Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und

Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 49 (1958)

Heft: 3

Artikel: Die Papierelektrophorese von Eierproteinen. 2. Mitteilung, Ergebnisse

der papierelektrophoretischen Untersuchungen an Vogeleiern

Autor: Hellhammer, D. / Högl, O.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982533

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. 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. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

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. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

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. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 21.10.2025

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

Literatur

1) E. Waser und S. Janett, diese Mitt. 28, 103 (1937)

2) Th. von Fellenberg und O. Högl, diese Mitt. 36, 24 (1945)

3) J. Deshusses und P. Deshaumes, diese Mitt. 41, 381 (1950)

4) H. Suter und H. Hadorn, Ztschr. f. analyt. Chemie 160, 335 (1958)

⁵) G. Iwantscheff, Angew. Chem. **62**, 361 (1950); Referat Ztschr. analyt. Chemie **133**, 477 (1951)

6) Kohn-Abrest, Annales des fals. et fraudes 28, 457 (1935)

7) H. Fischer, G. Leopoldi und H. Uslav, Ztschr. analyt. Chem. 101, 1 (1935)

Vergleiche auch G. Iwantscheff: «Das Dithizon und seine Anwendung in der Mikround Spurenanalyse», Verlag G.m.b.H., Weinheim (1958).

Die Papierelektrophorese von Eierproteinen

Ergebnisse der papierelektrophoretischen Untersuchungen an Vogeleiern

2. Mitteilung

Von D. Hellhammer und O. Högl (Eidg. Gesundheitsamt, Bern)

IV. Teil

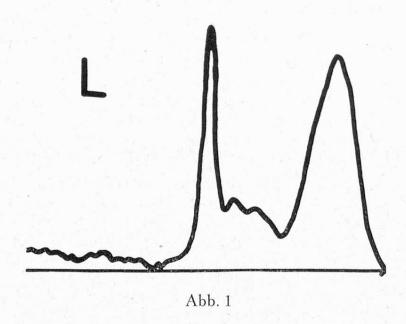
Chemische Identifizierung der einzelnen Proteinbanden

In einer ersten Mitteilung (Hellhammer und Högl 1958) haben wir die Methoden der Papierelektrophorese von Eiereiweiss beschrieben.

Der Arbeit lag folgende Zielsetzung zugrunde:

- 1. Es sollte versucht werden, die mit der klassischen Elektrophorese schon anderen Autoren gelungene Fraktionierung des Eiweisses auch mit der wesentlich einfacheren Methodik auf Papier zu erreichen. Wie in der ersten Mitteilung dargelegt, gelang diese Auftrennung relativ gut.
- 2. Da eine gewisse Verschiedenheit der Pherogramme von Vogelart zu Vogelart anzunehmen war, sollte auch diese Frage untersucht werden.
- 3. Schliesslich beabsichtigten wir, die Veränderungen von Eiweiss bei der Alterung, beim Eintrocknen und allgemein bei der Auswirkung verschiedener chemischer und physikalischer Agentien zu verfolgen. In dieser Weise hofften wir auch einige Bedingungen kennen zu lernen, unter denen vielleicht andere Eiweisstoffe aus Lebensmitteln, die sich in weniger reiner Form darboten und bei welchen sich daher gewisse Schwierigkeiten bei der Isolierung ergeben konnten, in gleicher Art charakterisieren zu können.

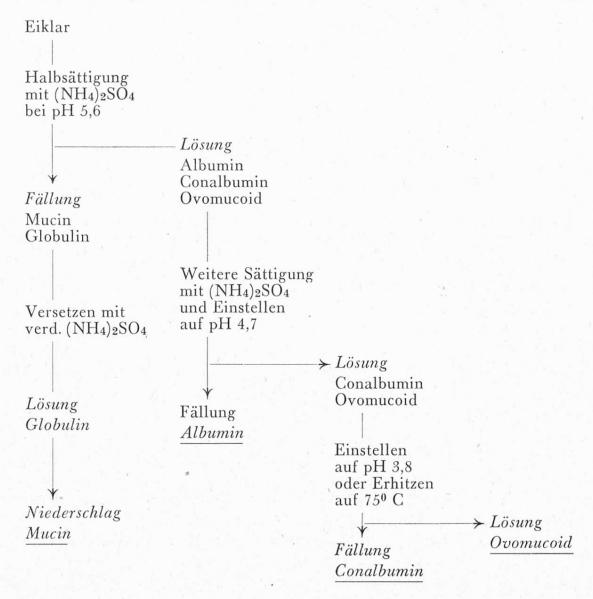
Abb. 1 zeigt eine typische Extinktionskurve, wie sie mit der in der 1. Mitteilung beschriebenen Methodik bei Hühner-Eiklar (Leghorn-Rasse) erhalten wird.



Da sich schon bei den ersten vergleichenden Untersuchungen gezeigt hatte, dass die Grösse der einzelnen Fraktionen von Vogelart zu Vogelart recht verschieden ausfiel und diese Verteilung demnach als Merkmal zur Charakterisierung des betreffenden Eiweisses eventuell herangezogen werden konnte, musste zunächst bekannt sein, um welche Eiweissfraktionen (s. Teil II, S. 13) es sich bei den einzelnen Banden handelte.

Das Eiklar wurde daher zunächst durch Aussalzmethoden in die bekannten Fraktionen Ovalbumin, Conalbumin, Globulin, Ovomucoid und Mucin zerlegt und die betreffenden Eiweisstoffe papierelektrophoretisch untersucht.

Grundsätzlich wurde nach folgendem Fraktionierschema verfahren:



Im Einzelnen gestalteten sich die Verhältnisse bei der chemischen Fraktionierung der Eiklarproteine folgendermassen:

Fraktionier methode

Das Eiklar von 5 Leghorn-Eiern wurde zwecks Zerstörung der hochviskosen Mucinstruktur vorsichtig geschlagen und durch ein feinporiges Drahtsieb gegossen.

100 ml des homogenisierten Eiklars wurden in einem 300-ml Erlenmeyerkolben mit dem Magnetrührer durchmischt und nach der Methode von Sörensen und Hoyrup (1917) tropfenweise 100 ml gesättigte Ammoniumsulfatlösung (Merck, pro analysi) zugegeben, wobei das Globulin + Mucin als weisser Niederschlag ausgeschieden wurde.

Das Gemisch wurde während 20 Minuten in der «Ecco»-Zentrifuge bei 3500 rpm zentrifugiert und anschliessend die überstehende Lösung sorgfältig dekantiert, durch ein Faltenfilter filtriert, zwecks Weiterverwendung mit eini-

gen Kristallen Thymol versetzt und im Kühlschrank bei $+4^{\circ}$ C aufbewahrt. Der Globulin-Niederschlag am Boden der Zentrifugengläser wurde mit H2O versetzt, wobei durch mitgerissene Mengen Ammoniumsulfat eine Salzlösung geringer Konzentration entstand, die eine langsame Auflösung des Globulins zur Folge hatte.

Die Lösung wurde erneut zentrifugiert und die das Globulin enthaltende Lösung vom Mucin-Niederschlag abgegossen. Ueber Nacht wurde die Globulinlösung bei Zimmertemperatur gegen fliessendes Wasser dialysiert. Der dabei entstandene Globulin-Niederschlag wurde mit Wasser in ein Becherglas gespült und durch Zugabe von einigen ml 10 % iger NaCl-Lösung wieder gelöst. Im Anschluss daran wurde die Fällung mit gesättigter Ammoniumsulfat-Lösung sowie die beschriebenen Reinigungsoperationen erneut wiederholt.

Ovalbumin, Conalbumin und Ovomucoid waren in der überstehenden, klaren Lösung der Globulin-Fällung enthalten, aus der sie durch spezielle Fraktioniermethoden abgetrennt werden konnten. Als erste Substanz wurde das Ovalbumin auf folgende Weise ausgefällt:

Unter Rühren der klaren Lösung wurde tropfenweise soviel gesättigte Ammoniumsulfat-Lösung zugegeben, dass eine bleibende Trübung entstand. Anschliessend wurde mit Hilfe der Glaselektrode «Polymetron» der pH-Wert der Lösung durch vorsichtige Zugabe von 2n H2SO4 auf 4,7 eingestellt, wobei das Albumin ab pH 5,0 als voluminöser, weisser Niederschlag ausfiel. Nach Erreichen des gewünschten pH-Wertes, der dem isoelektrischen Punkt des Ovalbumins entsprach, wurde noch 10 Minuten weitergerührt und anschliessend die mit einigen Kristallen Thymol versetzte Lösung für 3 bis 4 Tage bei Zimmertemperatur stehen gelassen, wonach sich sämtliches Albumin abgesetzt hatte.

Danach wurde in der «Ecco»-Zentrifuge 20 Minuten bei 3500 rpm zentrifugiert und die überstehende Conalbumin- und Ovomucoidlösung dekantiert, durch ein Faltenfilter filtriert und mit einigen Kristallen Thymol versetzt, im Kühlschrank aufbewahrt.

Der Albumin-Niederschlag wurde durch Zugabe von Wasser gelöst und aus der Lösung das Albumin erneut nach der vorhin beschriebenen Methode gefällt und gereinigt. Nach der 2. Fällung wurde die Albuminlösung über Nacht gegen fliessendes Wasser bei Zimmertemperatur dialysiert, wodurch das überschüssige Ammoniumsulfat entfernt wurde. Aus dem klaren Dialysat wurde das Albumin erneut gefällt, solange, bis ein Pherogramm erhalten wurde, das neben der Albuminfraktion keine weiteren verunreinigenden Banden aufwies, was nach dreimaliger Fällung und Reinigung der Fall war.

Conalbumin und Ovomucoid wurden durch Ansäuern der filtrierten überstehenden Lösung der Albuminfällung voneinander getrennt (Longsworth 1940).

Die Lösung wurde unter Rühren tropfenweise mit 2n H₂SO₄ versetzt, wobei sich bei pH 3,8 (Glaselektrode «Polymetron») ein feiner weisser Niederschlag bildete, dessen Menge nach 2 bis 3 Tagen noch zunahm. Er wurde zentrifugiert

und die klare, überstehende Lösung abgegossen und nochmals filtriert; sie enthielt jetzt nur noch das Ovomucoid.

Der Conalbumin-Niederschlag wurde mit etwas Wasser versetzt und die Suspension unter Rühren vorsichtig mit 0,5n NaOH versetzt, wobei ab pH 6,0 Lösung des Niederschlages eintrat, was im Einklang mit den Beobachtungen von Longsworth (1940) steht. Durch Wiederholung der Fällung und Dialyse des gelösten Niederschlags wurde auch das Conalbumin dreimal gereinigt. Auf indirektem Wege konnte die Lage des Conalbumins auf dem Pherogramm folgendermassen nachgewiesen werden:

1 bis 2 ml der Conalbumin und Ovomucoid enthaltenden Lösung der Albuminfällung wurden im Wasserbad langsam auf 75°C erhitzt. Dabei bildete sich ein klumpiger weisser Niederschlag, der abzentrifugiert wurde. Das überstehende Zentrifugat wurde papierelektrophoretisch untersucht, wobei nur noch die schwächere der beiden ursprünglichen Banden erhalten wurde.

Da das Ovomucoid erst bei 82º C koaguliert, das Conalbumin dagegen schon unterhalb dieser Temperatur, entsprach die Lage der schwach gefärbten Proteinbande auf dem Pherogramm dem Ovomucoid.

Die Lösungen der so isolierten und gereinigten Fraktionen wurden papierelektrophoretisch untersucht und mit Pherogrammen von Eiklar verglichen.

In Abb. 2 sind 6 Pherogramme abgebildet, die unter den nach Teil III erwähnten experimentellen Bedingungen erhalten wurden, und die folgendermassen zueinander in Beziehung stehen:

1. Pherogramm des Ausgangseiklars

2. Pherogramm von isoliertem und gereinigtem Globulin

3. Pherogramm der überstehenden Lösung der Albuminfällung, Conalbumin und Ovomucoid enthaltend

4. Pherogramm von isoliertem und gereinigtem Conalbumin

5. Pherogramm der überstehenden Lösung der Albuminfällung nach Ausfällung des darin enthaltenen Conalbumins. Ovomucoid bleibt in der Lösung zurück

6. Pherogramm von isoliertem und gereinigtem Ovalbumin.

Demnach entsprechen die Banden eines Pherogramms bzw. die Kurvenmaxima des entsprechenden Extinktionsdiagramms (Abb. 1) folgenden Proteinfraktionen:

von links nach rechts

1. Bande (Glockenkurve) I = Conalbumin

2. Bande (Gipfel) II = Globulin

3. Bande (Gipfel) III = Ovomucoid

4. Bande (Glockenkurve) IV = Ovalbumin.

In Abb. 2 sind die Fraktionen I bis IV rechts aussen markiert.

Diese Ergebnisse stehen in gutem Einklang mit den Resultaten, welche schon die oben erwähnten Forschergruppen Longsworth (1940), Bain und Deutsch (1947) und Forsythe und Foster (1950) bei der Fraktionierung des Eiklars mittelst der freien Elektrophorese erzielt hatten.

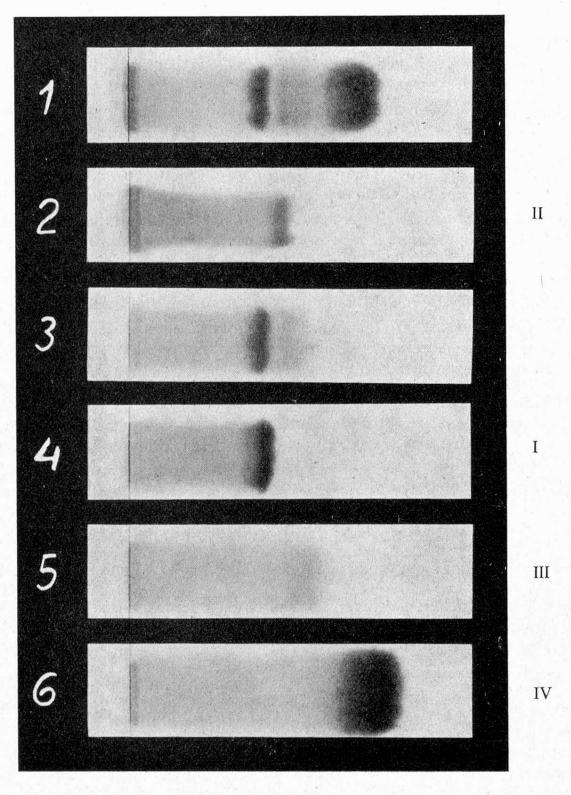


Abb. 2

Die von diesen Autoren im pH-Gebiet 7,8 bis 8,6 erhaltenen Schlierendiagramme zeigen gute Uebereinstimmung mit unseren Extinktionsdiagrammen, wobei unter Anwendung obiger Nomenklatur die einzelnen Kurvenzüge der Schlierendiagramme mit folgenden Proteinfraktionen identifiziert wurden:

Kurvenmaxima	Langsworth (1940)	Bain und Deutsch (1947)	Forsythe (1950)
I	Conalbumin	Conalbumin	Conalbumin Globulin
+ III	Glob. + Ovomuc.	Glob. + Ovomuc.	Ovomucoid
IV	Ovalbumin	Ovalbumin	Ovalbumin

Verglichen mit der klassischen Elektrophorese liefert die Papierelektrophorese praktisch ebenso gute Resultate, wobei im Hühner-Eiklar die Auftrennung in die Globulin- und Ovomucoid-Fraktion zum Teil noch besser gelingt.

Zusammenfassung

Zur Identifizierung der 4 Maxima im Extinktionsdiagramm von Leghorn-Eiklar wurde eine Fraktionierung mit den üblichen Fällungsmethoden der Proteinchemie durchgeführt. In Uebereinstimmung mit der klassischen Elektrophorese kommen die Maxima des Pherogramms von links nach rechts den Fraktionen Conalbumine – Globuline – Ovomucoid – Ovalbumin zu.

Résumé

Pour l'identification des quatre maxima dans le diagramme d'extinction du blanc d'œuf Leghorn on fait un fractionnement avec les méthodes de précipitations habituelles de la chimie des protéines. En accord avec l'électrophorèse classique les maxima du phérogramme correspondent de gauche à droite aux fractions conalbumines – globulines – ovomucoid – ovalbumine.

Summary

For identifying the 4 maxima in the extinction diagram of Leghorn egg white the protein was fractionated by means of the methods of precipitation used in protein chemistry. It was found that the maxima observed on the electropherogram are, from left to right – conalbumine – globulines – ovomucoid – ovalbumine.

Literatur

Bain J. A. und Deutsch H. F., J. Biol. Chem. 171, 531 (1947).

Forsythe R. H. und Foster J. F., J. Biol. Chem. 184, 377, 385 (1950).

Hellhammer D. und Högl O., diese Mitt. 49, 79 (1958)

Longsworth L. G., Cannan R. K. und MacInnes D. A., J. Amer. Chem. Soc. 62, 2580 (1940).

Sörensen S. P. L. und Hoyrup H., Compt. rend trav. lab. Carlsberg 12, 164 (1917).