghurt- und Quarkprodukte auf die Anwesenheit von Gelatine untersucht.

Wir haben diese Methode nicht auf andere Lebensmittel angewendet; ohne Zweifel sollte sie sich aber zum Nachweis und zur Bestimmung von Gelatine in den verschiedensten Lebensmitteln auch sehr gut eignen.

2. Die Isolierung der Gelatine aus Yoghurt und Quark

Wenn Gelatine in Yoghurt oder Quark im Widerspruch zur LMV zugesetzt worden ist, so kommt sie meistens nur in sehr geringen Mengen (etwa 0,1 bis 0,5 %) in den betreffenden Lebensmitteln zur Anwendung. Um diese Menge Gelatine für die papierelektrophoretische Untersuchung zugänglich zu machen, ist es erforderlich, vor der Untersuchung das Milcheiweiß zu entfernen und die Gelatine anzureichern. Für die Isolierung von Gelatine aus Yoghurt oder Quark ist es ein sehr günstiger Umstand, daß Gelatine im heißen wäßrigen Auszug löslich ist, während das Milcheiweiß des Yoghurts oder des Quarks bei pH 3—4 hitzeokoagulierbar ist.

Nach der Isolierungsmethode von *Walser* und *Bohl* (1963) werden 20 g Yoghurt oder Quark mit 100 ml dest. Wasser 20 Minuten im Wasserbad gekocht, filtriert, und das Filtrat im Vakuum-Trockenschrank bei 40—60 ° C eingedampft. Der Rückstand wird mit 10 ml Wasser von 40 ° C aufgenommen und über Nacht gegen fließendes Leitungswasser dialysiert. Das Dialysat wird zur Trockne eingedampft, und der Rückstand in 1 ml dest. Wasser bei 30 ° C gelöst. Von dieser konzentrierten Lösung werden 0,01 ml auf die Startlinie des trockenen Elektrophoresepapierstreifens aufgetragen.

Wir haben diese Arbeitsmethode etwas modifiziert. Nach unserer modifizierten Methode (siehe Abschnitt 5) wird an Stelle eines Vakuum-Trockenschrankes ein Vakuumrotationsverdampfer verwendet. Die Dialyse des Gelatinekonzentrats wird weggelassen.

Das Eindampfen in einem Vakuumrotationsverdampfer geht schneller als in einem Vakuumtrockenschrank. Das Dialysieren hat offenbar den Zweck, Salzionen aus der Lösung zu entfernen, wodurch noch vorhandenes Milcheiweiß abgeschieden und abgetrennt werden kann. Wir haben die Dialyse weggelassen, weil sie für den Gelatinenachweis nicht unbedingt notwendig ist. Erstens haben wir keinen wesentlichen Einfluß der in Yoghurt und Quark nicht entfernten Ionen auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Gelatine festgestellt, und zweitens hat es sich gezeigt, daß kleine Mengen Milcheiweiß, die eventuell noch im Konzentrat zurückgeblieben sind, papierelektrophoretisch von der Gelatine vollkommen getrennt werden können und den Gelatinenachweis nicht stören (siehe Abschnitt 4.1). Wir haben mit größeren Probemengen Yoghurt oder Quark gearbeitet, damit wir entsprechend mehr dest. Wasser zum Auflösen des Eindampfrückstandes verwenden können, was das Auflösen quantitativer und angenehmer macht als mit wenig Wasser arbeiten zu müssen.

Wenn das Konzentrat mehr als 1 % Gelatine enthält, zeigt es nach mehrstündigem Stehenlassen im Kühlschranks eine Gelbildung. Diese Erscheinung ist ein Hinweis auf die Gegenwart eines Verdickungsmittels, nicht aber direkt auf Gelatine, weil Agar-Agar z. B. auch die gleiche Gelbildung hervorrufen kann.

3. Papierelektrophorese der Gelatine

3.1. Versuchsbedingungen

Walser und *Bohl* (1963) haben für die papierelektrophoretische Untersuchung der Gelatine die Elphor-Elektrophoresekammer und das Elektrophoresepapier Schleicher & Schüll Nr. 2043a vom Format 29,9×4,5 cm verwendet. Als Versuchsbedingungen haben sie die folgenden gewählt:

- a) Veronal-Acetat Pufferlösung von pH 8,6 und Ionenstärke $\mu = 0,1$,
- b) Klemmspannung von 110 Volt,
- c) Konzentratmenge von 0,01 ml,
- d) anodische Wanderung der Gelatine,

- e) Versuchstemperatur von 28—30 ° C (durch Erwärmung der Elektrophoresekammer mittels einer 250 Watt Infrarotlampe).

Bei den erwähnten Versuchsbedingungen ist die Erwärmung der Elektrophoresekammer auf 28—30 ° C notwendig, weil sonst die Wanderung der Gelatine gehemmt ist. Diese Schwierigkeit haben wir nicht durch Erwärmung der Elektrophoresekammer überwunden, sondern durch Arbeiten bei einer höheren Klemmspannung (220 Volt) und Gebrauch einer Pufferlösung von größerem pH-Wert (pH = 10) (siehe Abschnitt 5).

3.2. Anfärbung und Auswertung der Pherogramme

Nach der Papierelektrophoretischen Auftrennung werden die auf dem Pherogramm anwesenden Eiweißkörper durch geeignete Färbung sichtbar gemacht. Die für Eiweißfärbung meistverwendeten Farbstoffe sind Amidoschwarz 10 B, Azokarmin G oder B, und Bromphenolblau.

Walser und *Bohl* (1963) haben die Pherogramme mit einer gesättigten Lösung von Azokarmin G oder B in einer Mischung von 90 % Methanol und 10 % Eisessig angefärbt. Anstatt mit Azokarmin G oder B haben wir die Anfärbung der Pherogramme mit Amidoschwarz 10 B durchgeführt. Ein Vergleich zwischen der Anfärbung von Gelatine mit Azokarmin G und derjenigen mit Amidoschwarz 10 B hat uns gezeigt, daß die Gelatine sich viel intensiver mit Amidoschwarz 10 B anfärben läßt (siehe Abschnitt 4.2). Bei der photometrischen Auswertung der gefärbten Pherogramme hat die Amidoschwarzfärbung noch den Vorteil, daß sie unter den genannten drei Farbstoffen nicht nur das breiteste Maximum der Extinktion hat, sondern auch die höchsten Extinktionswerte zeigt. (*Graßmann* und *Hannig*, 1954).

Die Auswertung der gefärbten Pherogramme erfolgte durch direkte Photometrierung des transparent gemachten Pherogrammstreifens. Als Transparenzflüssigkeit verwendeten wir Anisol. Aus den Meßergebnissen konnten die Extinktionsdiagramme erhalten und die Kurvenflächen mit einem Planimeter ausgemessen werden. Für die Auswertung der Elektropherogramme wurden die von *Hellhammer* und *Högl* (1958) angegebene Apparatur und Arbeitsmethode verwendet, welche im Abschnitt 5 beschrieben sind.

4. Versuchsergebnisse

4.1. Trennung von Gelatine und Milcheiweiß

Mit den Versuchsbedingungen, die wir in der Arbeitsvorschrift (Abschnitt 5) geben, ist uns nicht nur die Überwindung der Wanderungsträgheit der Gelatine, sondern auch eine saubere Trennung der Gelatine von eventuell noch im Konzentrat zurückgebliebenem Milcheiweiß gelungen (siehe Abbildung 1 und 2).

Abbildung 1 Pherogramme



Erläuterungen zur Abbildung 1:

1.1: 0,02 ml Vollmilch
1.2: 0,02 ml Vollmilch + 100 μg Gelatine
1.3: 100 μg Gelatine
Bei einem Eiweißgehalt von 3% würden 0,02 ml Vollmilch etwa 600 μg Eiweiß enthalten.

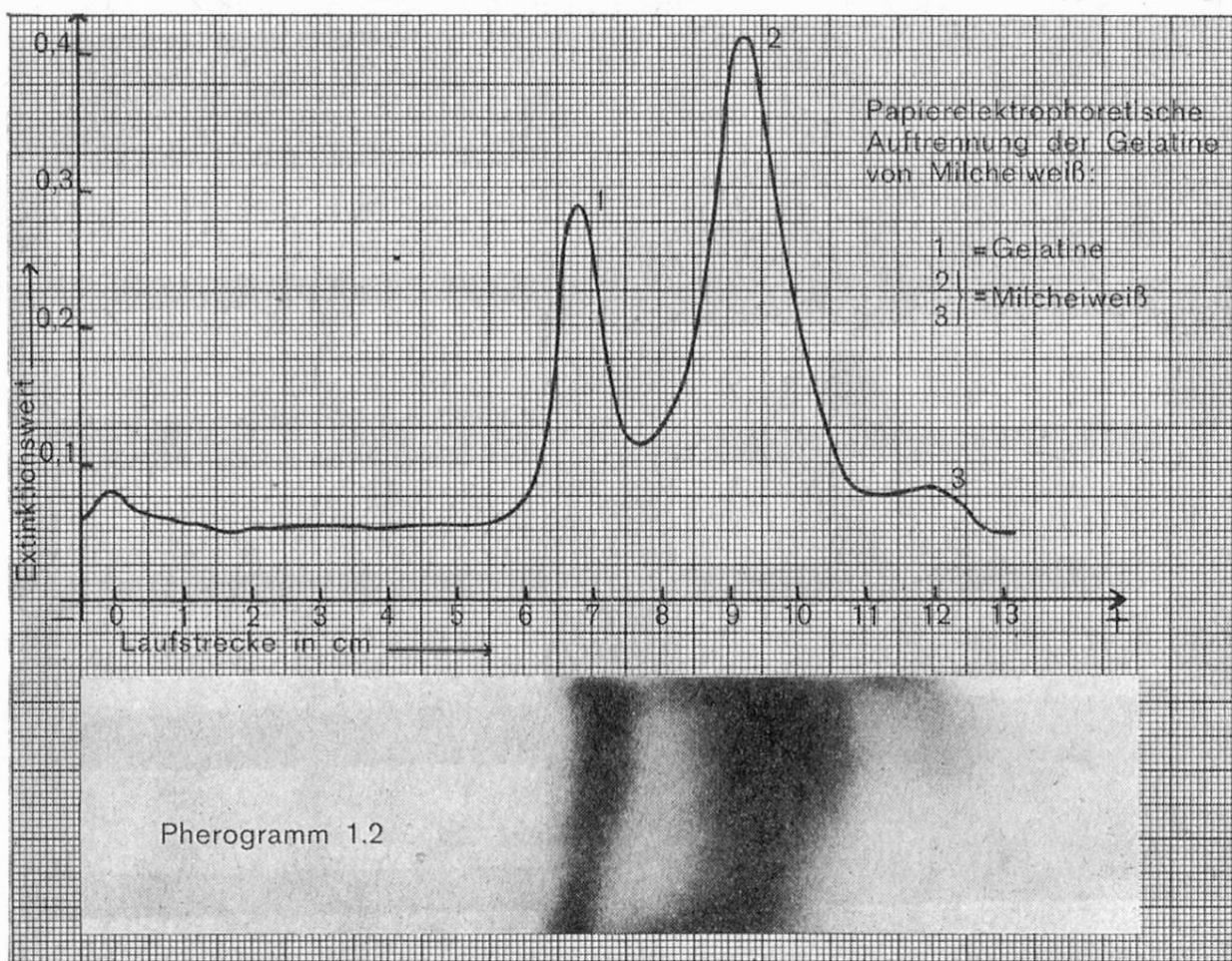
2.1: gelatinefreier Yoghurt
2.2: gelatinehaltiger Yoghurt
2.3: gelatinefreier Quark
2.4: gelatinehaltiger Quark
2.5: 200 μg Gelatine

Abbildung 2 zeigt das Extinktionsdiagramm, das nach Auswertung des Pherogramms 1.2 (siehe Abbildung 1) mittels der Transparenzphotometrie erhalten worden ist.

Bei den Pherogrammen 1.1 und 1.2 (siehe Abbildung 1) wurde die Milch bei der Papierelektrophorese im nativen Zustand ohne vorherige Behandlung aufgetragen. Die zwei Komponenten des Milcheiweißes (Komponenten 2 und 3 in Abbildung 2) wanderten schneller als die einzige Komponente der Gelatine (Komponente 1 in Abbildung 2). Bei den gewählten Versuchsbedingungen betrug die Laufstrecke der Gelatine 6,8 cm und diejenige der zwei Milcheiweißkomponenten 9,2 bzw. 11,9 cm.

Bei den Pherogrammen 2.1, 2.2, 2.3 und 2.4 (Abbildung 1) wurden die untersuchten Produkte zur Isolierung der Gelatine auf einem kochenden Wasserbad

Abbildung 2



Extinktionsdiagramm des Pherogramms 1.2

erhitzt. Bei dieser Hitzebehandlung blieb die Gelatine in Lösung, während das Milcheiweiß gefällt und abzentrifugiert werden konnte. Das noch in der Lösung etwas zurückgebliebene, denaturierte Milcheiweiß ist bei der Papierelektrophorese auf der Auftragsstelle liegen geblieben.

Im Falle einer nicht vollständigen Entfernung und Denaturierung des Milcheiweißes bei der Isolierung der Gelatine aus Yoghurt oder Quark, was bei einer zu kurzen Hitzebehandlung passieren würde, könnte das noch im Konzentrat zurückgebliebene Milcheiweiß neben einem auf der Auftragsstelle liegen gebliebenen denaturierten Teil auch wanderungsfähige Eiweißbanden wie bei den Pherogrammen 1.1 und 1.2 (Abbildung 1) zeigen. Bei dem Gelatinenachweis ist es deswegen zu empfehlen zum Vergleich eine reine Gelatinelösung unter den gleichen Versuchsbedingungen parallel wandern zu lassen (Pherogramm 1.3 und 2.5) (Abbildung 1).

4.2 Anfärbungsversuch

Bei dem Anfärbungsversuch haben wir einen Vergleich zwischen der Anfärbung von Gelatine mit Azokarmin G und derjenigen mit Amidoschwarz 10 B

durchgeführt. Aus der Auswertung der gefärbten Pherogramme mittels Transparenzphotometrie und anschließender Ausmessung der Kurvenflächen haben sich die folgenden Resultate ergeben (Tabelle 3):

Tabelle 3 Anfärbungsversuch

Gelatinemenge (in μg)	Gemessener Kurvenflächenwert (in mm^2)	
	Anfärbung mit Azokarmin G	Anfärbung mit Amidoschwarz 10 B
50	Eiweißband nicht sichtbar	188
100	Eiweißband sichtbar, jedoch nicht auswertbar	424
150	Eiweißband sichtbar, jedoch nicht auswertbar	632
200	92	780

Wenn wir den Kurvenflächenwert pro μg Gelatine als Maß für die Anfärbbarkeit anwenden, so beträgt die Anfärbbarkeit der Gelatine gegenüber Amidoschwarz 10 B etwa 4 mm^2 pro μg^* und gegenüber Azokarmin G etwa $0,5 \text{ mm}^2$ pro μg^{**} . Gelatine läßt sich also mit Amidoschwarz 10 B etwa achtmal stärker anfärben als mit Azokarmin G. Zur Auswertung der gefärbten Pherogramme mittels Transparenzphotometrie müssen bei der Anfärbung mit Azokarmin G mindestens $200 \mu\text{g}$ Gelatine vorliegen, während bei der Anfärbung der Gelatine mit Amidoschwarz 10 B diese Mindestmenge weniger als $50 \mu\text{g}$ beträgt.

4.3. Ausbeute bei der Isolierung von Gelatine aus Yoghurt

Zur Untersuchung der Ausbeute bei der Isolierung von Gelatine aus Yoghurt haben wir Yoghurtproben mit verschiedenem Gehalt an Gelatine hergestellt. Der Gelatinezusatz wurde von 0 bis 400 mg pro 100 g Milch variiert***.

Die Isolierung der Gelatine aus den hergestellten Yoghurtproben erfolgte nach unserer im Abschnitt 5 beschriebenen modifizierten Methode. Von den 10 ml Konzentrat wurden jedoch nicht $10 \mu\text{l}$ sondern nur $5 \mu\text{l}$ bei der papierelektrophoretischen Untersuchung aufgetragen, damit nicht nur bei den Proben mit niedrigem sondern auch bei denjenigen mit hohem Gelatinegehalt die gebundene Farbstoffmenge der Gelatinemenge proportional sei. Bei zu großer Gelatinedichte würde die Farbstoffaufnahme nicht gleichmäßig und vollständig erfolgen, und es würden Abweichungen vom *Lambertschen* Gesetz auftreten. Nach *Simon* (1957) beträgt die kritische Eiweißdichte bei Blutserumalbumin $0,3 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ und nach

* Mittlerer Kurvenflächenwert pro μg Gelatine berechnet aus den Zahlen in den Kolonnen 1 und 3 der Tabelle 3.

** Berechnet aus 92 mm^2 pro $200 \mu\text{g}$.

*** Der Verbandsmolkerei Bern danken wir bestens für die freundliche Zustellung der Yoghurtkulturen.

Heide und Biel (1959) $0,6 \mu\text{g}/\text{mm}^2$. Bei unsern Versuchen variierten die Gelatinebanden der Pherogramme zwischen 300 und 350 mm^2 ; die Gelatinedichte betrug also zwischen $0,15$ und $0,6 \mu\text{g}/\text{mm}^2$.

Die Meßergebnisse lauten wie in nachstehender Tabelle 4 angegeben:

Tabelle 4 Ausbeute der Gelatineisolierung

Gelatine in 100 g Probe (in mg)	Erwartete Gelatinemenge in $5 \mu\text{l}$ des Konzentrats		Gemessene Kurvenfläche (in mm^2)	Ausbeute der Gelatineisolierung (in %)
	(in μg)	Kurvenfläche in mm^2 *		
0	0	0	0	0
100	50	188	116	62
200	100	424	312	73
300	150	632	432	68
400	200	780	656	84

* Siehe Tabelle 3.

Wie aus den Resultaten in Tabelle 4 zu ersehen ist, ist die Ausbeute der Gelatineisolierung bei 400 mg Gelatinegehalt in der Probe deutlich höher als bei den niedrigen Gehalten. Offenbar war ein gewisser Minimumverlust an Gelatine bei der Ausfällung des Milcheiweißes unvermeidlich. Die Ausbeute der Gelatineisolierung, die ja nach Apparatur und Arbeitsweise schwanken könnte, soll bei der quantitativen Gelatinebestimmung mit in Betracht gezogen werden. Der Ausbeutefaktor läßt sich aus den folgenden Zahlenwerten ableiten: aus den Zahlen in den Kolonnen 2 und 4 der Tabelle 4 ergibt sich ein mittlerer Kurvenflächenwert von $2,9 \text{ mm}^2/\mu\text{g}$, während dieser bei der direkten Papierelektrophorese der Gelatine (siehe Abschnitt 4.2) $4 \text{ mm}^2/\mu\text{g}$ beträgt. Der Ausbeutefaktor ist in diesem Fall, abgerundet, $\frac{4 \text{ mm}^2/\mu\text{g}}{3 \text{ mm}^2/\mu\text{g}} = 1,33$.

4.4. Untersuchung von Marktprodukten

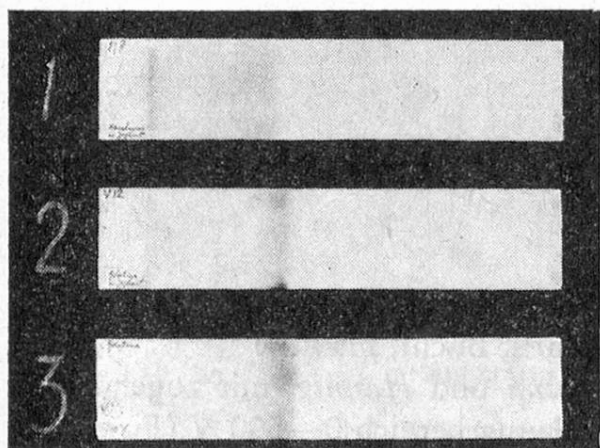
Nachdem wir die Isolierungs-, Anreicherungs- und Nachweismethode der Gelatine mit Modellproben getestet haben, sind wir zu der Untersuchung von auf dem Markt erhältlichen Yoghurt- und Quarkprodukten übergegangen. Im Frühling letzten Jahres haben wir 6 Proben von vier Quarken sowie 39 Proben von fünf Yoghurtmarken im Handel erhoben und auf die Anwesenheit von Gelatine untersucht. In einigen Fällen sind wir wegen der Anwesenheit von Zucker und Haselnuß in gewissen Yoghurtarten auf Schwierigkeiten gestoßen.

Die Yoghurtproben mit Fruchtzusatz sind meistens gezuckert worden. Bei der Auftrennung von Gelatine von dem gefällten Milcheiweiß durch Abzentrifugieren

bleibt der Zucker zusammen mit der Gelatine im Zentrifugat in Lösung zurück. Nach dem Eindampfen des Zentrifugats wurde ein sehr dickflüssiges Konzentrat (siehe Abschnitte 2 und 5) erhalten. Das Auftragen dieses Konzentrats mit einer Mikropipette war sehr mühsam. Diese Schwierigkeit haben wir durch Verdünnen des Konzentrats mit dest. Wasser von 10 ml auf 15 ml überwunden. Anstatt 10 μ l wurden 15 μ l Konzentrat bei der papierelektrophoretischen Untersuchung aufgetragen. Bei dieser Menge Konzentrat wurde kein Einfluß des Zuckers auf die Wanderungsgeschwindigkeit der Gelatine festgestellt. Wir konnten aber die aufgetragene Konzentratmenge nicht beliebig erhöhen; bei mehr als 40 μ l Konzentrat wurde eine Verzerrung des Gelatinebandes durch den Zucker hervorgerufen.

Bei der Untersuchung von haselnußhaltigen Yoghurtproben enthielt das Konzentrat einen Extrakt des Haselnußmehles. Das wasserlösliche Eiweiß der Haselnuß stellte beim Gelatinenachweis ein zusätzlicher Störfaktor dar. Das Haselnußeiweiß wanderte ungefähr gleich schnell wie die Gelatine, zeigte jedoch ein anderes Bild des Eiweißbandes. Es ist nämlich nicht scharf abgegrenzt. Offenbar war bei der Hitzebehandlung des Yoghurts eine Zerstörung des Haselnußeiweißes eingetreten. Beim Umpolen der Elektrophoresekammer, d. h. bei einer kathodischen Wanderung, konnte ein deutlicherer Unterschied festgestellt werden, indem Gelatine noch gut abgegrenzte Banden zeigte, während das Haselnußeiweiß auf dem Pherogramm über die ganze Wanderungsstrecke gleichmäßig verteilt war (siehe Abbildung 3).

Abbildung 3



Unterschied zwischen den Pherogrammen von Gelatine und Haselnußeiweiß

Erläuterungen zur Abbildung 3:

- 1 = haselnußeiweißhaltiger Yoghurt.
- 2 = gelatinehaltiger Yoghurt.
- 3 = reine Gelatine.

Die Fruchtfarbstoffe in den Yoghurtproben mit Fruchtzusatz waren auf den fertigen Pherogrammen nicht mehr sichtbar und hatten also keine störende Wirkung auf den Gelatinenachweis.

Bei der Untersuchung von Quark fiel der Gelatinenachweis bei 2 von den 6 untersuchten Proben, und bei Yoghurt bei 9 von den 39 erhobenen Proben positiv aus. Bei den Proben, bei denen der Gelatinenachweis positiv ausfiel, betrug der Gelatinegehalt in Quark 0,18—0,20 %, in Nature- und Mokka-Yoghurt 0,23 bis 0,24 % und in den Yoghurtproben mit Fruchtzusatz 0,12—0,16 % (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5 Resultate der Proben, bei denen der Gelatinenachweis positiv war

Untersuchte Produkte	Probe- menge in g	Menge Konzentrat		Kurvenfläche		Gelatinemenge		Gela- tine- gehalt in %
		insge- samt in ml	aufge- tragen in μ l	gemes- sen in mm ²	x Aus- beute- faktor von 1,33 in mm ²	nach Kurven- fläche in μ g	in der gesam- ten Probe in g	
<i>Yoghurt:</i>								
Nature	100	10	10	730	975	244	0,244	0,24
mit Mokka	100	15	15	688	915	228	0,228	0,23
mit Ananas	100	15	15	476	635	159	0,159	0,16
mit Orange	100	15	15	380	505	127	0,127	0,13
mit Brombeer	100	15	15	400	600	150	0,150	0,15
mit Himbeer	100	15	15	366	485	122	0,122	0,12
mit Erdbeer	100	15	15	480	640	160	0,160	0,16
mit Heidelbeer	100	15	15	428	570	142	0,142	0,14
Oriental (mit Feigen, Rosi- nen, Sultaninen, Mandeln)	100	15	15	430	575	144	0,144	0,14
<i>Quark:</i>								
Rahmquark	100	10	10	528	705	176	0,176	0,18
Speisequark	100	10	10	584	780	195	0,195	0,20

5. Arbeitsvorschrift

Spezialapparate:

Zentrifuge (Umdrehungszahl bis 3500 U/Min.).

Vakuum-Rotationsverdampfer (Glasapparatefabrik Büchi, Flawil).

Elphor-H Elektrophoresekammer nach *Graßmann* und *Hannig*, mit zugehörigem Gleichrichter und Regeltransformator; Spannungsbereich 0—500 V (Firma Dr. Bender & Dr. Hobein, München, Zürich).

Voltmeter (Maximalspannung: 600 Volt).

Ampèremeter (Maximalstromstärke: 200 Milliampère).

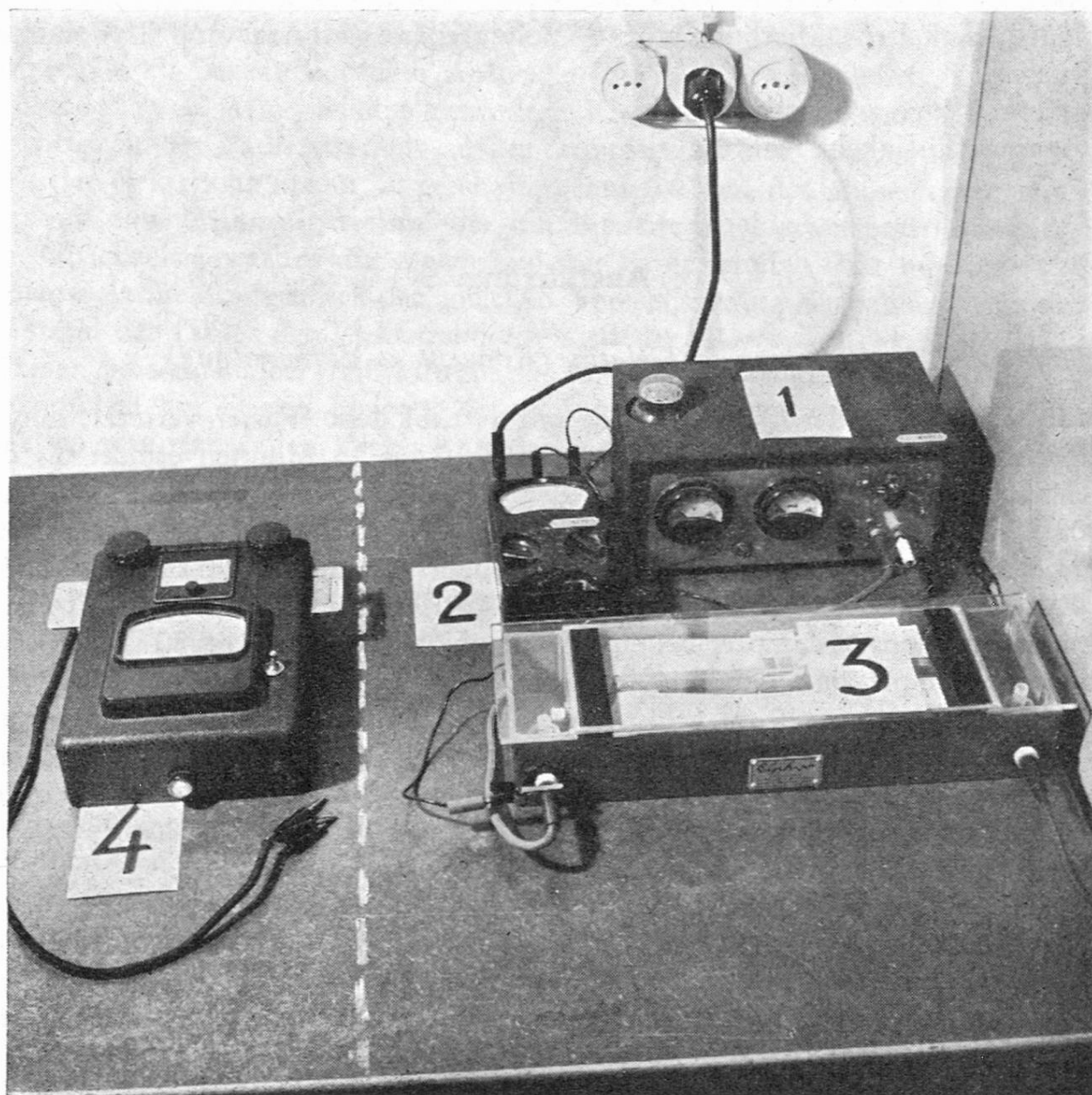
Elphorstreifenpapier Nr. 2043 b. Gl., Format 3,9×31,5 cm. (Firma Schleicher & Schüll AG, Feldmeilen, Zürich).

Rechteckiger Glasrahmen zum Trocknen der Pherogramme, durch Biegen von Glasstab über der Flamme hergestellt.

Photometer zur Auswertung der Pherogramme (Firma Dr. Bender & Dr. Hobein, München, Zürich).

Planimeter zur Ausmessung der Kurvenflächen (nicht unbedingt notwendig).

Abbildung 4



Apparatur zur Papierelektrophorese

Erläuterungen zur Abbildung 4:

- 1 = Gleichrichter und Regeltransformator.
- 2 = Volt- und Ampèremeter.
- 3 = Elektrophoresekammer nach Graßmann und Hannig (1954).
- 4 = Photometer zur Auswertung der Pherogramme.

Reagenzien:

Natriumkarbonat-Natriumhydrogenkarbonat Puffer ($\text{pH} = 10$ und Ionenstärke $\mu = 0,15$): 750 ml einer 0,1-molaren Natriumkarbonatlösung, 750 ml einer 0,1-molaren Natriumhydrogenkarbonatlösung und 500 ml destilliertes Wasser mischen.

Färbebad: gesättigte (etwa 0,8%ige) Lösung von Amidoschwarz 10 B in einer Mischung von 9 Volumteilen Methanol und 1 Volumteil Eisessig.

Elutionsflüssigkeiten: Mischung von 9 Volumteilen Methanol und 1 Volumteil Eisessig.

Essigsäure: 5%ige wässrige Lösung.

Transparenzflüssigkeit: Anisol puriss.

Ausführung

Isolierung und Anreicherung der Gelatine (Konzentrat-Vorbereitung)

100 g Yoghurt oder Quark werden mit 100 ml dest. Wasser versetzt, durchgerührt und auf einem kochenden Wasserbad 10 bis 15 Minuten erhitzt bis das Milcheiweiß koaguliert. Das Ganze wird anschließend während 5 Min. bei 3000 U/Min. warm zentrifugiert. Die auf der Oberfläche des Zentrifugats treibende Fettschicht wird entfernt, das Zentrifugat gesammelt, erhitzt, und durch ein Faltenfilter von 15 cm Durchmesser heiß filtriert. Das Filtrat wird mit einem Vakuum-Rotationsverdampfer bei einer Wasserbadtemperatur von 50 ° C bis etwa 5 ml eingedampft und der Eindampfrückstand mit warmem dest. Wasser zu einem Konzentrat von 10 ml gelöst. Von diesem Konzentrat werden bei der papierelektrophoretischen Untersuchung jeweils 0,01 ml (= 10 µl) entlang der Startlinie aufgetragen. (Bei einer quantitativen Isolierung der Gelatine aus Yoghurt oder Quark, dessen Gelatinegehalt 0,1 % beträgt, würde das Konzentrat 10 µg Gelatine pro µl enthalten).

Papierelektrophorese des Konzentrats

Bei der papierelektrophoretischen Untersuchung sind die Versuchsbedingungen folgende:

- a) Natriumkarbonat-Natriumhydrogenkarbonat Pufferlösung von pH = 10 und Ionenstärke $\mu = 0,15$ (siehe unter Reagenzien),
- b) Klemmspannung: 220 Volt,
- c) Konzentratmenge: 0,01 ml,
- d) anodische Wanderung der Gelatine,
- e) Versuchsdauer: 14 Stunden (über Nacht 18.00 bis 8.00 Uhr).

Die 4 Pufferbehälter der Elektrophoresekammer werden mit je 125 ml Pufferlösung gefüllt. Um eine Heberwirkung im Papierstreifen zu vermeiden, wird das Niveau der Pufferlösung in allen 4 Behältern auf die gleiche Höhe gebracht und die Papierstreifenenden werden gleich tief in die Pufferlösung getaucht. Damit die Papierstreifenenden gleich tief in die Pufferlösung tauchen, werden in 7,2 cm und 9,2 cm Entfernung vom gleichen Papierstreifenende mit dem Bleistift zwei dünne Querlinien gezogen, von denen die erstere die Auflagestelle des

mit Pufferlösung gleichmäßig befeuchteten Papierstreifens auf dem Tragrahmen markiert, während auf der Linie in 9,2 cm Entfernung vom Papierstreifenende das untersuchte Konzentrat aufgetragen wird. Diese Auftragstelle kommt auf die Kathodenseite zu liegen. Vor dem Auftragen des Konzentrats wird die Apparatur während 15—30 Min. bei der gewählten Klemmspannung eingeschaltet, um die Feuchtigkeit des Papierstreifens zu konditionieren. Nach dieser Konditionierung wird der elektrische Strom ausgeschaltet, und 0,01 ml des untersuchten Konzentrats mit einer Mikropipette auf der mit Bleistift markierten Startlinie aufgetragen. Gleichzeitig werden auf einem anderen Papierstreifen 0,01 ml einer 1%igen reinen Gelatinelösung unter den gleichen Versuchsbedingungen wandern gelassen. Während der Dauer der Elektrophorese wird der Glasdeckel der Elektrophoresekammer vorsichtshalber mit Filterpapier unterlegt, wodurch kondensierte Wassertropfen am Deckel bleiben und nicht auf den Papierstreifen, auf dem die Gelatine wandert, fallen. Nach Ablauf der gewählten Versuchsdauer werden die Streifen vorsichtig aus der Elektrophoresekammer genommen, im Glasrahmen horizontal befestigt und im Trockenschrank bei 80 ° C während 20 bis 30 Min. getrocknet. Die Enden der trockenen Streifen werden so weit abgeschnitten, daß Pherogramme von 18 cm erhalten werden.

Anfärbung der Pherogramme

Die Anfärbung der Eiweißbanden erfolgt durch Behandlung der trockenen Papierstreifen während einer Viertelstunde in einem ständig leicht bewegten Färbebad der gesättigten Lösung von Amidoschwarz 10 B in einer Mischung von 9 Volumteilen Methanol und 1 Volumteil Eisessig. Anschließend werden die Papierstreifen, zur Entfärbung des nicht mit Eiweiß beladenen Papieranteils, abwechselungsweise je 5 bis 10 Min. in einer Lösung von 9 Volumteilen Methanol und 1 Volumteil Eisessig und in einer 5%igen wässrigen Essigsäurelösung gewaschen. Nach etwa 2 Stunden Elutionsdauer werden weiße Streifen erhalten, auf denen die Eiweißbanden dunkelblau gefärbt erscheinen. Um überschüssige Essigsäure zu entfernen, werden darauf die Pherogramme mit Wasser gewaschen und anschließend an der Luft getrocknet.

Auswertung der Pherogramme

Die trockenen, angefärbten Pherogramme werden einige Stunden, am besten über Nacht, in Anisol puriss. gelegt, wodurch das Papier durchsichtig wird, während sich die blauen Gelatine- und andere Eiweißbanden scharf davon abheben. Das durchsichtig gewordene Pherogramm wird luftblasenfrei zwischen zwei Glasplatten des Photometers der Abbildung 4 gelegt, und das überschüssige Anisol vorsichtig mit einem Tuch entfernt. Anschließend wird das Pherogramm mit dem Photometer ausgewertet. Mit dem Millimetervorschub des Photometers wird das Pherogramm schrittweise an einer spaltförmigen elektrischen Lichtquelle vorbeigeführt und die Extinktion mit Photoelement und Galvanometer

registriert. Zur Herstellung eines Extinktionsdiagramms (siehe Abbildung 2 als Beispiel) werden aus den Meßergebnissen die Extinktionswerte in der Ordinatenrichtung und die Laufstrecke auf der Abszisse aufgetragen. Die Kurvenfläche des Gelatinebandes wird mit einem Planimeter ausgemessen und der Flächeninhalt in mm² berechnet. Ist man nicht im Besitze eines Planimeters, so kann die Fläche durch Wägen des längs der Kurve ausgeschnittenen Millimeterpapiers und durch Vergleich mit dem Gewicht der Flächeneinheit des gleichen Papiers bestimmt werden.

Berechnung des Gelatinegehalts

Bei der Berechnung des Gelatinegehalts soll der Verlust bei der Gelatineisolierung aus Yoghurt oder Quark durch einen entsprechenden Ausbeutefaktor ausgeglichen werden, den wir, gemäß den Resultaten unserer Isolierungsversuche, auf 1,33 festgesetzt haben (siehe Abschnitt 4.3). Bei einer Einwaage von 100 g Yoghurt oder Quark, einer Konzentratmenge von insgesamt 10 ml und einer aufgetragenen Konzentratmenge von 10 µl bei der papierelektrophoretischen Untersuchung läßt sich der Gelatinegehalt wie folgt ableiten:

$$\text{Gelatinegehalt in \%} = f \cdot \frac{F}{A} \cdot 10^{-3}$$

wobei F = gemessene Kurvenfläche des untersuchten Gelatinebandes in mm²
 A = Kurvenflächenwert pro µg Gelatine = 4 mm²

$$f = \text{Ausbeutefaktor} = 1,33 = \frac{4}{3}$$

wodurch $\text{Gelatinegehalt in \%} = 0,33 \cdot F \cdot 10^{-3}$

Bemerkung: Die Werte für A und f schwanken je nach Apparatur und Arbeitsweise.

Zusammenfassung

Wir haben den Gelatinenachweis in Yoghurt und Quark mit Hilfe der Papierelektrophorese in Anlehnung an die von *Walser* und *Bohl* (1963) beschriebene Arbeit modifiziert und zur Untersuchung von auf dem Markt erhältlichen Produkten angewandt. Bei der Entwicklung der Methode wurden die verschiedenen Operationen möglichst einfach und bequem gehalten, ohne jedoch die Empfindlichkeit und Zuverlässigkeit der Methode zu beeinträchtigen. Die gleichzeitige Anwesenheit von anderen Verdickungsmitteln stört den Gelatinenachweis nicht, weil sie keine Proteine sind und bei der Eiweißfärbung nicht auf die verwendeten Farbstoffe ansprechen. Die Beseitigung der störenden Wirkung von Zucker und anderen Eiweißkörpern wie Milch- und Haselnußeiweiß wurde kurz besprochen. Mit der angegebenen Methode kann ein Gelatinezusatz von 0,05 % in Yoghurt oder Quark noch leicht nachgewiesen und bestimmt werden.

Résumé

Nous avons modifié la méthode publiée par *Walser* et *Bohl* (1963) pour déceler l'addition de gélatine dans le yoghurt et le séré, par électrophorèse sur papier. Une simplification du mode opératoire proposé par les auteurs a pu être réalisée sans diminuer la sensibilité et l'exactitude de la méthode. La présence d'autres agents épaississants ne gêne pas la détection de la gélatine. L'élimination de l'effet gênant du sucre et des autres protéines comme celles du lait et des noisettes est brièvement discutée. Par cette méthode il est possible de déceler facilement une addition de 0,05 % de gélatine dans le yoghurt ou le séré. Nous avons utilisé la méthode pour examiner des échantillons prélevés sur le marché.

Summary

We have modified the method published by *Walser* and *Bohl* (1963) for detecting an addition of gelatin to yoghurt and curd by means of paper electrophoresis, and used it to examine samples bought on the market. On developing the method the several operations were kept as easy and convenient as possible, however without diminishing its sensibility and reliability. The presence of other thickening agents does not disturb the detection of gelatin, because they are no proteins and consequently do not react with the dyes used. The elimination of the disturbing effect of sugar and other proteins such as milk and hazel-nut proteins is briefly discussed. By means of this method it is possible to detect easily an addition of 0,05 % gelatin to yoghurt or curd.

Literatur

- Block R. J.* und *Bolling D.*: The Amino Acid Composition of Proteins and Foods, Charles C. Thomas Publisher, Springfield Illinois USA (1951), 486 und 490.
- FAO/OMS, 7e rapport du Comité mixte FAO/OMS d'experts des additifs alimentaires; Normes d'identité et de pureté pour les additifs alimentaires et évaluation toxicologique: émulsifiants, stabilisants, décolorants et maturants. Organisation mondiale de la santé (OMS), Genève (1964).
- Graßmann W.* und *Hannig K.*: Klin. Wochschr., **32**, 838 (1954).
- Heide K.* und *Biel H.*: Behringwerk-Mitt., **35**, 1—19 (1959); Ref. *Wunderly Ch.*: Die Papirelektrophorese, Sauerländer & Co., Aarau (1959), 76.
- Hellhammer D.* und *Högl O.*: diese Mitt., **49**, 108 (1958).
- Letzig E.*: Deutsche Lebensm. Rundschau, **51**, 41 (1955).
- Padmoyo M.* und *Högl O.*: diese Mitt. **53**, 290 (1962).
- Schweiz. Lebensmittelbuch, 4. Auflage, Zimmermann & Cie., Bern (1937), 54, 183 und 248 (vergriffen).
- Simon K.*: Z. ges. exp. Med., **12**, 113 (1957).
- Wunderly Ch.*: Die Papirelektrophorese, Sauerländer & Co., Aarau (1959), 76.
- Sulser H.*, diese Mitt. **48**, 19 (1957).
- Verordnung über den Verkehr mit Lebensmitteln und Gebrauchsgegenständen vom 26. Mai 1936 (Lebensmittelverordnung = LMV). Herausgegeben von der Bundeskanzlei, Bern (1964).
- Walser R.* und *Bohl M.*: Schweiz. Milchztg., **89** (Wissenschaftliche Beilage Nr. 93), 743 (1963).