



MASTERARBEIT

Titel der Masterarbeit

„Chemisch-physikalische Qualitätsparameter
von Vollei“

Verfasserin

Johanna Pippan, Bakk.rer.nat.

angestrebter akademischer Grad

Master of Science (MSc)

Wien, 2011

Studienkennzahl lt. Studienblatt:

A 066 838

Studienrichtung lt. Studienblatt:

Ernährungswissenschaften

Betreuerin / Betreuer:

Ao.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.nat.techn. Helmut Mayer

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei den vielen Menschen bedanken, die mich während des Studiums begleitet und unterstützt haben.

Besonders bedanken will ich mich bei Herrn Ao. Univ. Prof. DI Dr. Helmut K. Mayer, der die Durchführung dieser Masterarbeit an der Universität für Bodenkultur ermöglicht hat.

Außerdem gilt mein Dank den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe Lebensmittelchemie und –authentizität, allen voran Herrn DI Gregor Fiechter.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und meinem Partner, die mir in jeder Situation zur Seite gestanden sind und immer an mich geglaubt haben.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
Formelverzeichnis	VI
Tabellenverzeichnis	VII
1 Einleitung und Fragestellung	1
2 Literaturübersicht	2
2.1 Zusammensetzung von Hühnereiern.....	2
2.2 Wirtschaftliche Bedeutung von Hühnereiern.....	4
2.3 Ernährungsphysiologische Bedeutung von Vollei.....	5
2.4 Funktionelle Eigenschaften.....	9
2.5 Proteine von Volleiern.....	11
2.5.1 Eiklar	12
2.5.2 Eidotter	14
2.5.3 Eialterung	15
3 Material und Methoden	17
3.1 Verwendete Rohstoffe	17
3.2 Analytische Methoden	18
3.2.1 Elektrophoretische Trennmethoden.....	18
3.2.1.1 <i>Alkalische Polyacrylamidelektrophorese</i>	18
3.2.1.2 <i>SDS-PAGE</i>	23
3.2.1.3 <i>Native PAGE</i>	27
3.2.2 Bestimmung des Rohproteingehaltes nach Kjeldahl	29
3.2.3 Bestimmung der ethanollöslichen Stickstofffraktion (ELN)	32
3.2.4 Bestimmung des Nicht-Protein-Stickstoff (NPN).....	34
3.2.5 Gravimetrische Trockenmassebestimmung.....	36
3.2.6 Bestimmung der Leitfähigkeit	38
3.2.7 pH-Wert-Bestimmung	39
3.2.8 Asche-Bestimmung	40
3.3 Statistische Methoden	42

3.3.1	Clusteranalyse.....	42
3.3.2	Korrespondenzanalyse.....	46
4	Ergebnisse und Diskussion.....	47
4.1	Elektrophorese	47
4.1.1	Urea-PAGE	47
4.1.2	SDS-PAGE.....	51
4.1.3	Native PAGE	54
4.2	Bestimmungen nach Kjeldahl: TN – NPN – ELN	56
4.2.1	A-Serie	56
4.2.2	B-Serie	57
4.2.3	C-Serie	58
4.2.4	Volleizuckerproben	59
4.3	Trockenmasse	60
4.3.1	Volleizuckerproben	60
4.3.2	Volleiprobe	61
4.4	Leitfähigkeit	63
4.4.1	Volleizuckerproben	63
4.4.2	Volleiprobe	65
4.5	pH-Wert	67
4.6	Asche	69
4.7	Statistische Auswertung	70
5	Schlussbetrachtung	75
6	Zusammenfassung	78
7	Summary	79
8	Literaturverzeichnis.....	80
9	Curriculum Vitae	85

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Hühnerei. 1 Keimscheibe mit Keimbläschen, 2 Dottermembran, 3 Latebra, 4 weißer Dotter, 5 gelber Dotter, 6 Hagelschnur, 7 Eiklar dünnflüssig, 8 Eiklar zähflüssig, 9 Poren, 10 Luftkammer, 11 Schalenmembran, 12 Eimembran, 13 Schalenhaut, 14 Oberhäutchen, 15 Eischale [BELITZ, 2008]....	3
Abbildung 2: Boxplot - Ausreißertest.....	43
Abbildung 3: Urea-PAGE der A- und C-Serie	47
Abbildung 4: Urea-PAGE der B-Serie	48
Abbildung 5: Urea-PAGE der 5 Standards (Sammelgel und Trenngel)	49
Abbildung 6: SDS-PAGE der B-Serie	51
Abbildung 7: SDS-PAGE von A- und C-Serie	52
Abbildung 8: SDS-PAGE, Standards	53
Abbildung 9: Native PAGE - A- und C-Serie	54
Abbildung 10: Native PAGE - B-Serie.....	55
Abbildung 11: Gesamtstickstoffgehalt der A-Proben [%]	56
Abbildung 12: A-Proben ELN von TN [%]	57
Abbildung 13: Kjeldahl B-Serie	58
Abbildung 14: ELN von TN - C-Serie	59
Abbildung 15: Vergleich VE 102 °C/ 105 °C	62
Abbildung 16: Leitfähigkeit VZ-Proben.....	64
Abbildung 17: Vergleich Leitfähigkeit.....	64
Abbildung 18: Leitfähigkeit VE	66
Abbildung 19: pH-Wert VZ	67
Abbildung 20: pH-Werte VE	68
Abbildung 21: Diagramm nach Ward linkage der z-transformierten Werte - euklidisch	70
Abbildung 22: Diagramm nach Ward linkage der z-transformierten Werte – quadriert euklidisch	70

Abkürzungsverzeichnis

α	Alpha
Alb	Ovalbumin
β	Beta
γ	Gamma
Con	Conalbumin
Da	Dalton
DTT	Dithiothreitol
ED	Eidotter
EK	Eiklar
ELN	Ethanol-löslicher-Stickstoff (engl.: ESN)
et al.	Und andere Autoren
EW	Eiweiß
H ₂ O	Wasser
HCl	Salzsäure
HDL	high-density Lipoproteine
kDa	kiloDalton
krist	kristallisiert
LDL	low-density Lipoproteine
Lys	Lysozym
M	Marker
ME	Mercaptoethanol
MG	Molekulargewicht
Min	Minute(n)
mS	milliSiemens
NPN	Nicht-Protein-Stickstoff
Ovo	Ovomucoid
p.a.	per analysis
PAGE	Polyacrylamidgelelektrophorese
PER	Ammoniumpersulfat

Pho(s)	Phosvitin
PP	Probenpuffer
Ref	Referenz
S	Siemens
SDS	Sodiumdodecylsulfat
TCA	Trichloressigsäure
TEMED	Tetramethylethylendiamin
TM	Trockenmasse
TN	Gesamtstickstoff (Totalstickstoff)
Tris	Trishydroxymethylaminomethan
UHQ	Ultra-high-quality
UREA	Harnstoff
VE	Vollei
VZ	Volleizuckerkonzentrat
μS	mycroSiemens

Formelverzeichnis

Formel 1: Gesamtstickstoff [g/100 g]	31
Formel 2: Rohproteingehalt [g/100 g]	31
Formel 3: Ethanollöslicher Stickstoff [g/100 g]	33
Formel 4: Nicht-Protein-Stickstoff [g/100 g]	35
Formel 5: Trockensubstanz [%]	37
Formel 6: Aschegehalt [%]	41

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammensetzung eines 60 g schweren Eis [ROTH, 2009; CHEFTEL et al., 1992]	2
Tabelle 2: Jahresproduktion 2004 von Eiern [BELITZ, 2008]	4
Tabelle 3: Essentielle Aminosäuren in Hühnerei [CHEFTEL et al., 1992]	5
Tabelle 4: Biologische Aktivitäten von Eiweißproteinen [KOVACS-NOLAN et al., 2005]	6
Tabelle 5: Biologische Aktivitäten von Eidotterkomponenten [KOVACS-NOLAN et al., 2005]	7
Tabelle 6: Funktionelle Eigenschaften von Proteinen in verschiedenen Lebensmitteln [CHEFTEL et al., 1992]	9
Tabelle 7: chemische Zusammensetzung von Volleiern [KOVACS-NOLAN et al., 2005]	11
Tabelle 8: verwendete Rohstoffe	17
Tabelle 9: Korrelationen	43
Tabelle 10: Datenaufbereitung	44
Tabelle 11: Clusteranzahl - euklidisches Distanzmaß	44
Tabelle 12: Clusteranzahl - quadriert euklidisches Distanzmaß	45
Tabelle 13: Ausprägungen Verarbeitbarkeit und Alter	46
Tabelle 14: Auswertung Korrespondenzanalyse - Alter	46
Tabelle 15: Standards	49
Tabelle 16: SDS-PAGE Standards	53
Tabelle 17: Vergleich ELN - NPN	56
Tabelle 18: N-Gehalt der A-Serie	56
Tabelle 19: Kjeldahl - B-Serie	57
Tabelle 20: Kjeldahl C-Serie	58
Tabelle 21: TN und ELN von Volleizuckerproben	59
Tabelle 22: Trockenmasse [%] der VZ	60

Tabelle 23: TM B- und C-Serie	61
Tabelle 24: Leitfähigkeit VZ-Proben.....	63
Tabelle 25: Leitfähigkeit VE	65
Tabelle 26: pH-Werte.....	67
Tabelle 27: Aschegehalt	69
Tabelle 28: inhaltliche Benennung der Cluster	71
Tabelle 29: F-Wert Oneway ANOVA – euklidisch.....	72
Tabelle 30: F-Wert Oneway ANOVA – quadriert euklidisch.....	72
Tabelle 31: Auswertung Korrespondenzanalyse - Verarbeitung	73

1 Einleitung und Fragestellung

Im Zuge dieser Masterarbeit wurden Hühnereier und Hühnereizuckergemische nach verschiedenen Lagerzeiträumen nasschemisch analysiert. Es wurde in erster Linie untersucht, ob sich die Verarbeitbarkeit der Produkte durch Lagerung oder Jahreszeit verändert.

Zur Erreichung des Ziels wurden verschiedene Probenahmen durchgeführt. Die erste Probenserie bestand aus Ei-Zuckerkonzentraten in vier Altersabstufungen, die zweite Serie aus frischen Volleiern, die in jeweils einem bestimmten Monat gelegt wurden und die dritte Serie aus Volleiern in sechs Altersabstufungen.

Da die dominierende Position für die dem Hühnerei typischen funktionellen Eigenschaften den Eiklarproteinen zugeschrieben wird, galt der Schwerpunkt der Analysen dieser Fraktionen [TILGNER, 2010]. Zu diesem Zweck wurden die Proteinfractionen mit verschiedenen Methoden elektrophoretisch aufgetrennt, sowie der Gesamtproteingehalt und der Nicht-Protein-Stickstoffgehalt nach Kjeldahl bestimmt.

Es wurden auch weitere Qualitätsparameter wie pH-Wert, Leitfähigkeit, Trockenmasse und Asche untersucht.

2 Literaturübersicht

2.1 Zusammensetzung von Hühnereiern

Eier bestehen aus einer Kalkschale, Eiklar und Eidotter. Die durchschnittliche Zusammensetzung von einem in etwa 60 g schweren Ei ist in Tabelle 2.1 zusammengefasst [ROTH, 2009; FRANZKE, 1996].

Tabelle 1: Zusammensetzung eines 60 g schweren Eis [ROTH, 2009; CHEFTEL et al., 1992]

	Wasser [%]	Proteine [%]	Lipide [%]	Kohlenhydrate [%]	Mineralien [%]
Eischale (6 g)	1,6	3,3	-	-	95
Eiklar (34 g)	88	10	0,03	0,9	0,6
Eidotter (19 g)	49	16	33	1	1
Gesamtei	65,5	12	11	0,5	11
Ei ohne Schale	74	13	12	0,7	0,9

Eier bestehen aus circa 9,5 % Schale und Membran, 63 % Eiklar (oder Eiweiß) und 27,5 % Dotter. Die Hauptkomponenten sind Wasser zu 75 %, Proteine zu 12 % und Lipide zu 12 %. Die Proteine sind im gesamten Ei verteilt, allerdings befinden sich die Mehrheit in Dotter und Eiklar und nur ein geringer Anteil in Schale und Schalenmembran. Die Lipide befinden sich ausschließlich im Eidotter in Form von Lipoproteinen. Kohlenhydrate spielen eine untergeordnete Rolle, sie kommen frei oder gebunden, an Fette oder Proteine, vor. Die meisten Mineralstoffe finden sich in der Schale [KOVACS-NOLAN et al., 2005].

Eine 0,2 – 0,4 mm dicke poröse Kalkschale beinhaltet das Eiklar und den Eidotter. Die Schale ist mit einer Haut benetzt, die sich am Ende teilt und so die Luftkammer ausmacht. Unter der Haut folgt das Eiklar oder Eiweiß, das wiederum den Dotter umgibt. Er wird in Form einer Kugel mittels zwei Hagelschnüren im Eiklar fixiert. Die Keimscheibe liegt zwischen Dotter und Eiklar. Die Abbildung 1 zeigt einen schematischen Schnitt von einem Ei [BELITZ, 2008].

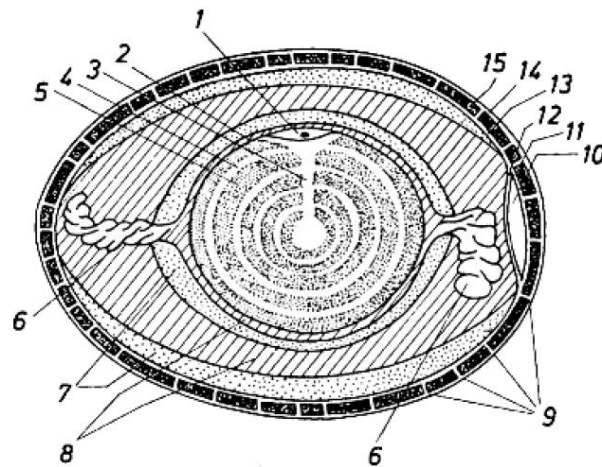


Abbildung 1: Hühnerei. 1 Keimscheibe mit Keimbläschen, 2 Dottermembran, 3 Latebra, 4 weißer Dotter, 5 gelber Dotter, 6 Hagelschnur, 7 Eiklar dünnflüssig, 8 Eiklar zähflüssig, 9 Poren, 10 Luftkammer, 11 Schalenmembran, 12 Eimembran, 13 Schalenhaut, 14 Oberhäutchen, 15 Eischale [BELITZ, 2008].

Das Oberhäutchen (oder Kutikula) ist eine wachsartige Schicht auf der eigentlichen Schale. Sie ist rissig, bedeckt aber die Mehrheit der Poren und schützt das Ei so vor Wasserverlust und vor Eindringen von Mikroorganismen. Die 7000 – 17000 Poren pro Ei sind Öffnungen für Sauerstoff-, Wasser- und Kohlendioxidaustausch und ermöglichen so ein Wachstum im Ei. Die Kristallitschicht ist aus mehreren Schichten aufgebaut. Sie stellt eine Barriere für Keime dar und schützt den Eiinhalt. Die Eischalenmembran wird von einer inneren und äußeren Membran gebildet, die sich am stumpfen Ende des Eis trennen und dort die Luftkammer bilden. Die äußere Membran liegt an der inneren Oberfläche der Kristallitschicht und die innere Membran umgibt den Eiinhalt. Das Eiklar ist eine wässrige farblose Flüssigkeit, die mehrere Eiweißfraktionen enthält und bakteriostatische Schutzfunktionen über hat. Der Dotter enthält die Keimscheibe und besteht aus weißen und gelben Dotterschichten sowie der Dotterhaut [SLMB, 2002].

2.2 Wirtschaftliche Bedeutung von Hühnereiern

Auf Grund seiner funktionellen Eigenschaften ist Hühnerei ein in der Lebensmittelindustrie und in Großküchen sehr wichtiges Produkt. In diesen Bereichen wird in erster Linie wärmebehandeltes Flüssigeiklar verwendet. In Haushalten wird zumeist Vollei in Schale verwendet [TILGNER, 2010].

In Tabelle 2 ist die Produktion von Eiern in den wichtigsten Herstellerländern vom Jahr 2004 dargestellt.

Tabelle 2: Jahresproduktion 2004 von Eiern [BELITZ, 2008].

Land	Eier [1000 t]
China	24341
USA	5252
Japan	2505
Russ. Föd.	1970
Mexiko	1920
Indien	1890
Brasilien	1560
Frankreich	1010
Indonesien	870
Türkei	791
Deutschland	780

Die Summe dieser Produktionszahlen ergeben in etwa 75 % der Weltproduktion an Hühnereiern inklusive der Eier, die zum Bebrüten weiterverwendet werden.

Neben dem verarbeitungsbedingten Interesse an Hühnereiern, sind Eier vor allem vom ernährungsphysiologischen Standpunkt wichtig [ELMADFA et al., 2009; DACH, 2008].

2.3 Ernährungsphysiologische Bedeutung von Vollei

Hühnereier sind eine wichtige Quelle an Nährstoffen. Sie enthalten Proteine, Lipide, Vitamine und Mineralstoffe wie auch Wachstumsfaktoren und immunmodulierende Faktoren [ELMADFA und LEITZMANN, 2004].

Die biologische Wertigkeit eines Lebensmittels hängt von seiner Proteinzusammensetzung ab. Die Zusammensetzung bestimmt die Fähigkeit, den Bedarf des menschlichen Körpers an essentiellen Aminosäuren und an Stickstoff zu decken. Diese werden benötigt um körpereigene Proteine und andere stickstoffhaltige Verbindungen zu synthetisieren. Diese Fähigkeit ist vom Proteingehalt, von der Proteinqualität und von der Aminosäureverfügbarkeit abhängig [EBERMANN und ELMADFA, 2011].

Die Proteinqualität einzelner Lebensmittel wird durch den Gehalt verschiedener Aminosäuren bestimmt. Um die Lebensmittel miteinander vergleichen zu können, wurde ein Modellprotein – das FAO-Referenzprotein – kreiert. Die Qualität tierischer Proteine ist in der Regel höher, als die der pflanzlichen. Der Anteil an essentiellen Aminosäuren in Hühnerei ist in Tabelle 3 dargestellt. Die Summe der essentiellen Aminosäuren ohne Histidin beträgt 490mg/g Protein und entspricht somit einem Chemical-Score-Wert bezogen auf der FAO-Referenzprotein von 100 und einer biologischen Wertigkeit von 94 %. Vergleichbar ist diese Wertigkeit mit Muttermilch [CHEFTEL et al., 1992].

Tabelle 3: Essentielle Aminosäuren in Hühnerei [CHEFTEL et al., 1992]

Aminosäure [mg/g Protein]	Hühnerei
Histidin	22
Isoleucin	54
Leucin	86
Lysin	70
Methionin	
+ Cystein	57
Phenylalanin	
+ Tyrosin	93
Threonin	47
Tryptophan	17
Valin	66
Summe (ohne Histidin)	490
Proteingehalt [%]	12
Chemical-Score-Wert	100

Aminosäuren werden traditionell in drei Klassen eingeteilt: essentielle, nicht-essentielle und funktionelle. Essentielle Aminosäuren sind als solche Aminosäuren definiert, deren Kohlenstoffgerüst nicht selbst synthetisiert werden kann oder solche, die nicht in genügendem Ausmaß vom Körper hergestellt oder nicht gespeichert werden können. Alle 20 proteinogenen Aminosäuren und ihre Metaboliten werden für humane Zellfunktionen benötigt, aber nicht alle sind essentiell. Neben ihrer Rolle als Grundbausteine für Polypeptide und Proteine sind einige Aminosäuren auch wichtige Regulatoren des Wachstums und der Aufrechterhaltung des Immunsystems. Sie werden funktionelle Aminosäuren genannt, unter anderem Arginin, Cystein, Glutamin, Leucin, Prolin und Tryptophan [WU, 2009].

Neben diesen Eigenschaften als Makronährstoffe, weisen Proteine auch andere biologische Aktivitäten auf. Diese sind in Tabellen 4 und 5 zusammengefasst.

Tabelle 4: Biologische Aktivitäten von Eiweißproteinen [KOVACS-NOLAN et al., 2005]

Protein	Biologische Wirkung
Ovalbumin	antibakteriell, antihypertensiv, immunmodulierend
Conalbumin	antimikrobiell, antibakteriell, immunmodulierend
Ovomucoid	Serinproteaseinhibitor, immunmodulierend, biospezifischer Ligand
Ovomucin	antimikrobiell, antiadhesiv, antioxidativ
Lysozym	antibakteriell, antiviral, immunmodulierend + -stimulierend, antioxidativ
Ovoinhibitor	Serinproteaseinhibitor, antiviral
Ovomakroglobulin	antimikrobiell, Proteaseinhibitor (Serin, Cystein und Thiol)
Cystatin	Cystatinproteaseinhibitor, immunmodulierend, antimikrobiell, antioxidativ
Avidin	antibakteriell, biospezifischer Ligand

Eier weisen eine physikalische und biologische Abwehr auf um den Embryo zu schützen. Die Schale und die Schalenmembran bilden eine Barriere gegen Mikroorganismen und die unterschiedlichen Viskositäten und pH-Werte im Eiweiß inhibieren eventuelles Bakterienwachstum. Außerdem tragen einige Eiweißproteine auf Grund ihrer antimikrobiellen Aktivität zur Lyse von Bakterienzellen bei. Zum Beispiel wirkt Lysozym sehr effektiv gegen gram-positive Bakterien wie Clostridien oder Bacillusarten indem es eine Bindung in der Zellwand der Bakterien hydrolysiert. Auch Conalbumin, ein Mitglied der eisenbindenden Transferrinproteine wirkt antibakteriell. Es bindet Eisen reversibel und inhibiert

somit mikrobielles Wachstum. Auch Avidin, das spezifisch Biotin bindet, inhibiert das Wachstum von Hefen und biotinbenötigenden Bakterien. Einige Eiweißproteine weisen eine immunmodulierende Aktivität auf. Ovalbumin induziert in vitro den Tumornekrosefaktor α , außerdem wurde bewiesen, dass die Phagenaktivität von Makrophagen in Anwesenheit von Ovalbumin- und Ovomucinpeptiden erhöht ist. Auch Ovomuroid, Conalbumin, Cystatin und Lysozym zeigen immunstimulierende Aktivität. Es wurde auch gezeigt, dass Lysozym und Ovomucin Tumorwachstum in vitro und in vivo inhibieren. Bestimmte Ovalbuminpeptide haben auch vasorelaxierende Wirkung und beeinflussen so den Blutdruck. Es wurden auch vier Proteaseinhibitoren in Eiklar identifiziert: Cystatin, Ovomuroid, Ovomakroglobulin, und Ovoinhibitor. Bestimmte Eiklarproteine sind auch biospezifische Liganden. So wurde zum Beispiel Avidin bei Tumorbehandlungen benutzt um bestimmte Tumorzellen zu lokalisieren [KOVACS-NOLAN et al., 2005].

Tabelle 5: Biologische Aktivitäten von Eidotterkomponenten [KOVACS-NOLAN et al., 2005]

Komponente	Biologische Wirkung
Dotter	antiadhesiv
Immunglobulin Y	antimikrobiell
Phosvitin	antibakteriell, antioxidativ, erhöht Calciumlöslichkeit
Sialyloligosaccharide	antiadhesiv
Dotterlipide	antioxidativ
Lipoproteine	antibakteriell
Fettsäuren	antibakteriell
Phospholipide	cholesterinsenkend, Komponenten von Membranen
Cholesterin	Komponente von Membranen

Obwohl die Proteine des Eiklars die größere Rolle zum Schutz des Embryos spielen, sind die Proteine des Eidotters nicht zu vernachlässigen. Auch sie weisen antimikrobielle Aktivität auf. Die wichtigsten Aufgaben hat dabei das Immunglobulin Y, das äquivalent zum Immunglobulin G beim Menschen ist. Auch vom Eidotter extrahierte Lipide und Lipoproteine, wie auch ihre Fettsäuren Öl- und Linolsäure wiesen antimikrobielle Wirkung gegen Streptococcen auf. Das eisenbindende Phosphoprotein Phosvitin wirkt auf Grund seiner hohen Oberflächenaktivität antibakteriell gegen *Escherichia coli*. Aus Dotter extrahierte Sialyloligosaccharide werden auf Grund ihrer antiadhesiven Eigenschaften präventiv und therapeutisch bei Gastrointestinalerkrankungen empfohlen. Die

antioxidativen Eigenschaften von Dotterlipiden, Phospholipiden und Phosvitin sind hinlänglich bekannt. Sie wirken präventiv gegen Krankheiten, die durch oxidativen Stress hervorgerufen werden, wie zum Beispiel Dickdarmkrebs [KOVACS-NOLAN et al., 2005].

Hühnereier sind also nicht nur wichtige Basis in einer ausgewogenen Ernährung, sondern haben viele zusätzliche therapeutische Effekte, die durchaus auch in Therapie und Prävention von Infektions- und chronischen Erkrankungen angewendet werden können [KOVACS-NOLAN et al., 2005].

2.4 Funktionelle Eigenschaften

Die funktionellen Eigenschaften eines Lebensmittelinhaltsstoffs sind die Eigenschaften, die Anwendung in der Lebensmittelindustrie finden und hängen nicht mit den ernährungsphysiologischen Parametern zusammen. Sie beeinflussen die Sensorik und die Textur, sowie das physikalische Verhalten des Produkts während Lagerung, Herstellung und Verzehr. In den meisten Fällen werden die verschiedenen physikalischen und chemischen Eigenschaften gemeinsam betrachtet und man versucht durch Beeinflussung der Parameter die Qualität des Lebensmittels zu verbessern [CHEFTEL et al., 1992].

Alle technisch wichtigen Eigenschaften von Eiern und Eiprodukten lassen sich im Wesentlichen auf die funktionellen Eigenschaften der Proteine zurückführen. Dazu zählen die thermische Koagulierbarkeit, das Schaumbildungsvermögen und die Emulgatorwirkung [BELITZ, 2008].

Die vielen Möglichkeiten der Kombinationen der verschiedenen Eigenschaften sind in Tabelle 6 aufgelistet. Die Lebensmittelindustrie versucht die Wechselwirkungen der Proteine untereinander sowie mit anderen Inhaltsstoffen bestmöglich zu kombinieren und technisch auszunutzen [CHEFTEL et al., 1992].

Tabelle 6: Funktionelle Eigenschaften von Proteinen in verschiedenen Lebensmitteln [CHEFTEL et al., 1992]

Lebensmittel	Funktionelle Eigenschaften
Getränke	Löslichkeit bei verschiedenen pH-Werten, Hitzestabilität, Viskosität
Suppen, Saucen	Viskosität, Emulgiereigenschaften, Wasserbindung
Teigwaren	Ausbildung einer viskoelastischen Matrix, Hitzedenaturierung, Gelbildung
Backwaren	Wasseraufnahme, Emulgiereigenschaften, Schaumbildung, Bräunung
Milchprodukte	Fettbindung, Viskosität, Schaumbildung, Gelbildung, Koagulation
Eiersatzprodukte	Schaumbildung, Gelbildung
Fleischprodukte	Gelbildung, Kohäsion, Wasseraufnahme, Fettbindung
Fleischimitate	Unlöslichkeit, Festigkeit, Kaubarkeit, Kohäsion, Hitzedenaturierung
Überzugsmassen	Kohäsion, Adhäsion
Süßwaren	Dispergierbarkeit, Emulgiereigenschaften

Die funktionellen Eigenschaften von Proteinen werden von intrinsischen und extrinsischen Faktoren bestimmt. Intrinsische Faktoren sind chemische, physi-

kalische und konformative Eigenheiten der Proteinmatrix und extrinsische Faktoren können Zugabe von Zucker sein, pH-Wert-Änderungen oder thermische Behandlungen. Die Wirkmechanismen überschneiden sich, lassen sich aber grob in drei Gruppen einteilen: Hydratationseigenschaften beruhend auf Protein-Wasser-Wechselwirkungen, Eigenschaften auf Protein-Protein-Wechselwirkungen und Grenzflächeneigenschaften [CHEFTEL et al., 1992].

Protein-Wasser-Interaktionen sind definiert als Fähigkeit Wasser in der Struktur halten zu können. Das kann zugesetztes oder originäres Wasser sein. Diese Eigenschaft beeinflusst die Sensorik, die Farbe und die Textur des Lebensmittels. Sie wird vor allem vom pH-Wert beeinflusst, denn die Wasserbindungskapazität eines Proteins ist an seinem isoelektrischen Punkt am geringsten [TILGNER, 2010].

Die inter- und intramolekularen Wechselwirkungen von Proteinen machen einen großen Teil der funktionellen Eigenschaften aus. Es werden nicht-kovalente Bindungen, unter anderem Disulfidbrücken, Ionenbindungen, Wasserstoffbrücken, Van-der-Waals-Kräfte oder hydrophobe Wechselwirkungen ausgebildet. Sie bilden mit Hilfe dieser Reaktionen Strukturen aus, die teilweise stabil sind, aber auch denaturiert werden können. Phänomene wie Gelbildung oder Ausbildung von Fasern lassen sich dadurch erklären [CHEFTEL et al., 1992].

Die dritte Gruppe ist verantwortlich für Eigenschaften wie Oberflächenspannung, Emulgiervermögen oder Schaumbildung. Schaum wird aus Eiklar gewonnen, indem Luft eingeschlagen wird. Dadurch kommt es zur Ausbildung einer größeren Grenzfläche zwischen Luft und Eiweiß. Die Proteine denaturieren und aggregieren teilweise [BELITZ, 2008].

2.5 Proteine von Volleiern

Nachdem für die funktionellen Eigenschaften des Hühnereis in erster Linie die Proteine verantwortlich sind, werden sie im folgenden Kapitel näher ausgeführt. Einleitend ist in Tabelle 7 die chemische Zusammensetzung von Volleiern dargestellt.

Tabelle 7: chemische Zusammensetzung von Volleiern [KOVACS-NOLAN et al., 2005]

Teil	[%]	Komponenten	[relativ %]
Schale	9,5	Anorganische Salze	91,87
		Calciumcarbonat	98,4
		Magnesiumcarbonat	0,8
		Tricalciumphosphat	0,8
		Proteine	6,4
		Wasser	1,7
		Lipide	0,03
Eiklar	63	Proteine	9,7-10,6
		Ovalbumin	54
		Conalbumin	12
		Ovomucoid	11
		Ovomucin	3,5
		Lysozym	3,4
		G2 Globulin	4
		G3 Globulin	4
		Ovoinhibitor	1,5
		Ovoglycoprotein	1
		Ovoflavoprotein	0,8
		Ovostatin	0,5
		Cystatin	0,05
		Avidin	0,05
		Lipide	0,03
		Kohlenhydrate	0,4-0,9
		Asche	0,5-0,6
Dotter	27,5	Proteine	15,7-16,6
		Spovitelleinin (I-VI)	37,3
		Lipovitellin Apoproteine	40
		α -Lipovitellin	
		β -Lipovitellin	
		Livetine	9,3
		α -Livetin (Serumalbumin)	
		β -Livetin (α 2-Glycoprotein)	
		γ -Livetin (γ -Globulin)	
		Phosvitin	13,4
		Lipide	32-35
		Triglyzerin	66
		Phosphatidylcholin	24
		Phosphatidylethanolamin	2,8
		Lysophosphatidylcholin	0,6
		Sphingomyelin	0,6
		Cholesterin	5
		andere	1
		Kohlenhydrate	0,2-1
		Asche	1,1

2.5.1 Eiklar

Das Eiklar ist eine hochviskose circa 11 %ige Protein und Glykoprotein Lösung und lässt sich relativ einfach in seine Fraktionen trennen. Die wichtigsten Proteine des Eiklars werden folgend genauer beschrieben [MANN, 2007].

Das anteilsmäßig größte Protein ist Ovalbumin, das mit 54 % mehr als die Hälfte des Eiklarproteins ausmacht. Es ist ein Glykophosphoprotein mit einem Anteil an Kohlenhydraten von 3,2 % bestehend aus Mannose und Glucose. Es hat ein Molekulargewicht von 44500 Dalton und ist aus 385 Aminosäureresten aufgebaut. Es ist das einzige Eiklarprotein mit freien SH-Gruppen. Ovalbumin beinhaltet drei Untereinheiten: A3 mit keinem Phosphatrest, A2 mit einem und A1 mit zwei Phosphatresten. Es ist hitzestabil bis 72 – 84 °C, denaturiert aber beim Aufschlagen unter Aggregation und stabilisiert Schäume dadurch. Die gelbildenden Eigenschaften sinken mit zunehmenden Alter des Eis, da der Anteil an S-Ovalbumin von 5 % auf 80 % nach sechs Monaten Lagerung steigt [BELITZ, 2008; CHEFTEL et al., 1992; TILGNER, 2010].

Conalbumin oder auch Ovotransferrin ist ein Glycoprotein bestehend aus einer Peptidkette und Mannose- sowie N-Acetylglucosaminresten. Es ist die nächstgrößere Eiklarfraktion mit 13 % und hat ein Molekulargewicht von 76000 Dalton. Es denaturiert bei niedrigen Temperaturen (57 – 65 °C), ist aber weniger grenzflächenaktiv als Ovalbumin. Es ist ein Komplexbildner wobei die Conalbumin-Metallkomplexe weitaus thermostabiler sind [BELITZ, 2008; CHEFTEL et al., 1992; TILGNER, 2010].

Ovomucoid ist die drittgrößte Eiklarfraktion mit einem Anteil von 10 % und einem Molekulargewicht von 28000 Dalton. Das Protein enthält 25 % Kohlenhydrate in Form von Galactose, Mannose und Glucose, weswegen es in einer wässrigen Lösung auch hoch hydratisiert vorliegt. Es ist sehr hitzestabil auf Grund seiner neun Disulfidbrücken und einem hohen Anteil an α -Helix und β -Faltblatt [BELITZ, 2008; TILGNER, 2010].

Lysozym (bzw. Ovoglobulin G1) ist auf Grund seiner Eigenschaften (siehe Kapitel 2.3) gut untersucht. Es ist eine aus 129 Aminosäureresten mit vier Disulfidbrücken aufgebaute Peptidkette und macht 3,5 % vom Eiklar aus. Es hat ein Molekulargewicht von 14300 Dalton. Der isoelektrische Punkt von Lysozym liegt als einziger der bekannten Eiweißproteine im nicht sauren Bereich bei 10,7. Dadurch bildet sich ein Ovomucin-Lysozym-Komplex, der durch die elektrostatischen Wechselwirkungen in Lösung bleibt [BELITZ, 2008; TILGNER, 2010].

Je 4 % der Eiweißfraktionen machen die Ovoglobuline G2 und G3 aus. Die Molekulargewichte liegen bei 40000 Dalton (G2) und 58000 Dalton (G3). Beide spielen eine wichtige Rolle beim Schaumbildungsverhalten [TILGNER, 2010].

Einen Anteil von 3,5 % hat das Glykoprotein Ovomucin. Das Molekulargewicht von in Lösung befindlichen Ovomucin liegt um 8300 kDa, von ungelöstem bei 23000 kDa. Das Protein besteht aus drei Hauptkomponenten: zwei kohlenhydratarmen Teilen (α 1- und α 2-Ovomucin: 11 – 15 % Kohlenhydrate) und einem kohlenhydratreichen Teil (β -Ovomucin: 50 – 57 % Kohlenhydrate). Ovomucin ist nicht löslich bei einem pH-Wert um 7. Es ist für die Schaumstabilität von aufgeschlagenem Eiklar wichtig. Dafür verantwortlich ist die Molekülgröße, die Viskosität und die Komplexe mit den Globulinen, hier vor allem das Ovoglobulin G1 Lysozym [OMANA et al., 2010].

Das Flavoprotein hat einen Anteil von 0,8 % und ein Molekulargewicht von 32000 Dalton. Es bindet an Riboflavin und kann wahrscheinlich die Blut-Hirnschranke überwinden [BELITZ, 2008].

Einen Anteil von 0,1 % hat das Enzym Ovoinhibitor mit einem Molekulargewicht von 49000 Dalton. Es hat einige physiologische Aktivitäten, wie in Tabelle 4 ersichtlich ist [BELITZ, 2008].

Avidin mit einem Molekulargewicht von 68300 Dalton macht nur 0,05 % der Eiklarproteine aus und besteht aus drei Komponenten (A, B, C). Es bildet einen Komplex mit Biotin [BELITZ, 2008; CHEFTEL et al., 1992].

Auch Cystatin oder Ficininhibitor kommt zu 0,05 % im Eiklar vor. Es hat ein Molekulargewicht von 12700 Dalton und besteht aus einer Peptidkette mit 120 Aminosäureresten [BELITZ, 2008].

2.5.2 Eidotter

Eidotter ist eine natürliche Öl-in-Wasser Emulsion mit 52 % Trockenmasse. Die Lipide, die 65 % ausmachen sind an Proteine in Form von Lipoproteinen gebunden. Sie werden in low-density Lipoproteine und high-density Lipoproteine eingeteilt [GUILMINEAU et al., 2005].

Eidotter lässt sich in zwei Fraktionen einteilen: Granula und Plasma. Granula enthält 70 % HDL, 16 % Phosvitin und 12 % LDL. Plasma besteht aus 85 % LDL und 15 % Livetin. Auf Grund dieser Zusammensetzung hat Plasma eine effizientere emulgierende Wirkung [ANTON und GANDEMER, 1997; ANTON et al., 2003].

Die HDL-Fraktion des Eidotters stellen im Großen und Ganzen die Lipovitelline dar, die aus α - und β -Lipovitellin bestehen. Diese werden auch Apoproteine genannt und bestehen aus fünf Polypeptiden, die ein Molekulargewicht zwischen 32 und 105 kDa aufweisen [GUILMINEAU et al., 2005].

Die Livetine sind fettfreie globuläre Glykoproteine und sind wasserlöslich. Sie fassen drei Proteine zusammen: α -Livetin (MG: 80 kDa), β -Livetin (MG: 45 kDa) und γ -Livetin (MG: 150 kDa) und sie haben einen Anteil im Eidotter im Verhältnis 2:5:3. Die γ -Livetine sind Immunglobuline und eine wichtige Quelle für polyklonale Antikörper [GUILMINEAU et al., 2005].

Das Phosphoprotein Phosvitin hat ein Molekulargewicht von 45 kDa [GUILMINEAU et al., 2005]. Es hat einen sehr hohen Serinanteil von 31 %. Phosvitin bildet außerdem lösliche Eisenkomplexe, die eine Eisen-Reserve darstellen [CHEFTEL et al., 1992].

2.5.3 Eialterung

Die Lagerung von Hühnereiern ist in Europa durch die EU-Verordnung 3117/94 geregelt. Es ist festgelegt, dass Eier nach dem 18. Tag zwischen 5 – 8 °C gelagert werden müssen um so vor mikrobiellen Kontaminationen zu schützen. Ab diesem Zeitpunkt haben die Eiklarproteine nur mehr geringe Schutzfunktionen [SCHÄFER et al., 1999].

Der Durchmesser der Luftkammer beträgt bei einem frischen Ei etwa 5 mm und vergrößert sich mit Dauer der Lagerung. Deswegen wird die Messung der Luftkammer auch zur Bestimmung vom Eialter verwendet. Außerdem sinkt durch Abgabe von Wasserdampf die Dichte von circa 1,086 g/cm³ um 0,0017 g/cm³ täglich. Das Eiklar verliert an Viskosität und die Dotterhaut reißt leichter beim Aufschlagen des Eis [BELITZ, 2008].

Der pH-Wert des frischen Eiklars liegt bei 7,6 – 7,9 und steigt mit der Lagerungszeit bis auf 9,7 an. Nach 21 Tagen Lagerung zwischen 3 und 35 °C ist mit einem pH-Wert von 9,4 zu rechnen. Der Anstieg ist auf CO₂ zurückzuführen, das durch die Schale diffundiert. Frischer Eidotter hat einen pH-Wert von 6 und dieser steigt während der Lagerung höchstens auf 6,4 – 6,9 [BELITZ, 2008]. Es wurde auch festgestellt, dass die spezifische Leitfähigkeit von Eiklar während der Lagerung zunimmt [RUDOLPH W, 1938].

In verschiedenen Studien wurden zahlreiche Veränderungen der Proteinstrukturen gefunden [HAMMERSHOJ und QVIST, 2011]. So zeigt sich zum Beispiel nach 20 Tagen Lagerung bei 22 °C eine Verflüssigung des Eiklars, allerdings molekulare Veränderung bei acht Banden bereits nach 10 Tagen [OMANA et al., 2011]. Andere Studien zeigen die Veränderungen von

Ovomucin und die damit verbundenen technologischen Eigenschaften [ROBINSON und MONSEY, 1972]. Auch der Lysozymgehalt des Eiklars nimmt ab [SCHÄFER et al., 1999].

Während der Lagerung entsteht durch Thiol-Disulfid-Austausch aus dem nativen Ovalbumin S-Ovalbumin. In sechs Monaten kühl gelagerten Eiern steigt der Gehalt an S-Ovalbumin von 5 % auf 80 % [BELITZ, 2008]. Außerdem dissoziiert der Ovomucin-Lysozym-Komplex durch die pH-Wert-Änderungen. Dadurch wird die Aufschlagqualität und die Schaumstabilität sowie die Gelbildungseigenschaften negativ beeinflusst [CHEFTEL et al., 1992].

Die Veränderungen im Ei können technologisch verlangsamt werden indem man die Lagerbedingungen stabil hält. Eier werden im Kühlhaus (0 – 1,5 °C) bei hoher relativer Luftfeuchte (85 – 90 %) gelagert und manchmal auch kurz nach dem Legen in Mineralöle getaucht um so den Austritt von CO₂ und Wasserdampf zu verringern. Eine Lagerung unter Schutzgas wie zum Beispiel Luft oder Stickstoff mit bis zu 45 % CO₂ hat dieselbe Wirkung. Eier sind unter diesen Umständen 6 – 9 Monate haltbar, wobei mit einem Gewichtsverlust von 3 – 6,5 % zu rechnen ist [BELITZ, 2008]. Werden Eier gereinigt oder gewaschen, wird die Haltbarkeit verringert weil die oberste Haut dadurch entfernt wird und Mikroorganismen leichter eindringen können [CHEFTEL et al., 1992].

3 Material und Methoden

3.1 Verwendete Rohstoffe

Bei den untersuchten Proben handelt es sich um flüssiges Vollei oder Volleizuckerkonzentrat. Die homogenen Proben wurden tiefgekühlt geliefert und bis zur Verwendung bei -20°C gelagert. In Tabelle 8 sind die verwendeten Proben aufgelistet, wobei diejenigen, die bereits in einer vorangegangenen Arbeit [LAUTERBÖCK, 2011] behandelt wurden, *kursiv* gekennzeichnet sind.

Tabelle 8: verwendete Rohstoffe

Probe	Zustand	
A1	VZ	12 VZ
A2	VZ	15 VZ
A3	VZ	16 VZ
A4	VZ	1 VZ
A1.1	VZ	2 VZ
B1 (<i>April</i>)	VE	3 VZ
B3 (Juni)	VE	4 VZ
B4 (Juli)	VE	5 VZ
B5 (Aug)	VE	6 VZ
B6 (Sept)	VE	7 VZ
B7 (Okt)	VE	8 VZ
B8 (Nov)	VE	9 VZ
B9 (Dez)	VE	10 VZ
B10 (Jan)	VE	11 VZ
B11 (Feb)	VE	12 VZ
C0	VE	1a VZ
C1	VE	2a VZ
C2	VE	3a VZ
C3	VE	4a VZ
C4	VE	7a VZ
C5	VE	8a VZ

Die nummerierten Proben sind VZ mit unterschiedlicher Verarbeitungsqualität. Die A-Serie stellt VZ unterschiedlichen Alters dar: A1 ist 2 Wochen gelagert, A2 6 Wochen alt, A3 3 Monate und A4 6 Monate gelagert. Die B-Serie sind jeweils frische Eier, die in einem bestimmten Monat gelegt wurden und die C-Serie stellt eine Lagerungsserie dar. C0 ist ganz frisch, C1 einen Monat gelagert, C2 zwei Monate, C3 drei Monate, C4 4 Monate gelagert und C5 5 Monate. Die Probe B2, also das „Mai-Ei“ wurde nicht untersucht.

3.2 Analytische Methoden

3.2.1 Elektrophoretische Trennmethoden

3.2.1.1 Alkalische Polyacrylamidelektrophorese

Methode entnommen aus:

ZIEGELWANGER E: Biochemische Charakterisierung von Schnittkäse aus Rohmilch im jahreszeitlichen Verlauf, 2006 (modifiziert).

Prinzip:

Proteinproben werden durch den Zusatz von Mercaptoethanol denaturiert, auf ein Polyacrylamidgel aufgetragen und elektrophoretisch aufgetrennt [MATISSEK, 2010].

Chemikalien:

- UHQ-Wasser
- Trishydroxymethylaminomethan, p.a., Roth, 4855.2
- Harnstoff krist., Roth, 7638.1
- Harnstoff, p.a., Merck, 8487
- 2-Mercaptoethanol, Merck, 805740
- Tetramethylethylendiamin (TEMED), Sigma, T9281
- Citronensäuremonohydrat, Merck, 1.00242
- Ammoniumpersulfat, p.a., Sigma, A3678
- Acrylamid 40% AA, 37,5:1, 2,6% C, AppliChem, A0856
- Acrylamid 40% AA, 29:1, 3,3% C. AppliChem
- Glycin krist., Merck, 39803.3
- Coomassie Serva Blue G-250, Serva, 35050
- Methanol p.a., Roth, 4627.1
- Ethanol, ACS,ISO, Reag. Ph Eur, absolute for analysis, Merck
- Essigsäure p.a., Roth, 3738.4

Herstellen der Lösungen:

- Probenpuffer, 0,12 g Tris(hydroxymethylaminomethan), 0,5768 g Glycin und 3,754 g Harnstoff in einem 10 ml Messkolben einwiegen, in UHQ-H₂O lösen und bis zur Marke auffüllen; nicht über 30°C erwärmen.
- Citronensäurelösung (1M), 21,014 g Citronensäure-Monohydrat auf 100 ml UHQ-H₂O auffüllen und bei Raumtemperatur aufbewahren.
- PER-Lösung 1,4 % (g/v), 1,4 g Ammoniumpersulfat auf 100 ml mit UHQ-H₂O auffüllen (im Kühlschrank aufbewahren).
- Elektrodenpuffer, 57,68 g Glycin und 12 g Tris mit UHQ-H₂O auf 10 Liter auffüllen.
- Trenngel (für 2 Gele), 2,94 g Tris, 19,22 g Harnstoff, 17,6 ml Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA/Bis, 37, 5:1, 2,6 % C und 2,56 ml Zitronensäure 1M mit UHQ-H₂O auf 70,62 g auffüllen; bis zum Lösen rühren und 5 Minuten entgasen; kurz vor dem Gießen Zugabe von 300 µl TEMED und 500 µl PER-Lösung.
- Sammelgel (für 2 Gele), 6 g Harnstoff, 2 ml Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA/Bis, 37, 5:1, 3,3 % C, 2 ml Tris, 6 ml UHQ-H₂O und 500 µl Zitronensäure 1M mischen; pH-Meter kalibrieren und mit ca. 200 µl Zitronensäure 1M (tropfenweise Zugabe) auf pH 7,2 einstellen; auf 20 ml im Messkolben auffüllen und 5 min entgasen; kurz vor dem Gießen Zugabe von 140 µl TEMED und 500 µl PER.
- Trenngel-Überschichtungspuffer, 18,4 g Tris und 3,677 g Citronensäure-Monohydrat in 100 ml Messkolben einwiegen und mit UHQ-H₂O bis zur Marke auffüllen, 1:4 verdünnen.
- Färbelösung, 1,5 g Coomassie Serva Blue G-250 in 400 ml Methanol, 100 ml Essigsäure und 600 ml UHQ-H₂O 45 Minuten rühren und durch einen Faltenfilter (595½ S&S) filtrieren.
- Entfärbelösung, mischen von 300 ml Methanol, 70 ml Essigsäure und 700 ml UHQ-H₂O.

Geräte und Hilfsmittel:

- Analysenwaage, Mettler AE 163
- Laborwaage, Sartorius, PT 310
- Vortex, IKA MS 1
- Magnetrührer, IKA colorsquid
- Hanna Instruments pH 211 Microprocessor pH Meter
- Glasplatten (180 x 160 mm), Hoefer, 80-6178-99
- Befestigungsklemmen
- Spacer, 1,5 mm
- Exzenterpannschrauben
- Gelgießstand
- Kunststofftrichter mit Schlauchaufsatz
- Kunststoffspritze mit Nadelaufsatz
- Probenkamm, für 15 Probentaschen
- Gel Seal, GE Healthcare
- Ultraschallbad
- Becherglas (20 ml, 100 ml)
- Mensur (10 ml)
- Filterpapier
- Elektrophoresekammer, Hoefer Scientific, Instruments, SE 600 Ruby
- Stromversorgung, Consort, E 455
- Umlaufkühlsystem, Pharmacia, Multi Temp III
- Magnetrührer, Heidolph, MR 1000
- Kolbenhubpipette 20 µl, Gilson
- Plastikspitzen, Biorad, Prot/Elec-Pipet-Tips, 223-9917
- Kunststoffkeil

- Gelschneidemesser
- Färbe- und Entfärbewanne
- Kunststoffnetz
- Folienschweißgerät, Krups, Vacupack 2
- Kunststofftrichter
- Scanner

Durchführung:

Die tiefgefrorenen Proben werden im 30 °C-Wasserbad temperiert. Jeweils 200 mg Probe werden 1:3 mit UHQ-H₂O verdünnt (400 mg UHQ-H₂O) und anschließend am Vortex gemischt. Dieser Schritt kann auch am Vortag erfolgen (LAUTERBÖCK, 2011). Dann wird dieser Ansatz 1:5 mit Probenpuffer verdünnt (200 µl Ansatz und 800 µl Probenpuffer: insgesamt eine 1:15-Verdünnung). Die Proben werden dann unter dem Abzug mit einem Tropfen Mercaptoethanol versetzt und eine halbe Stunde bei Raumtemperatur gelagert.

Anschließend wird der Gelgießstand zusammengebaut. Jeweils zwei Glasplatten werden auf Zellstoff gelegt und die Oberflächen mit ethanolgetränkten Tissues gereinigt. Die Abstandhalter werden beidseitig mit Gel Seal eingefettet und am linken und rechten Rand der Glasplatten aufgelegt. Die zweite Glasplatte wird nun mit der gereinigten Oberfläche nach unten auf die Abstandhalter gelegt. Nach dem Anschrauben der beiden Befestigungsklemmen werden zwei solcher Einheiten mit Exzentrerspannstiften im Gelgießstand, dessen Dichtungsgummi mit Gel Seal leicht eingefettet wurde, befestigt. Dann wird mit UHQ-Wasser die Dichtheit der Apparatur geprüft und anschließend mit Filterpapier nachgetrocknet. Dann wird mittels Trichter die frisch zubereitete Trenngellösung luftblasenfrei bis ca. 3,5 cm vom oberen Rand in die Gelgießform gegossen. Das Gel wird vorsichtig mit 1 ml Überschichtungspuffer überschichtet, um ein Austrocknen zu verhindern. Die Gele werden mit Parafilm verschlossen und polymerisieren über Nacht aus.

Vor dem Gießen des Sammelgels wird der Übersichtungspuffer abgegossen, mit UHQ-Wasser nachgespült und mit Filterpapier getrocknet. Es werden 2 Probekämme bis 1,5 cm oberhalb des Trenngels zwischen die Glasplatten gesteckt und das frisch zubereitete Sammelgel kann gegossen werden. Das Sammelgel wird nach 30 min mit Elektrodenpuffer überschichtet und die Kämme werden vorsichtig herausgezogen. Die Probentaschen werden mittels Kunststoffspritze mit Elektrodenpuffer ausgespült. Anschließend wird die untere Pufferkammer der Elektrophoreseapparatur mit Elektrodenpuffer befüllt, der Magnetrührer eingeschaltet und die Kühlapparatur (15 °C) in Betrieb genommen. Die Gele werden mittels Exzentrerspannschrauben an die herausnehmbare obere Pufferkammer befestigt und in die Elektrophoreseapparatur überführt. Danach wird in die obere Pufferkammer ebenfalls Elektrodenpuffer gefüllt und die Probentaschen werden erneut gespült bis sie schlierenfrei sind. Dann werden die Proben mittels Kolbenhubpipette aufgetragen. Die Auftragmenge sind 15 µl. Durch Aufsetzen des Deckels werden die Elektroden mit der Stromversorgung verbunden. Die Einstellparameter am Gerät sind 200 V, 120 mA während der ersten Stunde und werden geändert wenn die Proben 1 cm ins Trenngel gewandert sind auf 400 V, 120 mA und 6,5 h [vgl. ZIEGELWANGER, 2006; BAUMANN, 2011].

Nach 6,5 Stunden wird alles ausgeschaltet, der Deckel entfernt und die Gele aus der Apparatur genommen und wieder zerlegt. Mit Hilfe eines Kunststoffkeils wird die obere Glasplatte entfernt. Mit dem Gelschneidemesser wird das Sammelgel abgetrennt. Das Trenngel wird in der mit Färbelösung gefüllten Wanne über Nacht auf ein feines Kunststoffnetz gelegt, um ein Festkleben am Boden der Wanne zu verhindern. Am nächsten Tag werden die Gele in einer Entfärbelösung bei mehrmaligen Wechseln bis zur gewünschten Intensität entfärbt und gescannt. Die Entfärbelösung wird nach Regenerieren in einem aktivkohlehaltigen Sammelbehälter durch einen Faltenfilter 595½ S&S filtriert.

3.2.1.2 SDS-PAGE

Methode entnommen aus:

WESTERMEIER R: Elektrophorese – Praktikum, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Deutschland, 6940 Weinheim, 1990 (modifiziert).

MATISSEK R, STEINER G, FISCHER M: Lebensmittelanalytik. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2010: 110-113.

Prinzip:

Die Proben werden mit Natriumdodecylsulfat unter Erhitzen so denaturiert, dass die Disulfidbrücken gespalten werden und die Eigenladung unterdrückt wird. Somit werden die Proteine nur nach ihrer Masse aufgetrennt [MATISSEK, 2010].

Chemikalien:

- UHQ-Wasser
- Trishydroxymethylaminomethan, p.a., Roth, 4855.2
- SDS, Merck, 8.22050.1000
- DTT, plus one, 17-1318-02
- HCl, 37%, 2,5 l, Merck, 317.2500
- Acrylamid 40% AA, 37,5:1, 2,6% C, AppliChem, A0856
- 1-Butanol, Merck, 1.01990.1000
- Ammoniumpersulfat, p.a., Sigma, A3678
- Tetramethylethyldiamin (TEMED), Sigma, T9281
- Glycin krist., Merck, 39803.3
- Ethanol, ACS,ISO, Reag. Ph Eur, absolute for analysis, Merck
- Essigsäure p.a., Roth, 3738.4
- Farbstofftablette PhastGel Blue R-350, Pharmacia

Herstellen der Lösungen:

- Gebrauchslösung (1 % Bromphenolblau-Lösung mit Glyzerin), 1,5 mg Bromphenolblau in ein Eppendorf-Gefäß einwiegen und mit 150 µl UHQ-H₂O und 1500 µl Glyzerin vortexen.
- Dithiothreitol-Lösung (DTT) 2,6 M, 250 mg in ein Eppendorfgefäß einwiegen und in 500 µl UHQ-Wasser lösen.
- SDS-Lösung 10 %, 5 g SDS in ein 50 ml Becherglas einwiegen und in 40 ml UHQ-Wasser vorsichtig lösen; in einem 50 ml Messkolben bis zur Marke auffüllen.
- Tris-HCl-Puffer (50 mM Tris), 0,3028 g Tris in ein 50 ml Becherglas einwiegen und in 45 ml UHQ-Wasser lösen; mit circa 750 µl Salzsäure 10 % auf pH 7,2 einstellen, quantitativ in einen 50 ml Messkolben überführen und bis zur Marke auffüllen.
- Probenpuffer, 6 ml Tris-HCl-Puffer und 4 ml SDS-Lösung 10 % mischen.
- Trenngelpuffer-Stammlösung (1,5 Mol Tris, 0,4 % SDS), 18,15 g Tris und 400 mg SDS in ein 120 ml Becherglas einwiegen und in 70 ml UHQ-Wasser lösen; mit circa 16 ml 6 n HCl auf pH 8,8 einstellen, quantitativ in einen 100 ml Messkolben überführen und bis zur Marke auffüllen.
- Sammelgelpuffer-Stammlösung (0,5 Mol Tris, 0,4 % SDS), 3,028 g Tris und 0,2 g SDS in ein 50 ml Becherglas einwiegen und in 40 ml UHQ-Wasser lösen; mit circa 11 ml 6 n HCl auf pH 6,8 einstellen, quantitativ in einen 50 ml Messkolben überführen und bis zur Marke auffüllen.
- Trenngel-Überschichtungspuffer, Trenngelpuffer-Stammlösung 1:4 verdünnen.
- Butanol gesättigt, 50 ml Butanol mit 5 ml UHQ-Wasser mischen.
- Ammoniumpersulfat 10 %, 100 mg PER in 1 ml UHQ-Wasser lösen.
- Trenngel (10 % für 2 Gele), 30 ml UHQ-Wasser, 15 ml Trenngelpuffer-Stammlösung und 15 ml Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA/Bis, 37, 5:1, 2,6 % C mischen und 5 Minuten entgasen; kurz vor dem Gießen Zugabe von 30 µl TEMED und 300 µl PER-Lösung 10 %.

- Trenngel (12,5 % für 2 Gele), 26,25 ml UHQ-Wasser, 15 ml Trenngelpuffer-Stammlösung und 18,75 ml Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA/Bis, 37, 5:1, 2,6 % C mischen und 5 Minuten entgasen; kurz vor dem Gießen Zugabe von 30 µl TEMED und 300 µl PER-Lösung 10 %.
- Trenngel (15 % für 2 Gele), 22,5 ml UHQ-Wasser, 15 ml Trenngelpuffer-Stammlösung und 22,5 ml Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA/Bis, 37, 5:1, 2,6 % C mischen und 5 Minuten entgasen; kurz vor dem Gießen Zugabe von 30 µl TEMED und 300 µl PER-Lösung 10 %.
- Sammelgel (für 2 Gele), 6,5 ml UHQ-Wasser, 2,5 ml Sammelgelpuffer-Stammlösung und 1 ml Acrylamid/Bis-Stammlösung 40 % AA/Bis, 37, 5:1, 2,6 % C mischen und 5 Minuten entgasen; kurz vor dem Gießen Zugabe von 5 µl TEMED und 50 µl PER-Lösung 10 %.
- Elektrodenpuffer (250 mM Tris, 1 % SDS, 1,92 M Glycin), 30,28 g Tris und 144 g Glycin in 8 l UHQ-Wasser lösen; 10 g SDS in ein Becherglas einwiegen und vorsichtig in UHQ-Wasser lösen; quantitativ überführen und auf 10 l auffüllen.
- Färbelösung (für 2 Gele), 200 ml Essigsäure und 1800 ml UHQ-Wasser auf 50 °C erwärmen, eine Farbstofftablette dazugeben und bis zum Lösen rühren.
- Entfärbelösung, 200 ml Essigsäure und 1800 ml UHQ-Wasser mischen.

Geräte und Hilfsmittel:

Siehe 3.2.1.1

- Heizblock
- Laborzentrifuge
- Nadel
- Wärmeschrank 50 °C

Durchführung:

Die tiefgefrorenen Proben werden im 30 °C-Wasserbad temperiert. Jeweils 200 mg Probe werden 1:3 mit Probenpuffer verdünnt (400 mg Probenpuffer) und anschließend am Vortex gemischt. Dann wird dieser Ansatz 1:10 mit Probenpuffer verdünnt (100 µl Ansatz und 900 µl Probenpuffer: insgesamt eine 1:30-Verdünnung). Anschließend wird 1 Volums% (10 µl) DTT-Lösung dazupipettiert, gevortext und mit einer Nadel der Deckel durchstoßen. Nach 10 minütigem Kochen am 100 °C-Heizblock wird auf Handwärme abgekühlt und 1 Volums% (10 µl) DTT-Lösung sowie 11 Volums% (110 µl) Gebrauchslösung dazugegeben. Die Probe wird gevortext und 5 min bei 13500 rpm zentrifugiert.

Sofort nach dem Gießen des Trenngels wird es mit 1 ml gesättigtem Butanol überschichtet. Nach 30 min wird der Butanol abgegossen, gut mit UHQ-Wasser nachgespült und mit Filterpapier nachgetrocknet. Erst dann wird mit Trenngel-Überschichtungspuffer überschichtet.

Die Einstellparameter am Gerät sind 200 V, 60 mA während der ersten Stunde und werden auf 400 V und 120 mA geändert wenn die Proben 1 cm ins Trenngel gewandert sind. Das Gerät wird ausgeschaltet wenn die Laufront 0,5 – 1 cm vor dem unteren Ende ist.

Die Gele müssen über Nacht im Wärmeschränk bei 50 °C gefärbt werden.

Für die restliche Durchführung siehe 3.2.1.1.

3.2.1.3 Native PAGE

Methode entnommen aus:

WESTERMEIER R: Elektrophorese – Praktikum, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Deutschland, 6940 Weinheim, 1990 (modifiziert).

Prinzip:

Die nativen Proben werden auf das Gel aufgetragen und elektrophoretisch aufgetrennt.

Chemikalien:

Siehe 3.2.1.1

- Glyzerin 87 %
- Bromphenolblau

Herstellen der Lösungen:

Siehe 3.2.1.1

- Probenpuffer, 30 mg Tris(hydroxymethylaminomethan) und 144,2 mg Glycin in einem 25 ml Messkolben einwiegen, in UHQ-H₂O lösen und bis zur Marke auffüllen; nicht über 30°C erwärmen.
- Trishydroxymethylaminomethan-Lösung, 150 mg Trishydroxymethylaminomethan in einem ml UHQ-H₂O lösen.
- Gebrauchslösung (1 % Bromphenolblau-Lösung mit Glyzerin), 1,5 mg Bromphenolblau in ein Eppendorf-Gefäß einwiegen und mit 150 µl UHQ-H₂O und 1500 µl Glyzerin vortexen.
- Trenngel (für 1 Gel), 13,125 ml UHQ-H₂O, 7,5 ml Trenngelpuffer-Stammlösung und 9,375 ml Acrylamid 40 5 AA, 37, 5:1, 2,6 % C in ein 100 ml Becherglas pipettieren und 5 min entgasen. Kurz vor dem Gießen Zugabe von 150 µl TEMED und 250 µl PER.
- Sammelgel (für 1 Gel), 5 ml UHQ-H₂O, 1 ml Acrylamid 40 5 AA, 37, 5:1, 3,3 % C, 1 ml Tris-Lösung und 250 µl Zitronensäure 1M in ein Becherglas pipettieren; pH-Meter kalibrieren und mit ca. 200 µl

Zitronensäure 1M (tropfenweise Zugabe) auf pH 7,2 einstellen;
auf 10 ml im Messkolben auffüllen und 5 min entgasen; kurz vor
dem Gießen Zugabe von 70 µl TEMED und 250 µl PER.

Geräte und Hilfsmittel:

Siehe 3.2.1.1

- Laborzentrifuge

Durchführung:

Die tiefgefrorenen Proben werden im 30 °C-Wasserbad temperiert. Jeweils 200 mg Probe werden 1:3 mit Probenpuffer verdünnt (400 mg Probenpuffer) und anschließend am Vortex gemischt. Dann wird dieser Ansatz 1:5 erneut mit Probenpuffer verdünnt (200 µl Ansatz und 800 µl Probenpuffer: insgesamt eine 1:15-Verdünnung). Diesem Ansatz werden 11 Volumsprozent Gebrauchslösung zugegeben, anschließend gevortext und abzentrifugiert.

Die Einstellparameter am Gerät sind 200 V, 120 mA während der ersten Stunde und werden auf 400 V und 120 mA geändert wenn die Proben 1 cm ins Trenngel gewandert sind. Das Gerät wird ausgeschaltet wenn die Laufront 0,5 – 1 cm vor dem unteren Ende ist.

Für die restliche Durchführung siehe 3.2.1.1.

3.2.2 Bestimmung des Rohproteingehaltes nach Kjeldahl

Methode entnommen aus:

AOAC Official Method 925.31. Nitrogen in Eggs. Kjeldahl Method. 2000.

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–15. Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Rohproteingehaltes in Eiern und Eiprodukten. 2007.

Prinzip:

Der in der Probe vorliegende organisch gebundene Stickstoff wird durch Aufschluss mit konzentrierter Schwefelsäure in Ammoniumsulfat überführt. Nach Versetzen mit Natronlauge im Überschuss wird durch Destillation das Ammoniak in eine Borsäurevorlage geleitet und im Anschluss titriert.

Chemikalien:

- Kjeldahl-Katalysator, Mischung aus Kaliumsulfat $\geq 99\%$, p.a. ACS, ISO ROTH und Kupfer-(II)-sulfat, wasserfrei p.a. MERCK
- Natriumhydroxid-Lösung, stickstofffrei, $\geq 99\%$ ROTH
- Schwefelsäure 98% , Rotipuran geeignet für Stickstoff-Bestimmung ROTH
- Borsäure $\geq 99,8\%$ p.a., ACS, ISO ROTH
- UHQ-Wasser
- Mischindikator 5 geeignet für Ammoniaktitration, pH 4,4 – 5,8 MERCK
- Salzsäure 4 mol/l , 4 N Lösung Maßlösung ROTH

Herstellen der Lösungen:

- 35% ige Natronlauge, 1000 ml destilliertes Wasser in einem Gefäß vorlegen und 700 g Natronlauge einwiegen, umrühren und mit destilliertem Wasser auf 2000 ml auffüllen.

- 2 % ige Borsäure, 20 g Borsäure in einem 1000 ml Messkolben einwiegen und mit destilliertem Wasser auffüllen, anschließend mischen bis sich die Borsäure vollständig aufgelöst hat.
- 0,1 M HCl, in einem 1000 ml Messkolben etwa 500 ml destilliertes Wasser vorlegen und 25 ml HCl (4 M) dazupipettieren, auffüllen und mischen.
- Katalysatorgemisch, 1000 g Kaliumsulfat mit 4 g Kupfersulfat gut vermischen.

Geräte und Hilfsmittel:

- Destillationsapparatur BÜCHI 315
- Heizblock BÜCHI 430
- Wasserstrahlpumpe
- Abzugsrohr
- Glasperlen Kalk-Natron-Glas, 1 cm ROTH HH57.1
- Kjeldahl-Kolben, 500 ml
- Tiegelszange
- Analysenwaage, AND Electronic Balance FX 300 Max 310 g, d = 0,001 g
- Bürette, 25 ml, Einteilung 0,01 ml
- Erlenmeyerkolben

Durchführung:

Die Proben wurden im Dreifachansatz analysiert.

Die Proben wurden auf 30 °C temperiert und homogenisiert, anschließend etwa 0,5 g auf mindestens 0,001g genau in Aufschlusskolben eingewogen und mit zwei Glasperlen sowie in etwa 7,5 g Katalysatorgemisch versetzt. Dann wurden 20 ml Schwefelsäure hinzugefügt und die Kolben auf dem Heizblock zuerst vorsichtig erhitzt und später bei 410 °C gekocht bis die Aufschlussflüssigkeit eine blassgrüne Farbe hatte. Die Aufschlusskolben wurden 30 Minuten abgekühlt, anschließend die Wasserstrahlpumpe und das Abzugsrohr entfernt.

Bevor der Destillationsvorgang gestartet wurde, sind die Proben mit 50 ml destilliertem Wasser versetzt und anschließend in die Wasserdampfdestillationsapparatur überführt worden. Nach Zugabe von Natronlauge (bis das Probengemisch dunkelbraun und schließlich blassblau gefärbt war), wurde der Destillationsvorgang gestartet. Das Destillat (frei werdendes Ammoniak und Wasserdampf) wurde in 20 ml Borsäurevorlage, die zuvor mit einigen Tropfen Mischindikator versetzt wurde, geleitet. Die Lösung verfärbte sich grün und die Destillation wurde beendet, sobald 200 ml Destillat vorlagen. Danach wurde das Probengemisch mit 0,1 M HCl bis zum Farbumschlag über grau nach rosa titriert.

Berechnung:

$$\omega_N = \frac{a \times 0,0014007 \times 100}{E}$$

Formel 1: Gesamtstickstoff [g/100 g]

wobei

ω_N = Gesamtstickstoff [g/100 g]

a = Verbrauch an Maßlösung [ml]

E = Einwaage [g]

$$\omega_E = \omega_N \times 6,25$$

Formel 2: Rohproteingehalt [g/100 g]

ω_E = Rohproteingehalt [g/100 g]

ω_N = Gesamtstickstoff [g/100 g]

3.2.3 Bestimmung der ethanollöslichen Stickstofffraktion (ELN)

Methode entnommen aus:

ZIEGELWANGER E: Biochemische Charakterisierung von Schnittkäse aus Rohmilch im jahreszeitlichen Verlauf, 2006.

Prinzip:

Die ethanollösliche Stickstofffraktion (ELN) der Probe wird bestimmt. Dazu wird die Probe mit 87,5%igem Ethanol (70%ige Lösung) versetzt. Der in Lösung verbleibende Stickstoff wird durch Aufschluss mit konzentrierter Schwefelsäure in Ammoniumsulfat überführt. Nach Versetzen mit Natronlauge im Überschuss wird durch Destillation das Ammoniak in eine Borsäurevorlage geleitet und im Anschluss titriert.

Chemikalien:

- Ethanol, ACS,ISO, Reag. Ph Eur, absolute for analysis, Merck

Herstellen der Lösungen:

- 87,5 %iger Ethanol, 875 ml Ethanol und 125 ml UHQ-Wasser in einem 1 l Messkolben mischen.

Geräte und Hilfsmittel:

- Vollpipetten (100 ml, 25 ml)
- Messkolben (1 l, 50 ml)
- Trichter
- Faltenfilter (595 A ½ , Ø 240 mm, Schleicher & Schuell)

Durchführung:

Die Proben wurden im Vierfachansatz analysiert.

Es wurden in etwa 35 ml 87,5 %iger Ethanol in einem 50 ml Messkolben vorgelegt und 10 g der Probe dazupipettiert. Nach kräftigem Schütteln wurde der

Messkolben mit 87,5 %igem Ethanol bis zur Marke aufgefüllt und eine halbe Stunde stehen gelassen. Danach wurde über einen Faltenfilter abgegossen und über Nacht im Kühlschrank gelagert. Für die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wurden jeweils 10 ml des Filtrats verwendet. Nach Zugabe des Katalysatorgemisches, zweier Glasperlen und 5 ml konzentrierter Schwefelsäure, wurde die Probe eine Stunde lang auf 150 °C erhitzt. Nach 15 min wurden 15 ml konzentrierte Schwefelsäure zugegeben.

Weitere Durchführung siehe Kapitel 3.2.2.

Berechnung:

$$\text{ELN} = \frac{a \times 0,0014007 \times 10}{E}$$

Formel 3: Ethanollöslicher Stickstoff [g/100 g]

wobei

ELN = Ethanollöslicher Stickstoff [g/100 g]

a = Verbrauch an Maßlösung [ml]

E = Einwaage [10 ml]

3.2.4 Bestimmung des Nicht-Protein-Stickstoff (NPN)

Methode entnommen aus:

MAYER H: Skriptum der Vorlesung Milchanalytik, gelesen im Sommersemester 2011 (modifiziert).

Prinzip:

Der Nicht-Protein-Stickstoff der Probe wird bestimmt. Dazu wird die Probe mit 15%iger Trichloressigsäure (12%ige Lösung) versetzt. Der in Lösung verbleibende Stickstoff wird durch Aufschluss mit konzentrierter Schwefelsäure in Ammoniumsulfat überführt. Nach Versetzen mit Natronlauge im Überschuss wird durch Destillation das Ammoniak in eine Borsäurevorlage geleitet und im Anschluss titriert.

Chemikalien:

- Trichloressigsäure (TCA), $\geq 99\%$, reinst, Ph.Eur., Roth

Herstellen der Lösungen:

- 15 %ige Trichloressigsäure, 150g TCA in 1000 ml UHQ-Wasser in einem 1 l Messkolben lösen.

Geräte und Hilfsmittel:

- Messkolben (1 l, 50 ml)
- Trichter
- Faltenfilter (595 A $\frac{1}{2}$, $\varnothing$ 240 mm, Schleicher & Schuell)

Durchführung:

Die Proben wurden im Vierfachansatz analysiert.

Es wurden in etwa 15 %ige Trichloressigsäure in einem 50 ml Messkolben vorgelegt und 10 g der Probe dazupipettiert. Nach kräftigem Schütteln wurde

der Messkolben mit 15 %iger Trichloressigsäure bis zur Marke aufgefüllt und eine halbe Stunde stehen gelassen. Danach wurde über einen Faltenfilter abgegossen und über Nacht im Kühlschrank gelagert. Für die Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl wurden jeweils 10 ml des Filtrats verwendet.

Weitere Durchführung siehe Kapitel 3.2.2.

Berechnung:

$$\text{NPN} = \frac{a \times 0,0014007 \times 10}{E}$$

Formel 4: Nicht-Protein-Stickstoff [g/100 g]

wobei

NPN = Nicht-Protein-Stickstoff [g/100 g]

a = Verbrauch an Maßlösung [ml]

E = Einwaage [10 ml]

3.2.5 Gravimetrische Trockenmassebestimmung

Methode entnommen aus:

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–12. Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung der Trockenmasse in Eiern und Eiprodukten. 1991.

Prinzip:

Das Vollei wird im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Chemikalien:

- Seesand, reinst, mit Säure gereinigt und gegläht (Art.-Nr. 8441.2, Roth, Deutschland)

Geräte und Hilfsmittel:

- Aluminiumschale, Durchmesser 6 cm, Höhe 4 cm
- Glasstab, Länge 8 cm, Durchmesser 0,6 cm, ein Ende pistillartig breitgedrückt
- Tiegelzange
- Exsikkator
- Trockenschrank, elektrisch beheizt, Thermo Scientific, Heraeus Oven Typ UT 12, Deutschland
- Analysenwaage, Sartorius, Max 220 g, d = 0,0001 g

Durchführung:

Die Proben wurden im Dreifachansatz analysiert.

Etwa 15 g Seesand wurden in eine Aluminiumschale eingewogen und über Nacht mit einem Glasstab bei 102 °C vorgetrocknet. Die Probe wurde auf 30 °C temperiert und homogenisiert. Etwa 2 g der Probe wurden auf 1 mg genau in die Aluminiumschale eingewogen und mit dem Seesand gleichmäßig verrieben.

Dann wurden eingewogene Probe und Seesand 24 h im Trockenschrank bei 102 °C getrocknet, danach 30 min im Exsikkator abgekühlt und gewogen.

Berechnung:

$$\text{Trockensubstanz [\%]} = \frac{100 \times (G_1 - G_2)}{E}$$

Formel 5: Trockensubstanz [%]

wobei

G_1 = Gewicht vor dem Trocknen [g]

G_2 = Gewicht nach dem Trocknen [g]

E = Einwaage [g]

3.2.6 Bestimmung der Leitfähigkeit

Methode entnommen aus:

RAGNI et al, 2007: Dielectric characterization of hen eggs during storage

Prinzip:

Der spezifische Widerstand der Probe wird gemessen.

Chemikalien:

- Kalibrierstandard für Leitfähigkeitsmesszellen 0,01 mol/l KCl (nach ISO 7888, WTW, D)

Geräte und Hilfsmittel:

- Laborkonduktometer inoLab Cond 720, WTW, D

Durchführung:

Die Proben wurden in einem Wasserbad auf 20 °C temperiert. Das Konduktometer wurde laut WTW – Bedienungsanleitung kalibriert und anschließend die Messzelle vollständig in die Probe eingetaucht und der Wert abgelesen.

3.2.7 pH-Wert-Bestimmung

Methode entnommen aus:

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–11. Untersuchung von Lebensmitteln: Messung des pH-Wertes in Eiern und Eiprodukten. 1995.

Prinzip:

Es wird der negative dekadische Logarithmus der Wasserstoffionen-Aktivität gemessen.

Chemikalien:

- Hanna Instruments Calibration and Maintenance Solutions in sachets
Buffer solution pH 7,01 +/- 0,01 (Ref. No: 19C82)
- Hanna Instruments Calibration and Maintenance Solutions in sachets
Buffer solution pH 4,01 +/- 0,01 (Ref. No: 03D91)

Geräte und Hilfsmittel:

- Hanna Instruments pH 211 Microprocessor pH Meter

Durchführung:

Die Proben wurden in einem Wasserbad auf 20 °C temperiert. Das pH Meter wurde zuerst mit Buffer solution pH 7,01 +/- 0,01 und anschließend mit Buffer solution pH 4,01 +/- 0,01 kalibriert. Dann wurde die Messzelle vollständig in die Probe eingetaucht und der Wert abgelesen.

3.2.8 Asche-Bestimmung

Methode entnommen aus:

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–13. Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung der Asche in Eiern und Eiprodukten. 1991.

Prinzip:

Die homogene Probe wird vorsichtig vorverascht und im Muffelofen bei 550 °C verascht. Die Masse des Glührückstands wird durch Differenzwägung bestimmt.

Geräte und Hilfsmittel:

- Porzelanschale, Durchmesser 2 cm, Höhe 3 cm, Haldenwanger Berlin
- Tiegelzange
- Exsikkator
- Muffelofen, elektrisch beheizt, Heraeus Typ M 110, Deutschland
- Analysenwaage, Sartorius, Max 220 g, d = 0,0001 g
- Infrarotbrenner, Power Cube Typ IRB 2 Nr. 6063, Edmund Bühler GmbH, Hechingen, Deutschland

Durchführung:

Die Proben wurden im Dreifachansatz analysiert.

Etwa 5 g Probe wurden in eine massenkonstant geglühte Porzelanschale eingewogen und auf einem Infrarotbrenner vorsichtig 20 min vorverascht. Dabei wurde vorsichtig die Temperatur erhöht indem auf jeder Temperaturstufe 2 Minuten gewartet wurde. Nach dem Entweichen der Verschwelungsprodukte, wurde die Probe 4 Stunden im Muffelofen bei 550 °C verascht. Danach 10 min im offenen und anschließend 30 min im geschlossenen Exsikkator abgekühlt und gewogen.

Berechnung:

$$\text{Aschegehalt [\%]} = \frac{100 \times (G_1 - G_2)}{E}$$

Formel 6: Aschegehalt [%]

wobei

G_1 = Gewicht der vorgeglühten Porzelschale [g]

G_2 = Gewicht der Porzelschale mit der Asche [g]

E = Einwaage [g]

3.3 Statistische Methoden

In diesem Kapitel wird versucht mittels statistischer Methoden die Ergebnisse der oben genannten Analysen auszuwerten. Ziel ist es, mithilfe von Cluster- und Korrespondenzanalyse, Gruppierungen und Strukturen zwischen verschiedenen Eiprobe zu erkennen.

In einem ersten Schritt werden die Eier hinsichtlich der untersuchten Parameter in Clustern zusammengefasst. Anschließend werden Strukturen zwischen den entstandenen Gruppen und den Parametern Alter und Verarbeitbarkeit gesucht.

3.3.1 Clusteranalyse

Das Ziel der Clusteranalyse ist eine Zusammenfassung von verschiedenen Daten in Gruppen, die untereinander maximal homogen sind und zwischen den Gruppen maximale Heterogenität aufweisen [BROSIUS, 2010a]. In dieser Auswertung sind alle vorliegenden Daten metrisch, die Methode ist aber auch auf kategoriale Daten anwendbar.

Bevor mit der eigentlichen Clusteranalyse begonnen werden kann, wird eine Prüfung auf eventuell vorhandene Korrelationen durchgeführt. Daten, die korrelieren müssen aus der Analyse ausgeschlossen werden, da ihnen ansonsten zuviel Bedeutung zugeschrieben wird und so das Ergebnis verzerrt wird (Werte $> 0,4$ sollten ausgeschlossen werden) [TEMPL et al., 2008]. Eine Variable wurde ausgeschlossen und anschließend erneut auf eine mögliche Korrelation geprüft (ersichtlich in Tabelle 9). Die verbleibenden vier Variablen werden für die Clusteranalyse verwendet, der Fall ist somit vierdimensional.

Tabelle 9: Korrelationen

Korrelationen		tn	tm105	leit	pH
tn	Korrelation nach Pearson	1	-,359*	,374*	-,360*
	Signifikanz (2-seitig)		0,037	0,029	0,036
	N	34	34	34	34
tm105	Korrelation nach Pearson	-,359*	1	-,998**	,865**
	Signifikanz (2-seitig)	0,037		0	0
	N	34	34	34	34
leit	Korrelation nach Pearson	,374*	-,998**	1	-,865**
	Signifikanz (2-seitig)	0,029	0		0
	N	34	34	34	34
pH	Korrelation nach Pearson	-,360*	,865**	-,865**	1
	Signifikanz (2-seitig)	0,036	0	0	
	N	34	34	34	34

*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

**. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

Anschließend werden die Daten in einem Boxplot dargestellt um einen allgemeinen Überblick über die Datenverteilung und eventuellen Ausreißern zu erhalten. Wie in Abbildung 2 zu erkennen ist, sind die Daten annähernd normalverteilt und es sind keine Ausreißer auszuschließen.

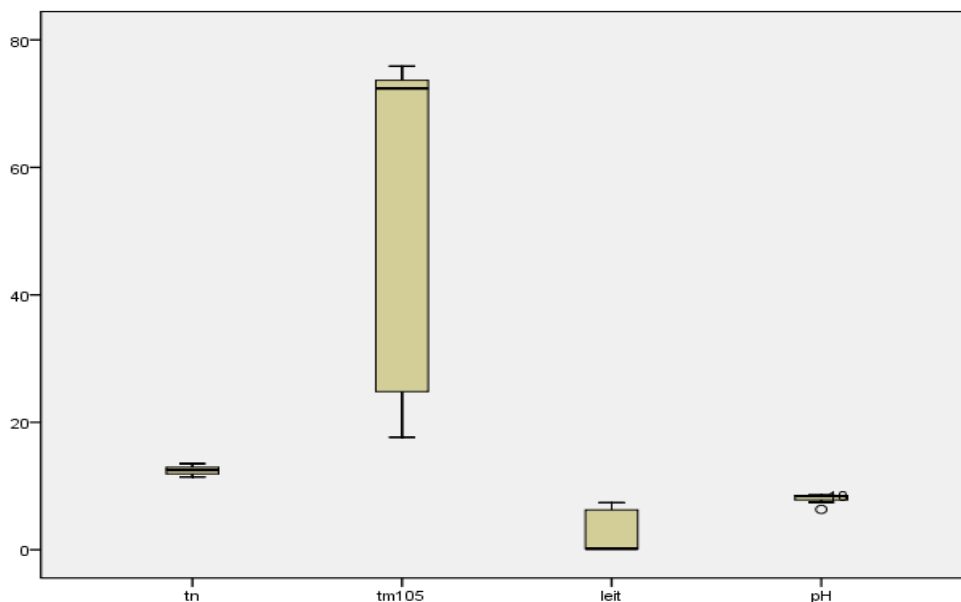


Abbildung 2: Boxplot - Ausreißertest

In einem ersten Schritt werden die Merkmale aufbereitet. Da es sich um metrische Daten handelt, wird eine z-Transformation durchgeführt. Das dient der Zentrierung der Daten auf den Mittelwert 0 und der Normierung auf die Standardabweichung 1 [BACHER, 2002].

Tabelle 10: Datenaufbereitung

Variable	standard. Variable	Bedeutung	
tm105	ztm105	TM 24h [105°]	metrisch
tn	ztn	Totalstickstoff [%]	metrisch
ph	zph	pH-Wert	metrisch
leit	zleit	Leitfähigkeit [mS/cm]	metrisch

Im nächsten Schritt werden die Distanzen berechnet: angewendet werden das euklidische Distanzmaß und das quadrierte euklidische Distanzmaß, da es sich um metrische Daten handelt. Als Clusterverfahren wird das Ward-Verfahren ausgewählt und anschließend mittels k-means optimiert [BROSIUS, 2010b].

Die Bestimmung der Cluster erfolgt mittels der Sprünge im Zuwachs der Fehlerquadratsumme. Beim euklidischen Distanzmaß werden sechs Cluster gewählt. Die Sprünge bei zwei und drei Clustern sind zwar größer, allerdings fällt die Entscheidung wegen inhaltlicher Gründe auf sechs, denn der Interpretationsspielraum ist bei einer kleinen Anzahl von Clustern deutlich geringer (ersichtlich in Tabelle 11).

Tabelle 11: Clusteranzahl - euklidisches Distanzmaß

Clusteranzahl	18	26	3,336	18	0	28	Zuwachs der Fehlerquadratsumme
10	16	24	3,859	20	3	26	0,651
9	8	9	4,510	0	10	29	0,761
8	14	16	5,271	14	24	30	0,879
7	4	6	6,150	21	17	29	0,997
6	1	18	7,147	22	23	32	1,545
5	4	8	8,692	27	25	31	1,609
4	14	17	10,301	26	16	32	2,106
3	4	10	12,407	29	0	33	7,721
2	1	14	20,128	28	30	33	19,366
1	1	4	39,494	32	31	0	

Gleich im Anschluss wird dasselbe mit dem quadriert euklidischen Distanzmaß durchgerechnet. Es werden fünf Cluster gewählt, obwohl der Sprung bei drei Clustern größer gewesen wäre (siehe Tabelle 12).

Tabelle 12: Clusteranzahl - quadriert euklidisches Distanzmaß

Clusteranzahl	16	24	1,244	19	3	25	Zuwachs der Fehlerquadratsumme
10	18	26	1,628	18	0	28	0,683
9	14	16	2,312	15	23	29	0,689
8	8	9	3,001	0	10	30	0,955
7	4	6	3,955	21	17	30	1,187
6	1	18	5,143	22	24	32	1,750
5	14	17	6,893	25	16	32	2,912
4	4	8	9,804	27	26	31	6,555
3	4	10	16,359	30	0	33	19,658
2	1	14	36,018	28	29	33	95,982
1	1	4	132,000	32	31	0	

3.3.2 Korrespondenzanalyse

Das Ziel der Korrespondenzanalyse ist die Entdeckung von Strukturen zwischen verschiedenen Variablen. Man versucht eine Tabelle graphisch zu analysieren. Das Ergebnis wird in einem zweidimensionalen Raum dargestellt [BLASIUS, 2001].

Nun wird nach Strukturen zwischen den zuvor errechneten Clustern und zwei neuen Variablen, Verarbeitbarkeit der Eier und Alter der Eier, gesucht. Das Alter der Eier hat acht Ausprägungen, wobei jede Ausprägung in etwa einem Lagermonat entspricht. Die Verarbeitbarkeit hat fünf Ausprägungen, die aus Tabelle 13 hervorgehen.

Tabelle 13: Ausprägungen Verarbeitbarkeit und Alter

Alter	Bezeichnung	Verarbeitbarkeit	Bezeichnung
0 Monate (frisch)	1	Super, excellent	1
1 Monat	2	Gut	2
2 Monate	3	Befriedigend	3
3 Monate	4	Schlecht	4
4 Monate	5	Sehr schlecht	5
5 Monate	6		
6 Monate	7		
7 Monate	8		

Tabelle 14: Auswertung Korrespondenzanalyse - Alter

Auswertung								
		Anteil der Trägheit			Singulärwert für Konfidenz			
Dimension	Singulärwert	Trägheit	Chi-Quadrat	Sig.	Bedingen	Kumuliert	Standardabweichung	Korrelation
1	1	1			0,551	0,551	0	-0,436
2	0,577	0,333			0,184	0,735	0,167	
3	0,565	0,319			0,176	0,91		
4	0,403	0,163			0,09	1		
Gesamt		1,815	61,704	,004 ^a	1	1		

a. 35 Freiheitsgrade

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Elektrophorese

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der drei verschiedenen Elektrophoresemethoden zusammengefasst.

4.1.1 Urea-PAGE

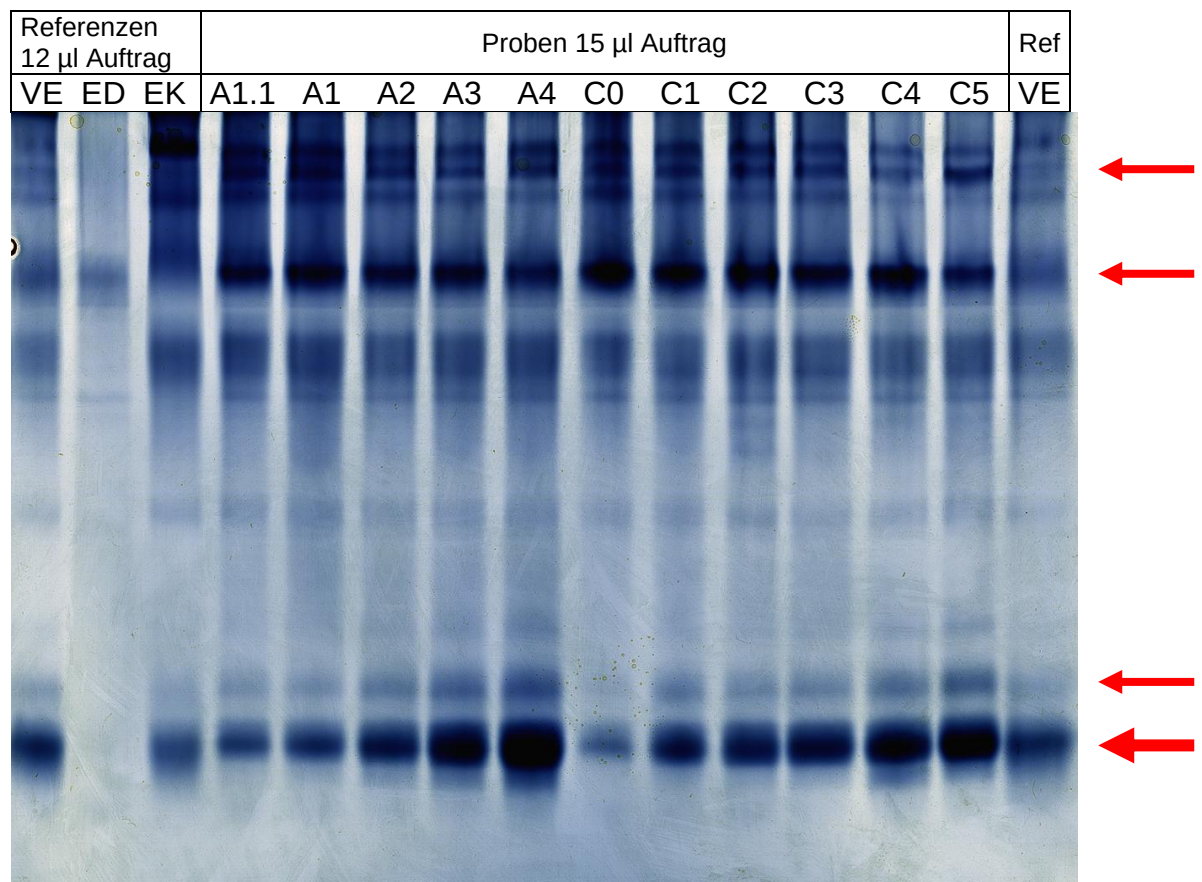


Abbildung 3: Urea-PAGE der A- und C-Serie

In Abbildung 3 ist eine typische Urea-PAGE von Eiern ersichtlich. Die Grenzen der Banden sind verschwommen und man kann das Gel kaum auswerten. Was allerdings auf den ersten Blick ersichtlich ist, sind die zwei stark zunehmenden Banden im unteren Viertel der Gels und dass es keine Unterschiede zwischen VE- und VZ-Proben gibt. Auf Grund der Banden der Referenzen kann geschlossen werden, dass es sich um eine Ovalbumin-Bande handelt, denn Ovalbumin kommt im Eidotter gar nicht vor und macht 54 % der Eiklarproteine

aus. Dies würde in etwa dem Bandenprofil der drei Referenzproben entsprechen. Nachdem ein frisches Ei 5 % S-Ovalbumin enthält und ein sechs Monate gelagertes Ei 80 %, könnte die untere Bande ein Hinweis auf eine S-Ovalbumin-Bande sein. Die weiteren Bandenbereiche, die rechts mit einem roten Pfeil gekennzeichnet sind weisen auch schwache Veränderungen auf. Im oberen Abschnitt des Gels sinkt die Intensität der gekennzeichneten Banden ein wenig und die untere steigt stark an. Es kann aber auch auf eine natürliche Streuung hinweisen.

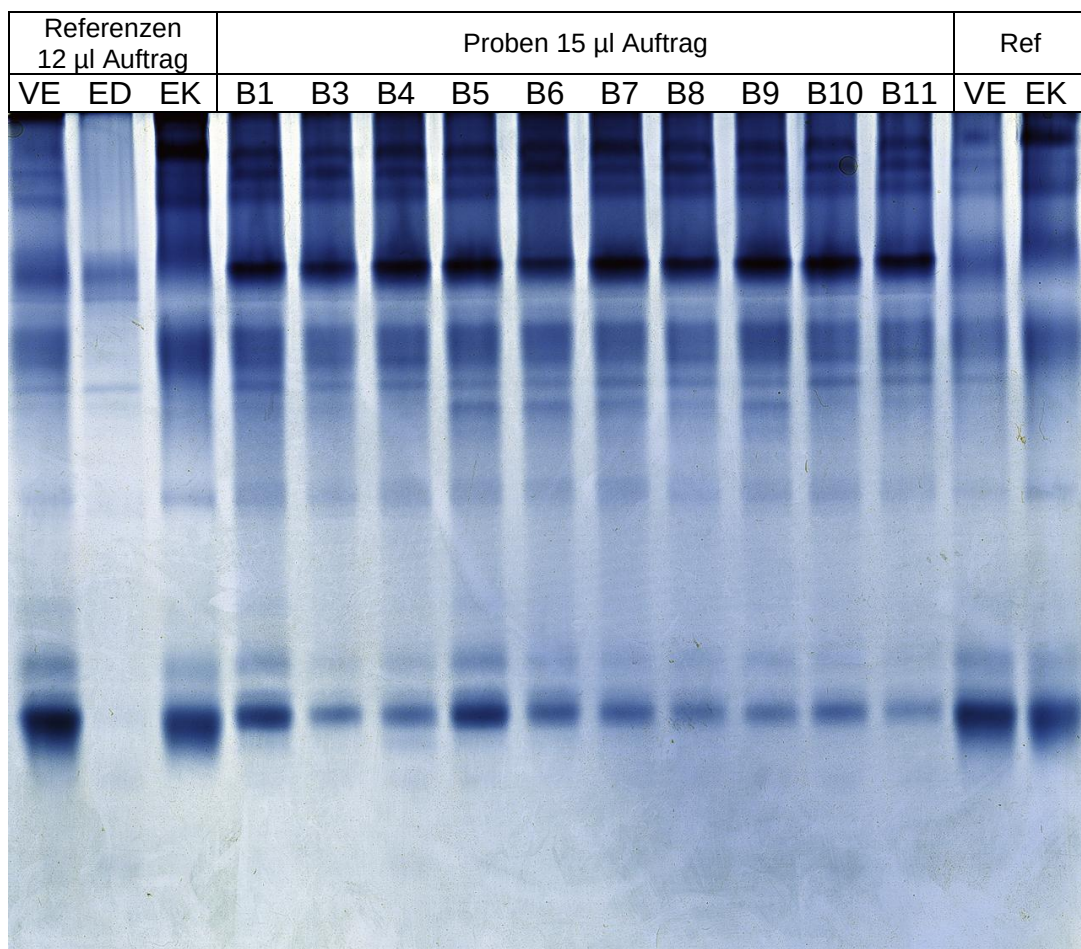


Abbildung 4: Urea-PAGE der B-Serie

In Abbildung 4 erkennt man nun die natürliche Streuung frischer Eier. Zwar ist kein Trend in einer der Bandenreihen ersichtlich, jedoch zeigen sich Unterschiede zwischen den Monaten in den Bandenprofilen. Die intensive unterste Bande bei den Proben B1 und B5 könnte auf eine längere Zeit vor dem ersten

Einfrieren hindeuten, da die restlichen Banden dieser Proben nicht intensiver scheinen als die anderen.

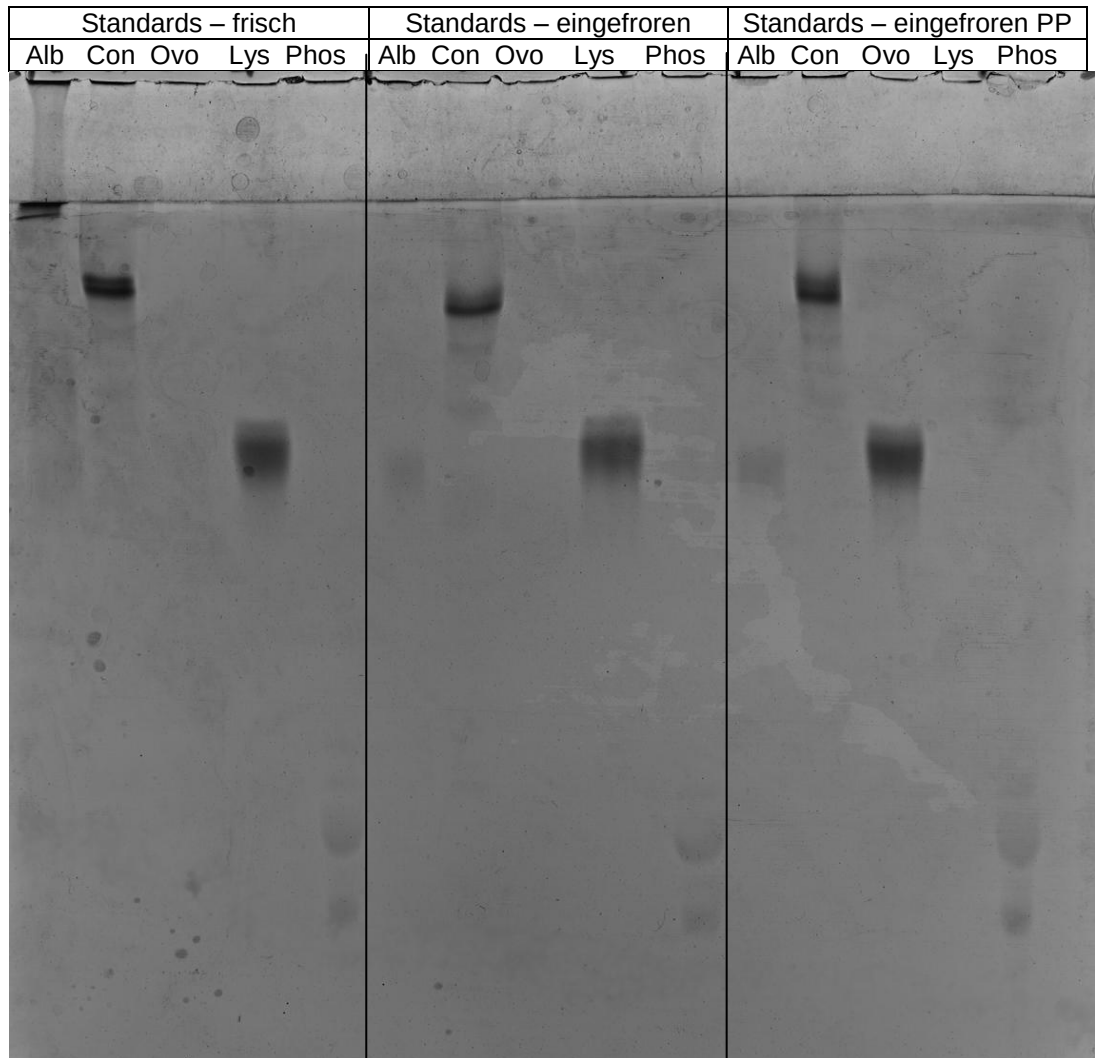


Abbildung 5: Urea-PAGE der 5 Standards (Sammelgel und Trenngel)

Abbildung 5 zeigt ein Gel mit fünf unterschiedlichen Standards mit drei verschiedenen Aufarbeitungen (Auftrag jeweils 20 µl), die in Tabelle 15 mit Molekulargewicht und Auftragsverdünnungsstufe aufgelistet sind.

Tabelle 15: Standards

Ovoprotein	MG [Da]	Verdünnung	Beschreibung
Ovalbumin	44500	1 mg Probe/ 500 µl PP	Sigma Aldrich (Reinheit ≥ 90 %)
Conalbumin	76000	1 mg Probe/ 500 µl PP	Sigma Aldrich (Reinheit ≥ 98 %)
Ovomucoid	28000	1 mg Probe/ 500 µl PP	Sigma Aldrich (partially purified)
Lysozym	14300	1 mg Probe/ 500 µl PP	Sigma Aldrich (Reinheit ≥ 98 %)
Phosvitin	59000	1 mg Probe/ 500 µl PP	Sigma Aldrich (Reinheit k.A.)

Im ersten Drittel des Gels war die Aufarbeitung der Standards wie die der Proben. Sie wurden 1:3 mit UHQ-Wasser verdünnt, über Nacht eingefroren, am darauffolgenden Tag mit Probenpuffer 1:5 verdünnt und mit einem Tropfen Mercaptoethanol versetzt. Im zweiten Drittel wurden die Proben 1:3 mit UHQ-Wasser verdünnt und einen Monat eingefroren. Am Tag des Auftrags wurden sie mit Probenpuffer 1:5 verdünnt mit einem Tropfen Mercaptoethanol versetzt. Im letzten Drittel wurden die Proben 1:5 mit Probenpuffer verdünnt und einen Monat tiefgekühlt gelagert. Am Tag des Auftrags wurde ein Tropfen Mercaptoethanol hinzugefügt.

Das Sammelgel wird im Normalfall mit einem Gelschneidemesser entfernt und nicht mitgescannt. In diesem Fall wurde aber der eventuelle Verbleib von Komponenten im Sammelgel überprüft. Dies ergab jedoch keinen Aufschluss.

Die erste Bande ist bei jedem Standard die stärkste. Diese Aufarbeitungsmethode ist also zu empfehlen. Die Albuminbande verschwindet sogar komplett bei den anderen Methoden, was nicht erwartet wurde, denn zwischen erster und zweiter Methode ist kaum ein Unterschied, außer die Lagerzeit bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Die Lysozymbande ist hier nicht ersichtlich, denn der isoelektrische Punkt dieses Proteins liegt, wie bereits erwähnt, bei 10,7. Es wurde in einem weiteren Versuch die Anode und Kathode vertauscht und so wurde eine Bande sichtbar.

Die Ovomuroidbande wandert auf Grund der Abwesenheit von Lysozym nach rechts. Die zwei Phosvitinbanden sind sehr schwach im unteren Teil des Gels sichtbar.

4.1.2 SDS-PAGE

SDS-Gelelektrophorese ist die geeignetste Methode um Eiweiße aufzutrennen. Die Trennung erfolgt ausschließlich nach der Masse, denn die Eigenladung der Proteine wird durch den Zusatz von SDS unterdrückt [RAIKOS et al., 2006].

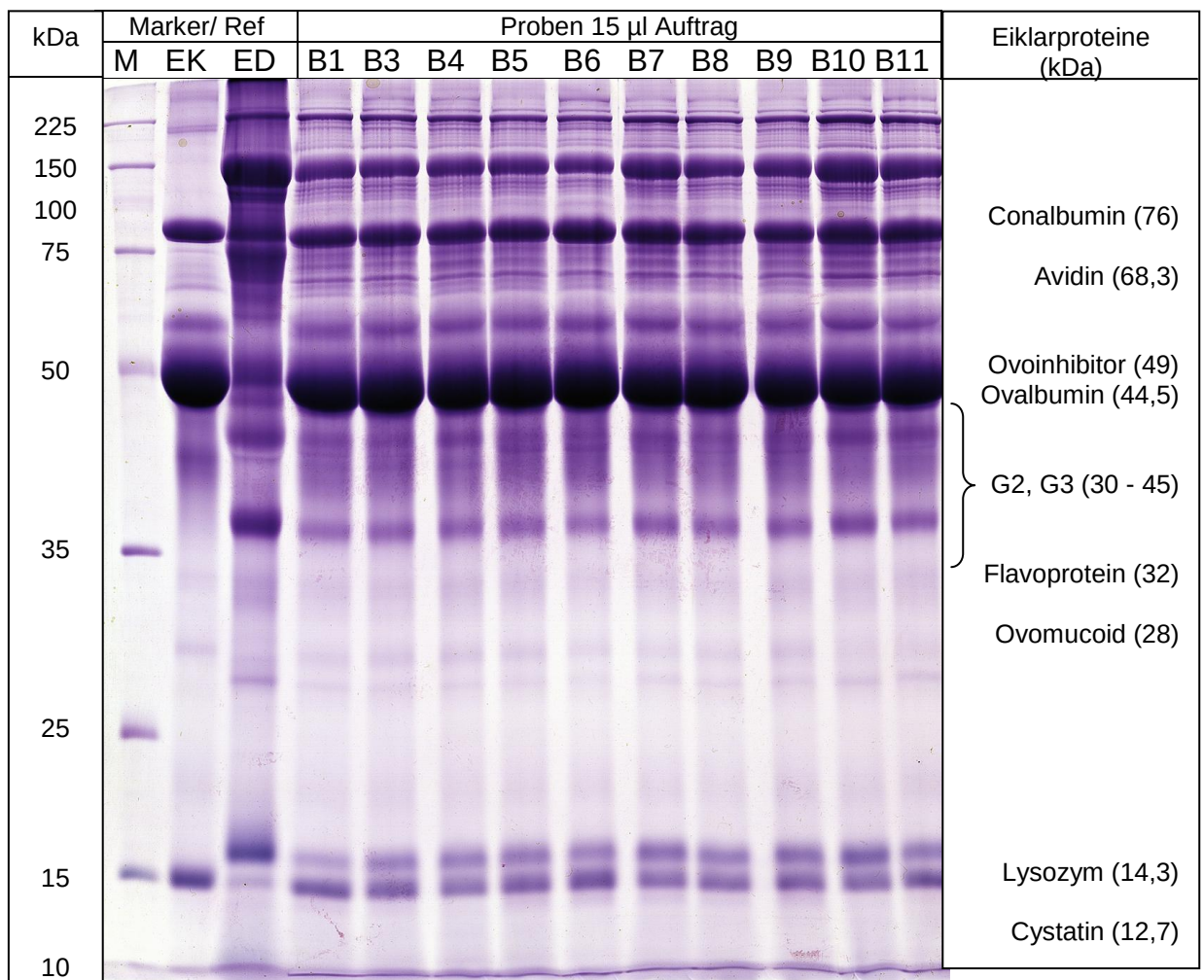


Abbildung 6: SDS-PAGE der B-Serie

In Abbildung 6 ist ein SDS-Gel dargestellt. Es wird mit einem anderen Farbstoff gefärbt als die Alkalischen Gele und weichen deswegen etwas ab. Links ist ein Roti-Marker aufgetragen (7 µl) um die Masse der Proteinbanden identifizieren zu können. Daneben sind die zwei Referenzen Eiklar und Eidotter aufgetragen und anschließend die Monatseierreihe. Auf diesem Gel ist kein Trend er-

sichtlich. Die Proben unterscheiden sich auch nur geringfügig voneinander. Allerdings kann man anhand von diesem Gel die Eiweiße auf Grund der Intensität der Banden und des Markers identifizieren. Die Hauptfraktionen des Eiklars sind rechts neben dem Gel beschriftet.

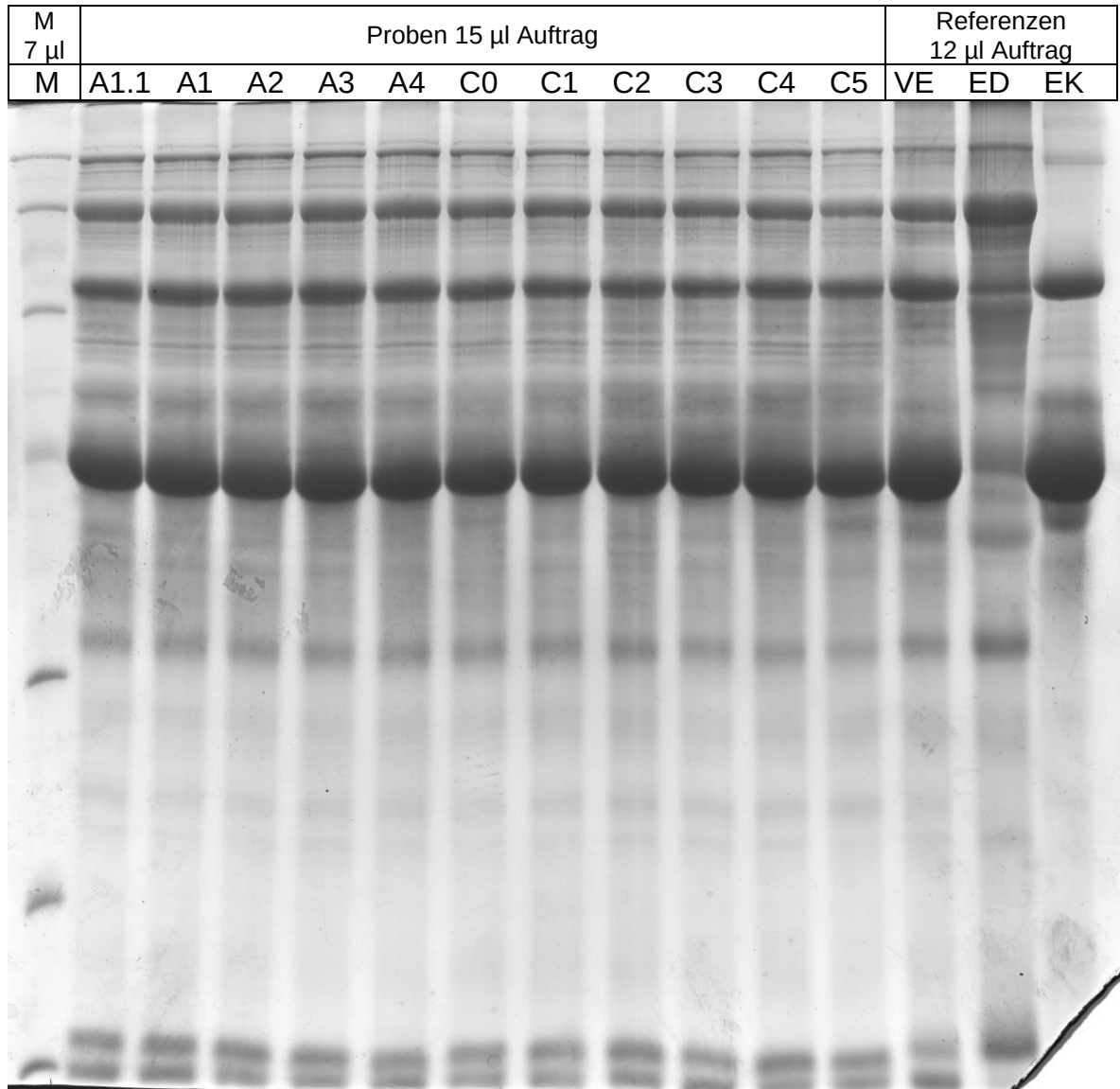


Abbildung 7: SDS-PAGE von A- und C-Serie

Auch auf diesem Gel innerhalb der Lagerungsreihen sind keine Trends ersichtlich. Rechts handelt es sich wieder um den Roti-Marker von 225000 Dalton bis 10000 Dalton.

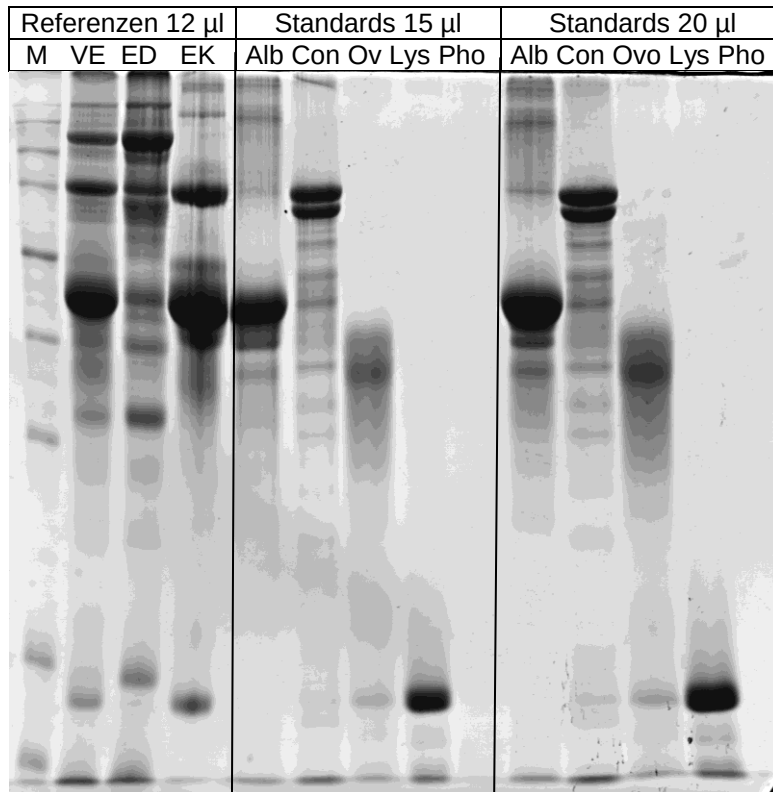


Abbildung 8: SDS-PAGE, Standards

Abbildung 8 zeigt ein Gel mit den fünf Standards mit zwei verschiedenen Auftragsmengen (Auftrag 15 bzw. 20 μ l), die in Tabelle 16 mit Molekulargewicht und Auftragsverdünnungsstufe aufgelistet sind.

Tabelle 16: SDS-PAGE Standards

Ovoprotein	MG [Da]	Verdünnung	Beschreibung
Ovalbumin	44500	1:2000	Sigma Aldrich (Reinheit ≥ 90 %)
Conalbumin	76000	1:600	Sigma Aldrich (Reinheit ≥ 98 %)
Ovomucoid	28000	1:1000	Sigma Aldrich (partially purified)
Lysozym	14300	1:600	Sigma Aldrich (Reinheit ≥ 98 %)
Phosvitin	59000	1:50	Sigma Aldrich (Reinheit k.A.)

Die Reinheit der Standards beträgt nicht 100 %. Aus diesem Grund sind auch mehrere undefinierende Banden ersichtlich. Der Roti-Marker ist verschwommen, aber die Banden sind erkennbar. Die Standards wurden, wie aus Tabelle 16 hervorgeht, in verschiedenen Verdünnungen aufgetragen, entsprechen aber nicht den Konzentrationen im Vollei. Die Phosvitinbande ist auf Grund seines isoelektrischen Punkts nicht vorhanden (siehe Urea-PAGE).

4.1.3 Native PAGE

In diesem Kapitel werden die Gele der nativen Gelelektrophorese diskutiert. Die Proben wurden unbehandelt aufgetragen, es wurde weder SDS noch Mercaptoethanol zur Probenbehandlung eingesetzt.

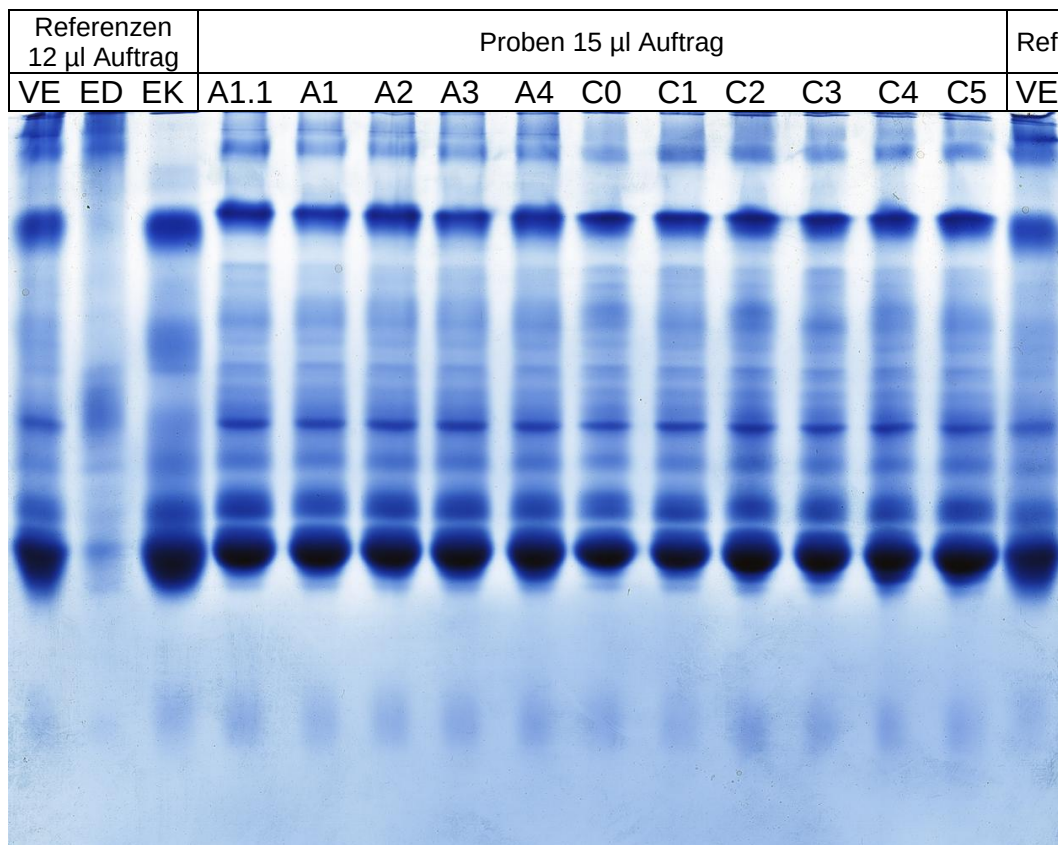


Abbildung 9: Native PAGE - A- und C-Serie

Auf der linken Seite sind die Referenzen aufgetragen: Vollei, Eidotter und Eiklar. Diese lassen einige Schlüsse zu. Die intensivste Bande im unteren Drittel des Gels stellt Ovalbumin dar, es kommt im Eidotter nicht vor und im Eiklar ist es die auffälligste Bande. Conalbumin ist auch nur im Eiklar vertreten und ist auch als intensive Bande im ersten Viertel des Gels zu sehen. Die Eidotterproteine sind nicht zu identifizieren, die Banden sind zu verwischt. Mehr Aufschlüsse würden zugelassen, wenn Standards mitgelaufen wären. Dies wird in nachfolgenden Arbeiten erläutert.

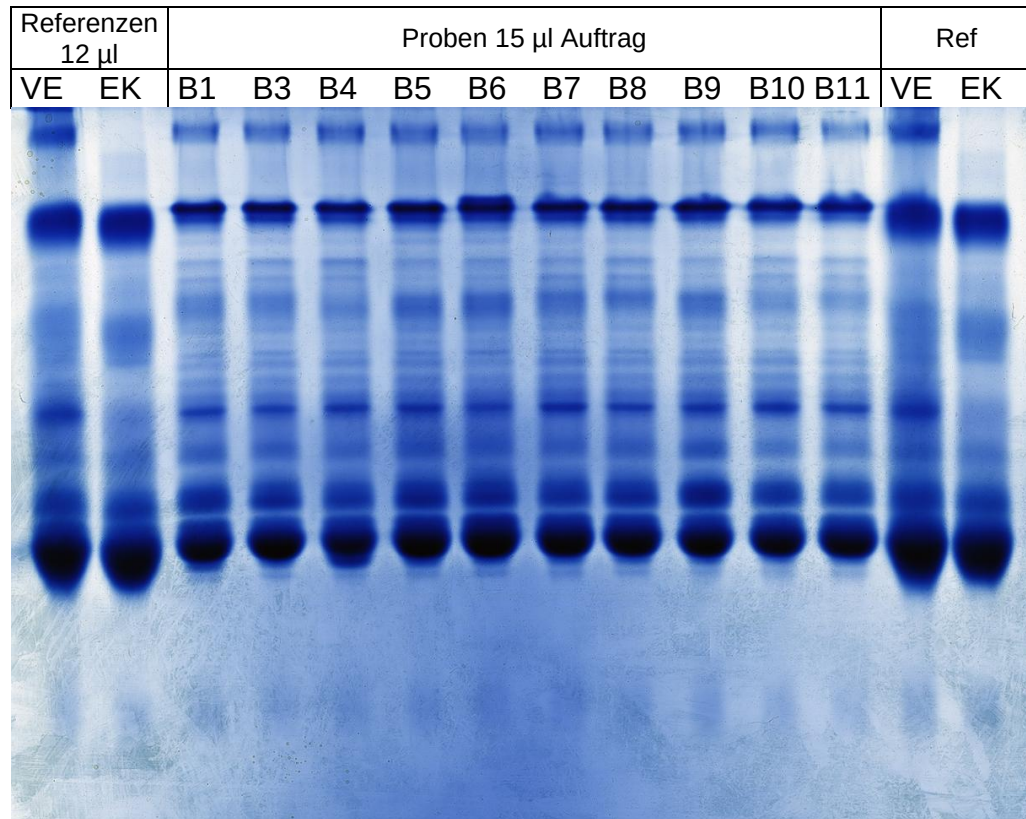


Abbildung 10: Native PAGE - B-Serie

In Abbildung 10 ist das native Gel der B-Serie zu sehen. Es wurde aufgrund der geringen Aussagekraft der Eidotter-Referenz bei der vorherigen PAGE, nur Vollei und Eiklar aufgetragen. Obwohl dieses Gel etwas ungleichmäßig entfärbt wurde, sind die Banden klar ersichtlich. Allerdings ist auch hier keine Aussage über jahreszeitliche Schwankungen zu treffen.

Abschließend wird festgestellt, dass die Gelelektrophorese eine geeignete Methode darstellt, um Eiroteine aufzutrennen. Selbst die Urea-PAGE, die für Caseine etabliert wurde, zeigt Ergebnisse, die allerdings in weiteren Arbeiten konkretisiert werden müssen.

4.2 Bestimmungen nach Kjeldahl: TN – NPN – ELN

Die folgenden Seiten sind der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl gewidmet. Die Ergebnisse der verschiedenen Aufarbeitungen sind nach Serien aufgelistet. Der NPN-Gehalt korreliert sehr stark mit dem ELN-Gehalt, weswegen meist nur einer der zwei Werte genauer ausgeführt ist [IMAFIDON und SOSULSKI, 1990]. Das Verhältnis von NPN zu ELN wird anhand eines Beispiels hier angeführt.

Tabelle 17: Vergleich ELN - NPN

	EW%	TN%	ELN%	%ELN v TN%		EW%	TN%	NPN%	%NPN v TN%
A1	12,507	2,00	0,09	4,70	A1	12,507	2,00	0,06	3,20
A2	12,830	2,05	0,08	3,98	A2	12,830	2,05	0,07	3,18
A3	12,862	2,06	0,11	5,42	A3	12,862	2,06	0,07	3,24

4.2.1 A-Serie

Tabelle 18: N-Gehalt der A-Serie

Probe	EW [%]	NPN v TN [%]	ELN v TN [%]
A1.1	12,31		3,35
A1	12,51	3,20	4,70
A2	12,83	3,18	3,98
A3	12,86	3,24	5,42
A4	12,74		3,34

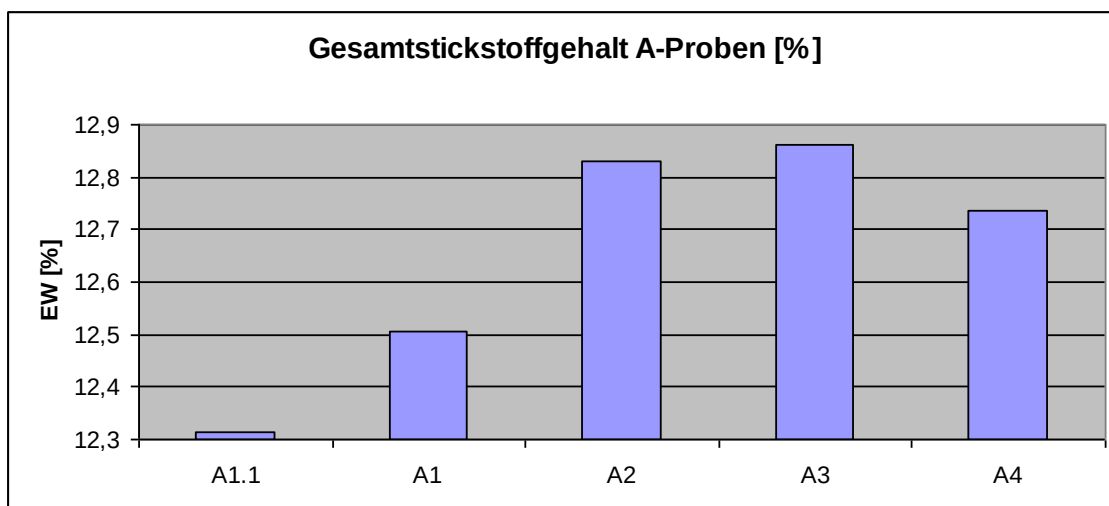


Abbildung 11: Gesamtstickstoffgehalt der A-Proben [%]

Aus Tabelle 17 und Abbildung 11 geht hervor, dass der natürliche Stickstoffgehalt von diesen Volleiern zwischen 12,3 % und 12,9 % variiert. Diese Werte sind etwas höher als in der Literatur, aber durchaus zu erwarten. In Abbildung 12 ist der ELN-Anteil der Proben ersichtlich. Er schwankt zwischen 3,4 % und 5,5 %. Bei diesen Volleizuckerproben gibt es keinen erkennbaren Trend, die geringen Schwankungen deuten eher auf natürliche Unterschiede und Analyseungenauigkeiten hin. Die Probe A1.1 stammt bereits von einer neuen Versuchsreihe und wurde hier hinzugefügt um die Unterschiede von verschiedenen frischen Eiern zu zeigen.

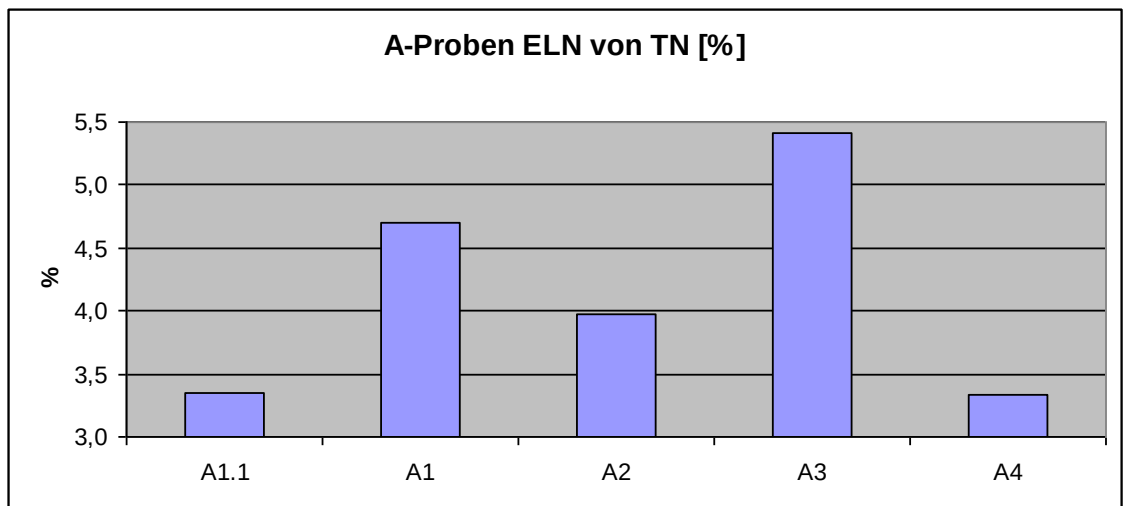


Abbildung 12: A-Proben ELN von TN [%]

4.2.2 B-Serie

Tabelle 19: Kjeldahl - B-Serie

Probe	EW [%]	NPN v TN [%]	ELN v TN [%]
B1	13,25	5,93	6,13
B3	13,28	5,13	3,73
B4	12,96	6,04	3,56
B5	12,91		3,57
B6	11,87		2,99
B7	12,02		3,97
B8	11,82		3,85
B9	12,57		3,69
B10	13,30		4,44
B11	12,19		1,96

Aus Abbildung 13 geht hervor, dass in den Herbstmonaten September, Oktober und November (B6, B7 und B8) der Gesamtstickstoffgehalt etwas niedriger ist. Das wird auf die Fütterung des Freilandbetriebs zurückgeführt.

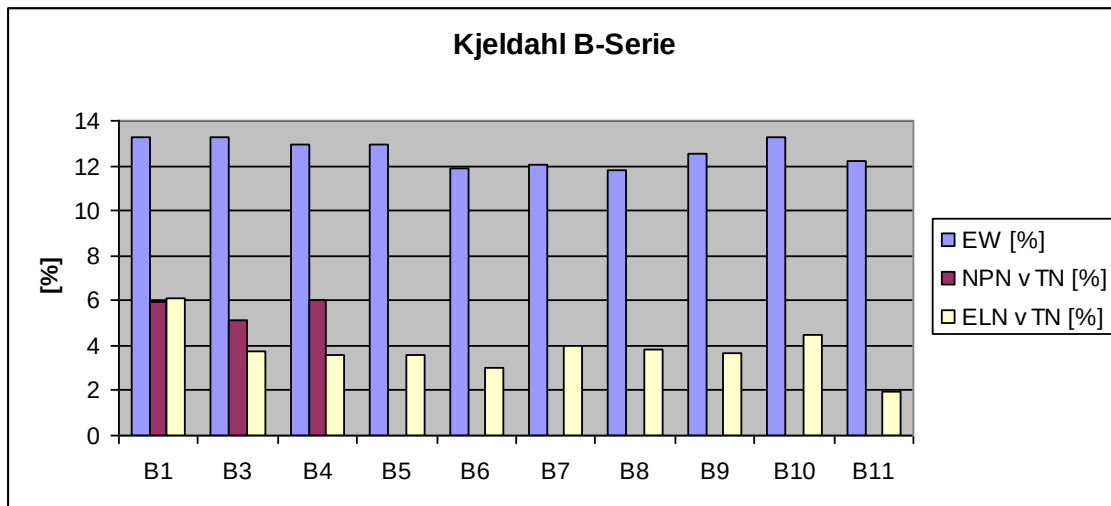


Abbildung 13: Kjeldahl B-Serie

4.2.3 C-Serie

Tabelle 20: Kjeldahl C-Serie

Probe	EW [%]	NPN v TN [%]	ELN v TN [%]
C0	12,5092	2,13	2,15
C1	11,903		3,89
C2	13,2700	4,95	2,64
C3	12,7300	6,22	3,11
C4	12,8800	6,18	3,62
C5	12,4704	3,01	3,72

Die Inhomogenität der Proben, sowie die Probenaufarbeitung, insbesondere das Fällern der Proteine lässt hier kaum Schlüsse zu. Allerdings ist in dieser Serie ein Anstieg des Ethanol-löslichen Stickstoffs zu verzeichnen, wenn man C1 als Ausreißer aus der Betrachtung nimmt (Abbildung 14).

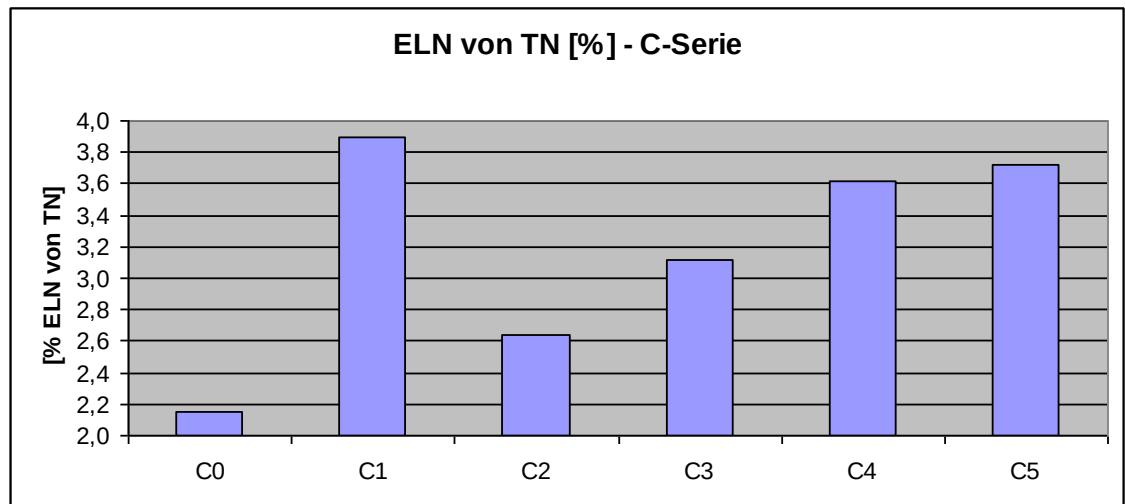


Abbildung 14: ELN von TN - C-Serie

4.2.4 Volleizuckerproben

Tabelle 21: TN und ELN von Volleizuckerproben

Probe	EW [%]	TN [%]	% ELN von TN
12a sehr gut	12,05	1,93	3,46
15a schlecht	11,99	1,92	2,91
16a sehr schlecht	11,91	1,91	0,79
1 gut/exc	11,52	1,84	3,37
2 gut/super	13,05	2,09	2,56
3 gut/super	12,65	2,02	2,17
4 gut/super	12,78	2,04	2,08
5 gut	11,90	1,90	2,71
6 gut	11,72	1,87	2,65
7 gut	11,42	1,83	3,08
8 gut	12,12	1,94	2,58
9 gut	11,92	1,91	2,97
10 gut	13,51	2,16	1,93
11 schlecht	11,76	1,88	3,32
12 schlecht	11,52	1,84	4,00
1a gut/exc	11,44	1,83	3,39
2a gut	13,06	2,09	2,56
3a gut	13,00	2,08	2,11
4a gut	13,20	2,11	2,02
7a gut	11,44	1,83	2,82
8a gut	12,12	1,94	2,56

Auch hier unterliegen die Werte einer natürlichen Streuung und lassen keinen Schluss über Verarbeitbarkeit oder Alter zu. Die untersuchten Aliquote waren homogen, allerdings behindert der Zucker die Fällung und so sind die ELN-Werte nicht als absolut zu betrachten.

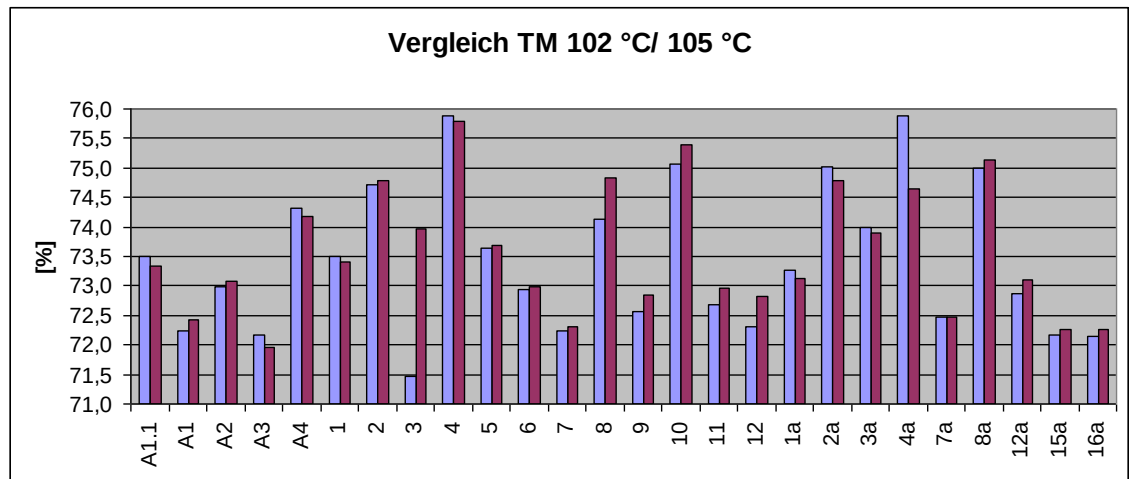
4.3 Trockenmasse

In diesem Kapitel werden die Ergebnisse der Trockenmassebestimmung erläutert. Es ist unterteilt in die zwei verschiedenen Zustände der Proben: Volleier und Volleizuckerkonzentrate, denn diese lassen sich nicht untereinander vergleichen. Der Wassergehalt der VZ ist in etwa um 50 % geringer, denn bei diesen Chargen wurde die Hälfte eingedampft und dieser Anteil mit Zucker aufgefüllt.

4.3.1 Volleizuckerproben

Tabelle 22: Trockenmasse [%] der VZ

Probe	TM [105°, 24h]	TM [102°, 24h]
A1.1	73,50	73,34
A1	72,24	72,42
A2	72,99	73,07
A3	72,16	71,95
A4	74,32	74,19
1	73,50	73,34
2	74,72	74,78
3	71,46	73,97
4	75,88	75,80
5	73,65	73,69
6	72,93	72,98
7	72,23	72,31
8	74,13	74,83
9	72,55	72,85
10	75,08	75,40
11	72,68	72,96
12	72,30	72,83
1a	73,27	73,12
2a	75,01	74,79
3a	73,99	73,90
4a	75,89	74,65
7a	72,467	72,46
8a	74,98	75,13
12a	72,87	73,10
15a	72,17	72,25
16a	72,14	72,27



Die Trockenmasse der Volleizuckerkonzentrate liegt zwischen 72 % und 76 %. Diese Werte sind aufgrund der technologischen Vorverarbeitung nicht überraschend. Die Unterschiede zwischen den Trocknungstemperaturen 102 °C und 105 °C sind vernachlässigbar und folgen keinem Trend. Die Vermutung, dass bei 105 °C die Proben „stärker“ getrocknet werden und so eine höhere Trockenmasse vortäuschen, hat sich nicht bestätigt. Die Werte folgen einer natürlichen Streuung.

4.3.2 Volleiprobe

Tabelle 23: TM B- und C-Serie

Probe	TM [105°, 24h]	TM [102°, 24h]
B1	23,74	23,95
B3	25,96	25,91
B4	24,82	24,54
B5	24,67	24,80
B6	17,65	18,89
B7	23,44	22,97
B8	21,34	17,98
B9	23,42	22,40
B10	27,05	27,10
B11	23,01	23,30
C0	23,38	23,35
C1	21,97	21,83
C2	24,23	24,55
C3	24,53	24,83
C4	24,69	25,02
C5	20,92	22,49

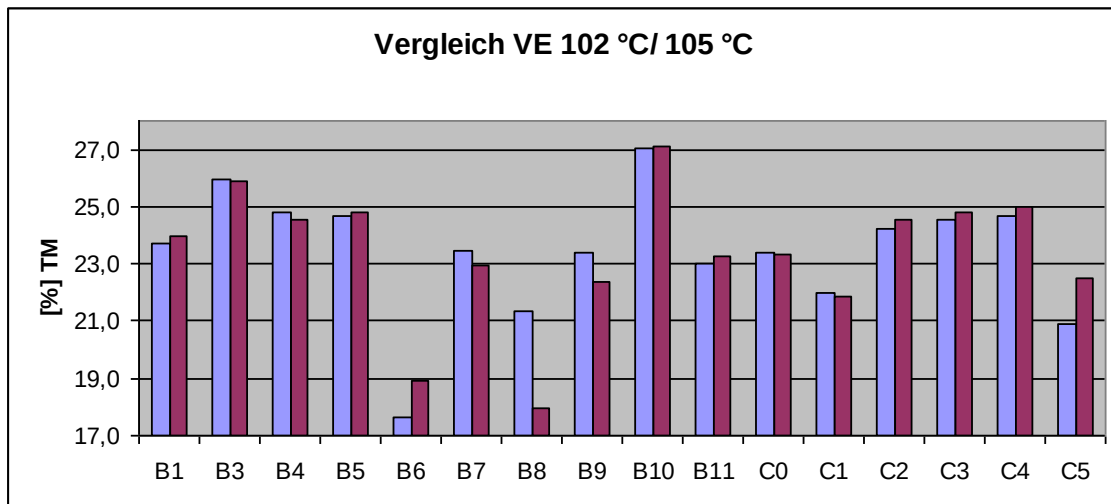


Abbildung 15: Vergleich VE 102 °C/ 105 °C

Die Schwankungsbreiten bei den Volleiprobe sind geringer. Das wird auf die Verarbeitung der VZ zurückgeführt. Die Proben B6 und B8 liegen etwas unter dem Durchschnitt. Der Grund dafür sind die inhomogenen Aliquote, der Eiklaranteil war hier eindeutig höher. Trend ist auch hier nur ein geringer bei der C-Serie auszumachen, allerdings fällt das 5 Monate gelagerte Ei (C5) wieder ab. Laut Literatur sinkt der Wasseranteil der Eier über 6 Monate signifikant, allerdings natürlich bei in Schale gelagerten Eiern.

4.4 Leitfähigkeit

Auch in diesem Kapitel werden die Proben wieder nach Zustand geordnet, weil in den Volleizuckerproben die Leitfähigkeit viel geringer ist.

4.4.1 Volleizuckerproben

Tabelle 24: Leitfähigkeit VZ-Proben

Probe	[$\mu\text{S}/\text{cm}$]
A1	161,3
A2	158,0
A3	199,0
A4	148,4
A1.1	166,8
12a	166,1
15a	186,8
16a	196,7
1	163,4
2	141,6
3	160,1
4	105,2
5	134,9
6	169,7
7	189,6
8	126,0
9	174,8
10	120,6
11	172,7
12	122,5
1a	196,3
2a	119,1
3a	130,4
4a	120,7
7a	187,3
8a	118,2

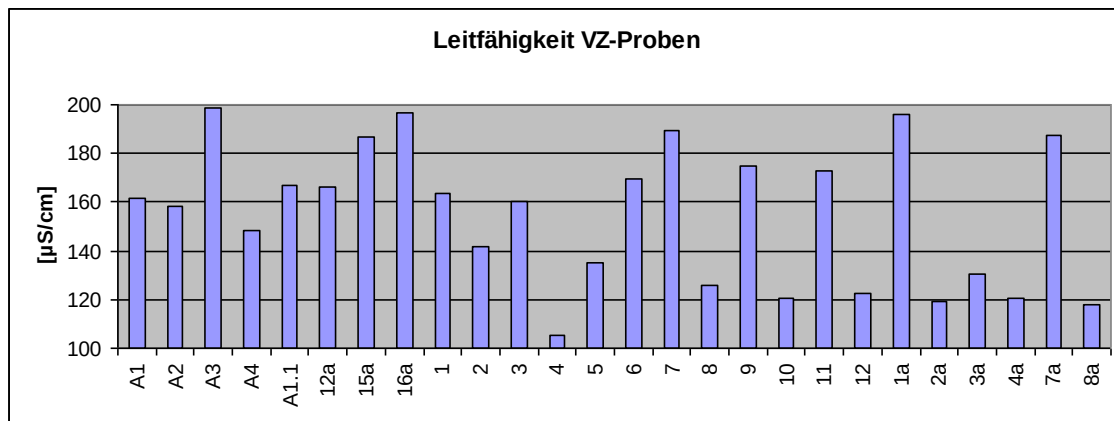


Abbildung 16: Leitfähigkeit VZ-Proben

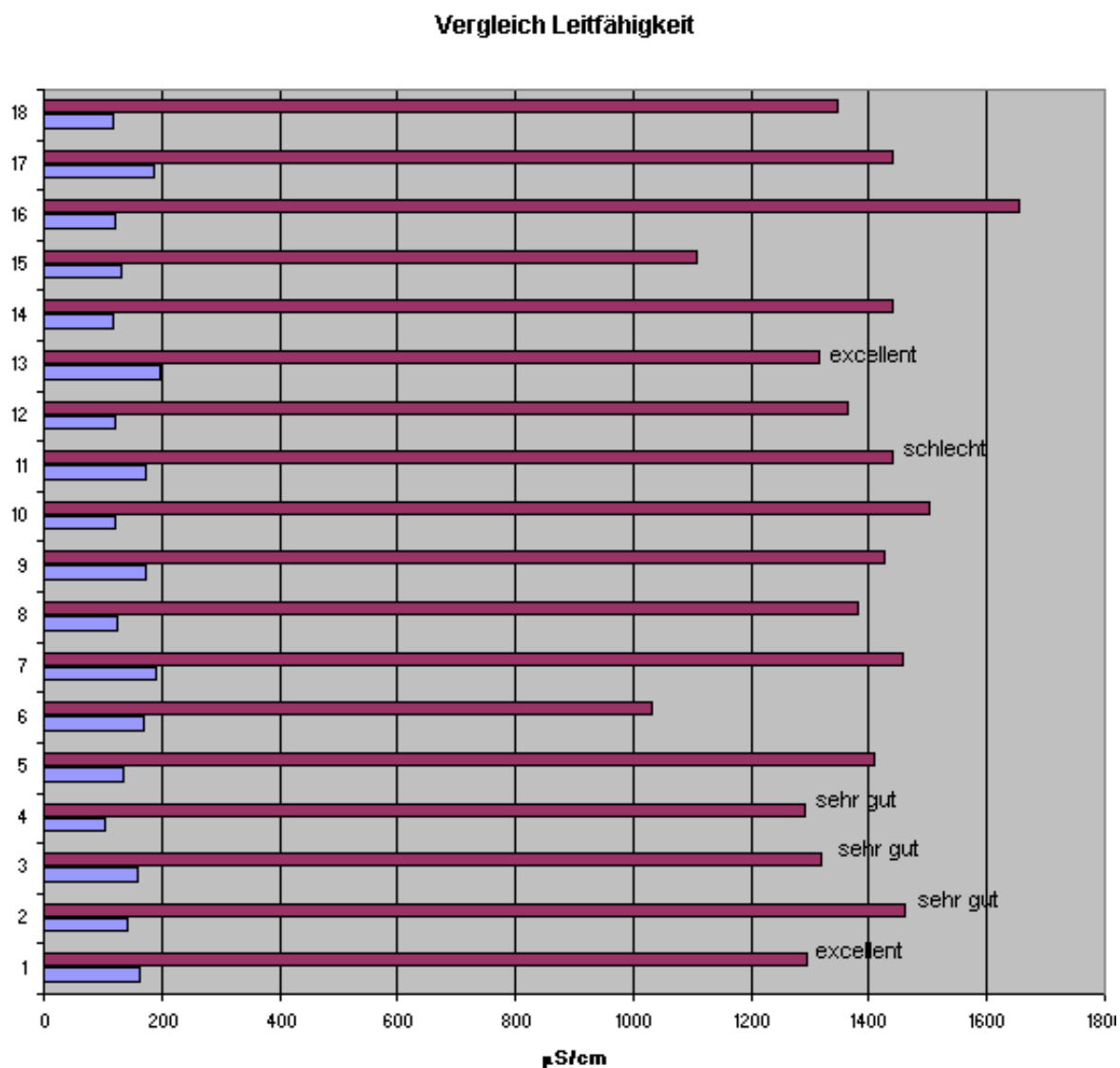


Abbildung 17: Vergleich Leitfähigkeit

Die spezifische Leitfähigkeit lässt keine Aussage über das Alter oder die Verarbeitbarkeit der Eier zu. In Abbildung 15 sind besonders schlecht/ gut zu verarbeitende Eier gekennzeichnet. Der blaue Balken stellt die unverdünnten Proben dar und der violette eine 1:5 Verdünnung.

Die maximale Leitfähigkeit eines Ei-Zucker-Konzentrats liegt bei einer 1:5 Verdünnung, anschließend sinkt sie linear wieder. Ein Grund dafür könnte sein, dass die Zucker die Mineralstoffe komplexieren und diese gehen dann in einer wässrigen Verdünnung in Lösung und erhöhen so die Leitfähigkeit.

4.4.2 Volleipproben

Tabelle 25: Leitfähigkeit VE

Probe	[mS/cm]
B1	6,47
B3	6,24
B4	6,26
B5	6,27
B6	7,41
B7	6,59
B8	6,92
B9	6,55
B10	5,80
B11	6,49
C0	7,13
C1	6,55
C2	6,69
C3	6,41
C4	6,68
C5	6,92

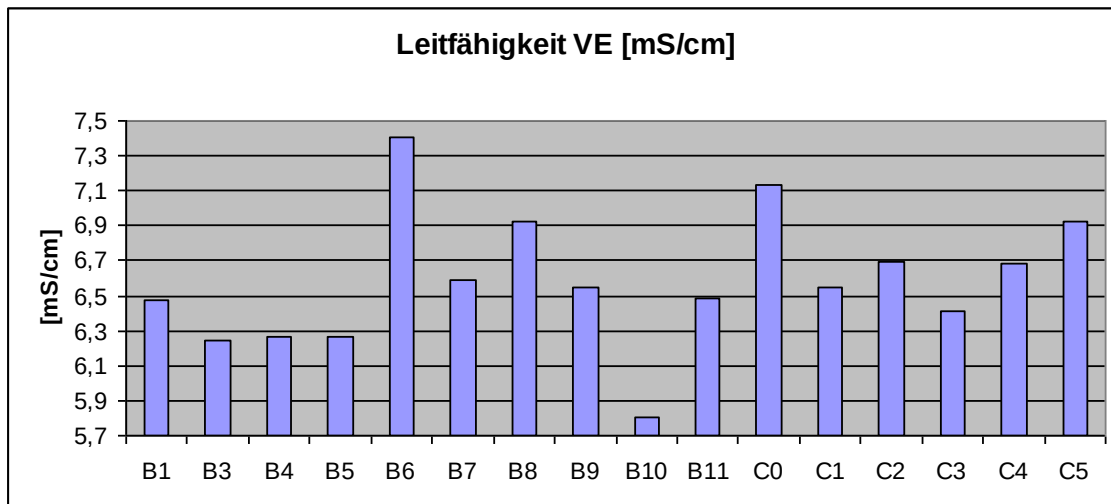


Abbildung 18: Leitfähigkeit VE

Die Leitfähigkeitswerte stimmen mit der Literatur überein, allerdings ist auch hier kein Trend über den Lagerungszeitraum ersichtlich. Die Proben B6 und B8 fallen auch hier durch höhere Werte auf. Das wird wiederum auf die Homogenität der Probe zurückgeführt.

4.5 pH-Wert

Tabelle 26: pH-Werte

Probe	pH-Wert	Probe	pH-Wert	Probe	pH-Wert
B1	7,92	C0	7,69	1	8,46
B3	7,65	C1	7,88	2	8,56
B4	7,46	C2	6,34	3	8,61
B5	7,46	C3	7,53	4	8,47
B6	7,82	C4	7,52	5	8,55
B7	7,48	C5	7,74	6	8,52
B8	7,39	A1	8,41	7	8,33
B9	7,50	A2	8,49	8	8,57
B10	7,17	A3	8,53	9	8,43
B11	7,39	A4	8,36	10	8,58
		A1.1	8,32	11	8,51
				12	8,40
				1a	8,51
				2a	8,51
				3a	8,52
				4a	8,44
				7a	8,41
				8a	8,54
				12a	8,25
				15a	8,12
				16a	8,45

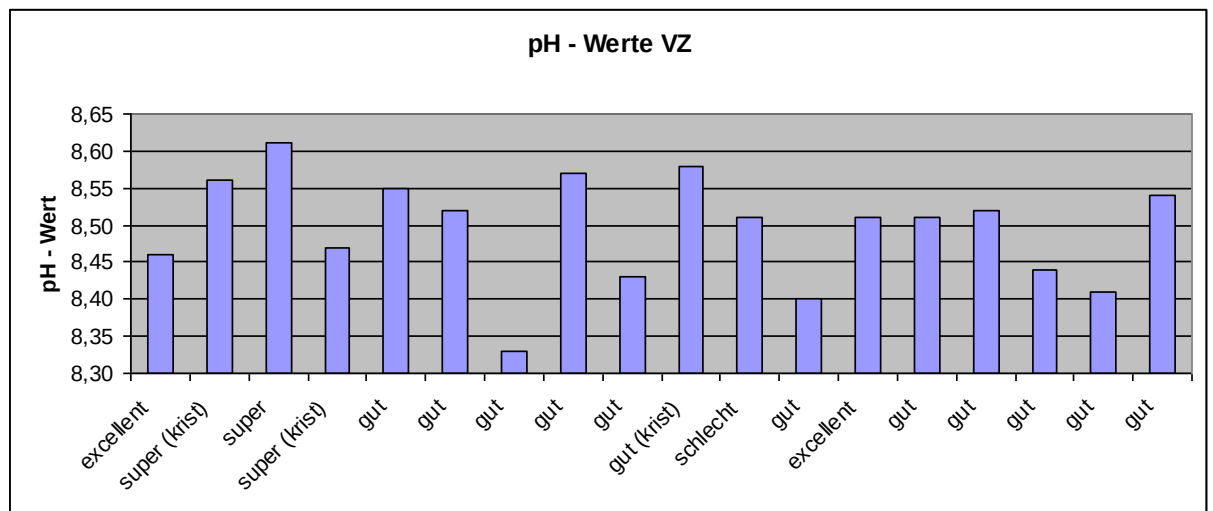


Abbildung 19: pH-Wert VZ

In Abbildung 17 ist aufgelistet, wie gut sich die Volleizuckerkonzentrate verarbeiten ließen. Der pH-Wert gibt darüber allerdings keine Auskunft.

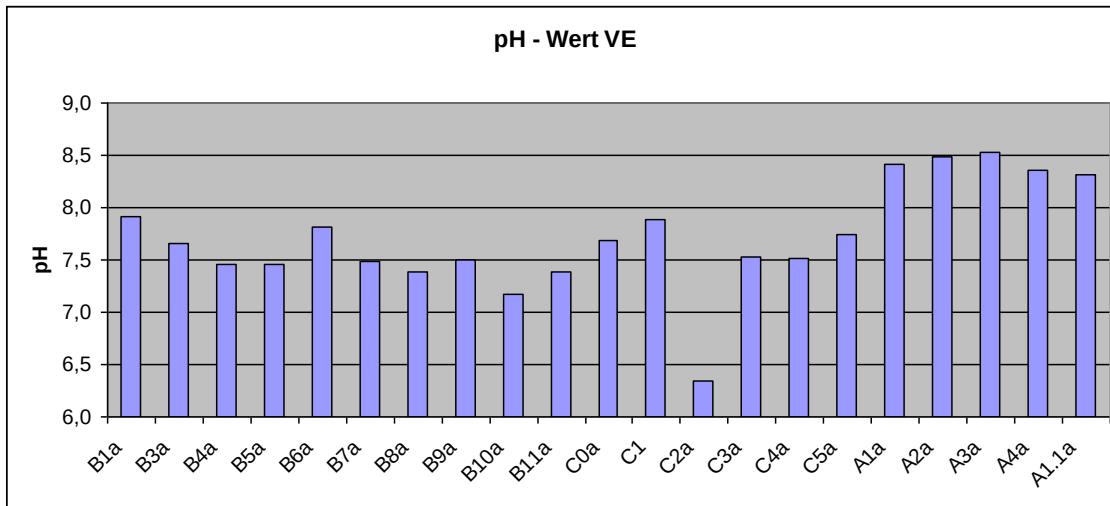


Abbildung 20: pH-Werte VE

Die pH-Werte der Proben liegen zwischen 7,2 und 8,5. Die Probe C2 ist ein Ausreißer, alle anderen Abweichungen werden als natürliche Schwankung gedeutet.

4.6 Asche

Tabelle 27: Aschegehalt

Probe	Asche [%]	Probe	Asche [%]	Probe	Asche [%]
A1.1	0,8276	B1	0,8096	1	0,8756
A1	0,8828	B3	1,0132	2	0,8916
A2	0,8879	B4	0,9092	3	0,9000
A3	0,9018	B5	0,8924	4	0,9044
A4	0,9055	B6	0,7752	5	0,8521
C0	0,8704	B7	0,9026	6	0,8402
C1	0,8762	B8	0,8358	7	0,8398
C2	0,9220	B9	0,8640	8	0,8741
C3	0,9512	B10	1,3189	9	0,8421
C4	0,9160	B11	0,8654	10	0,8867
C5	0,8932			11	0,8469
				12	0,8361
				1a	0,8545
				2a	0,8994
				7a	0,8366
				8a	0,8375
				12a	0,8738
				15a	0,8528

Tabelle 23 zeigt den Aschegehalt der Proben. Die Werte entsprechen in etwa den Literaturangaben, geben aber keine weiteren Aufschlüsse [BALTES, 2007].

4.7 Statistische Auswertung

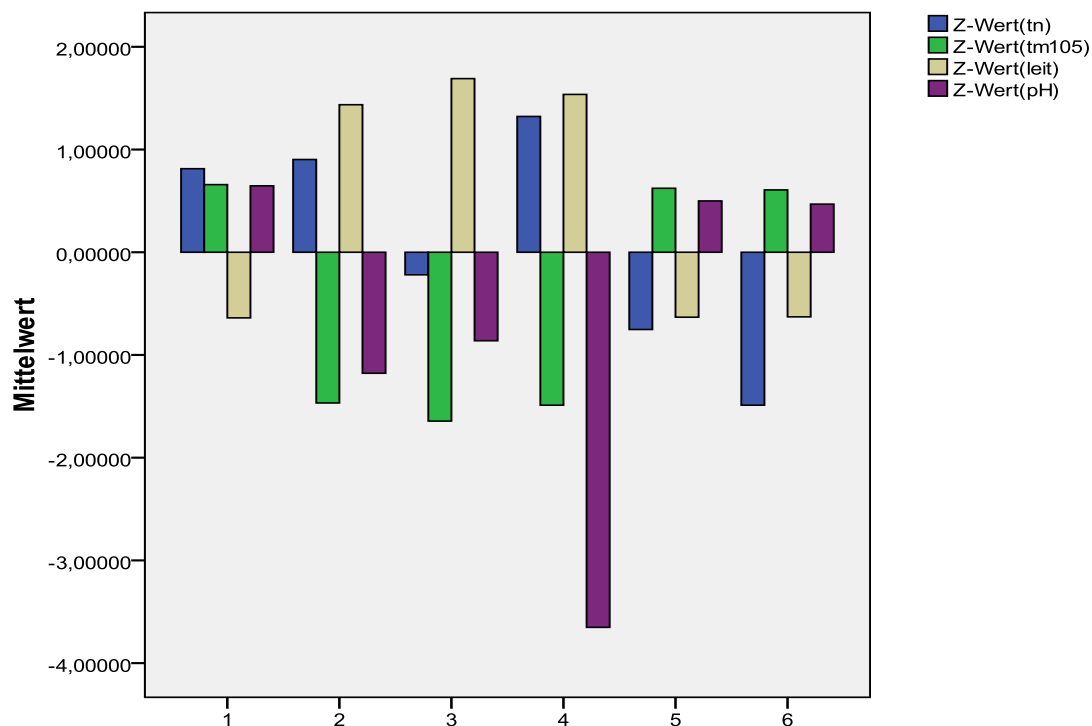


Abbildung 21: Diagramm nach Ward linkage der z-transformierten Werte - euklidisch

Gleich im Anschluss wird dasselbe mit dem quadriert euklidischen Distanzmaß durchgerechnet. Es werden fünf Cluster gewählt, obwohl der Sprung bei drei Clustern größer gewesen wäre [BACKHAUS et al., 2003].

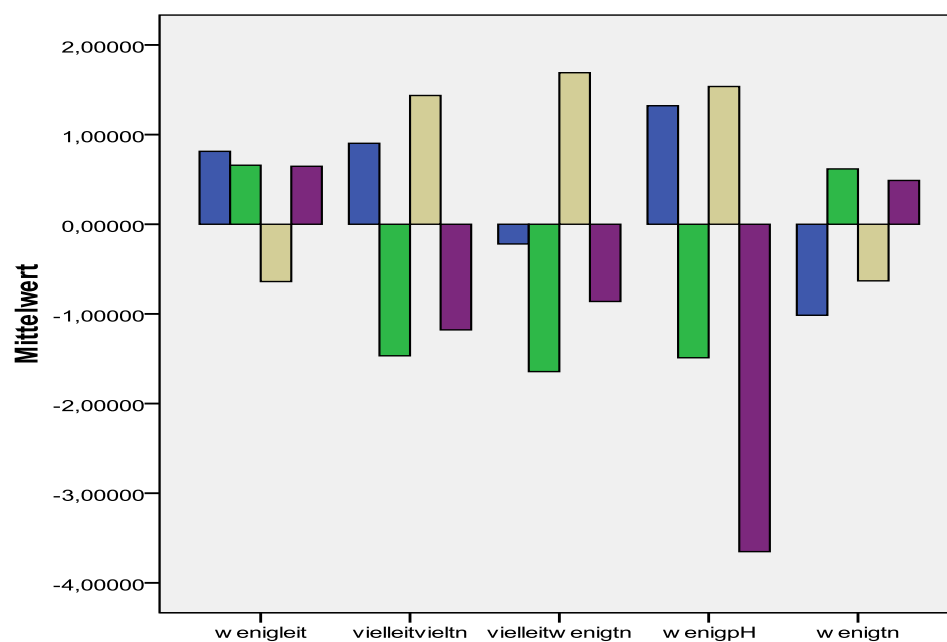


Abbildung 22: Diagramm nach Ward linkage der z-transformierten Werte – quadriert euklidisch

Die zwei verschiedenen Distanzmaße ergeben in etwa dieselben Ergebnisse. Beim quadriert euklidischen Distanzmaß werden die Gruppen fünf und sechs in einer Gruppe zusammengefasst, da sie sich nur geringfügig in ihrem Totalstickstoffgehalt unterscheiden. Das Cluster 1 ist vor allem durch die unterdurchschnittlichen Werte der Leitfähigkeit gekennzeichnet. Die übrigen Variablen liegen etwas über dem Mittelwert. In Cluster 2 und 4 sind die Variablen gleich verteilt, allerdings weicht der pH-Wert in Cluster 4 viel stärker vom Mittelwert ab. Das Cluster 3 weist vor allem eine hohe Leitfähigkeit auf, während die anderen drei Parameter eher unterdurchschnittlich repräsentiert sind. Das Cluster 5 ist die einzige Gruppe, in der die Trockenmasse unterdurchschnittlich vom Mittelwert abweicht [BROSIUS, 2006].

Die fünf Gruppen werden aufgrund dieser Merkmale, wie in Tabelle 24 zusammengefasst, inhaltlich benannt.

Tabelle 28: inhaltliche Benennung der Cluster

Cluster	Benennung
1	Wenigleit
2	Vielleitvieln
3	Vielleitwenign
4	wenigpH
5	wenign

Die Qualität der einzelnen Cluster wird mit dem F-Wert auf Homogenität geprüft. Wenn der F-Wert < 1 ist, sind alle Variablen im Cluster homogen. Dies gilt für alle Werte in den Clustern [BÜHL, 2008].

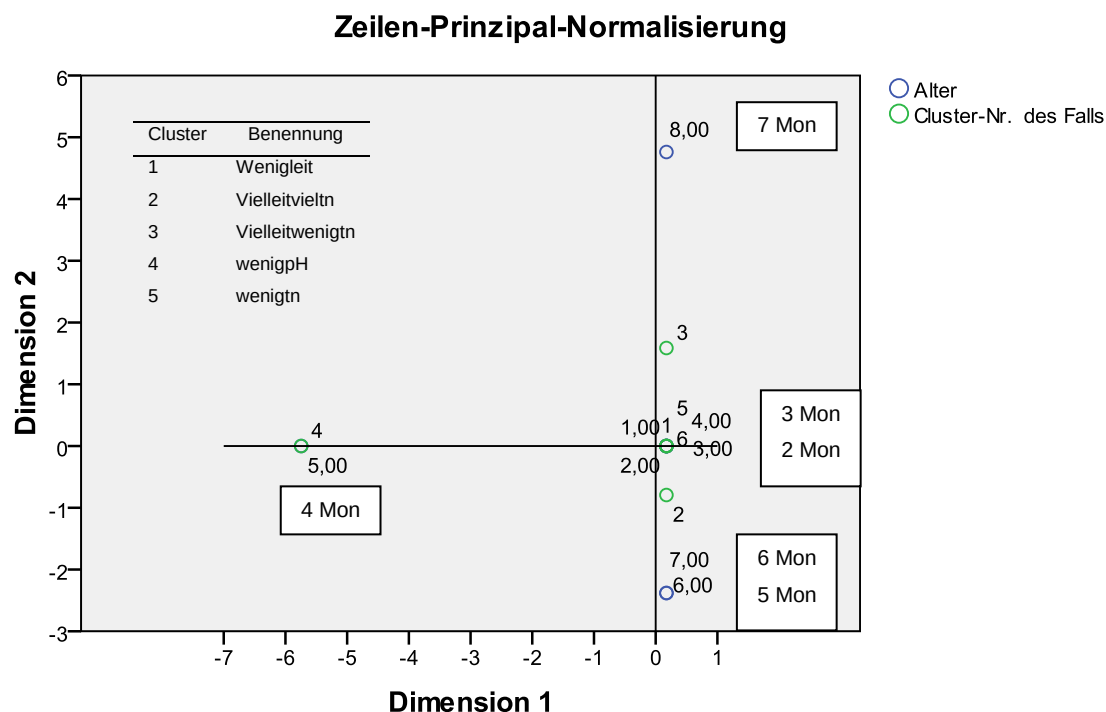
Abschließend werden die zwei unterschiedlichen Clusteranalysen relativ miteinander verglichen. Die Werte werden in jener Clusterlösung besser dargestellt, wo der F-Wert aus der Oneway ANOVA höher ist. Wie in Tabelle 25 und 26 ersichtlich, wird nur der Totalstickstoff in der Lösung mit dem euklidischen Distanzmaß besser dargestellt [KAUFMAN und ROUSSEEUW, 2005].

Tabelle 29: F-Wert Oneway ANOVA – euklidisch

F-Wert Oneway ANOVA	
Z-Wert(tn)	48,312
Z-Wert(tm105)	1918,745
Z-Wert(leit)	5923,679
Z-Wert(pH)	110,8

Tabelle 30: F-Wert Oneway ANOVA – quadriert euklidisch

F-Wert Oneway ANOVA	
Z-Wert(tn)	38,992
Z-Wert(tm105)	2463,191
Z-Wert(leit)	7658,45
Z-Wert(pH)	143,15



Zeilen-Prinzipal-Normalisierung – Alter

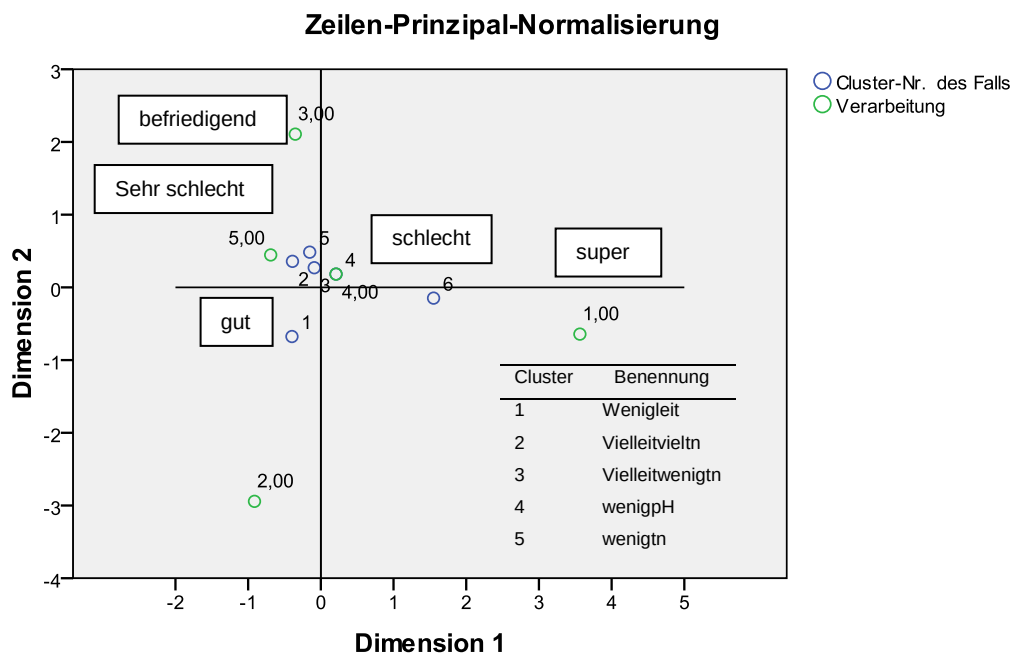
Wie aus dem Kapitel 3.2.2 hervorgeht, hat die Lösung vier Dimensionen, wobei die zweite und die dritte Dimension in etwa gleich viel aussagt. Man verliert ziemlich viel Information, da die dritte Dimension nicht in die Grafik einfließen kann. Das Chi-Quadrat ist 61,704 bei einer Signifikanz von ,004 und 35 Freiheitsgraden. Entlang der Achsen ist kein Trend ersichtlich, somit werden sie auch nicht benannt. Auffällig ist der stark positive Zusammenhang zwischen der langen Lagerungszeit der Eier (8,00) und dem Cluster 3, das

gekennzeichnet ist durch eine hohe Leitfähigkeit und einer geringen Trockenmasse. Dieses Ergebnis ist durchaus plausibel, da durch die Lagerung Teilchen durch die Schale der Eier durchdiffundieren und so die Leitfähigkeit erhöhen. Die niedrige Trockenmasse entspricht allerdings nicht dem Erwartungswert, denn Wasser verdampft während der Lagerungszeit und so würde die Trockenmasse eigentlich steigen. Die Monate 0 – 3 liegen sehr nahe zusammen, sind also schwer auszuwerten. Es gibt kaum Unterschiede zwischen den verschiedenen Lagerungszeiten. Ein stark positiver Zusammenhang besteht auch zwischen fünf und sechs Monate alten Eiern und dem Cluster 2, das gekennzeichnet ist durch eine hohe Trockenmasse und eine hohe Leitfähigkeit. Dieses Ergebnis ist, wie im oberen Beispiel bereits erläutert, zu erwarten.

Tabelle 31: Auswertung Korrespondenzanalyse - Verarbeitung

Auswertung							
Dimension	Singulärwert	Trägheit	Chi- Quadrat	Sig.	Anteil der Trägheit		Singulärwert für Konfidenz
					Bedingen	Kumuliert	Standardabweichung Korrelation 2
1	0,66	0,435			0,546	0,546	0,122
2	0,479	0,23			0,288	0,835	0,113
3	0,305	0,093			0,117	0,952	
4	0,195	0,038			0,048	1	
Gesamt		0,796	27,079	,133 ^a	1	1	

a. 20 Freiheitsgrade



Zeilen-Prinzipal-Normalisierung – Verarbeitung

Wie oben bereits hervorgeht, hat die Lösung vier Dimensionen, wobei die dritte Dimension auch viel aussagt. Man verliert wie schon beim Alter ziemlich viel Information, da die dritte Dimension nicht in die Grafik einfließen kann. Das Chi-Quadrat ist 27,079 bei einer Signifikanz von ,133 und 20 Freiheitsgrade. Diese Lösung ist also nicht signifikant, wird aber hier interpretiert. Eier mit einer guten Verarbeitbarkeit haben einen positiven Zusammenhang mit dem Cluster 1, das durch eine geringe Leitfähigkeit gekennzeichnet ist. Auch hier lassen sich die Achsen nicht zuordnen und die einzelnen Cluster liegen sehr eng zusammen, was eine Auswertung schwierig macht [GREENACRE, 1993].

Die Ergebnisse dieser Arbeit sind auf Grund der geringen Fallzahl eher zu vernachlässigen. Es kann sich durch Ausschluss zum Beispiel eines Eis das Ergebnis verschieben. Auch problematisch ist die Tatsache, dass ein Cluster nur aus einem Ei besteht. Würde die Fallzahl höher, wäre dieses Ei nicht mehr als ein Ausreißer.

5 Schlussbetrachtung

Im Zuge dieser Masterarbeit wurden verschiedene Eiprobe analysiert. Es wurden flüssige Hühnereier und Hühnereizuckergemische auf verschiedene Parametern untersucht. Von den Eiprobe war neben dem Zustand (VE oder VZ) auch die Dauer der Lagerung und die Verarbeitungsqualität bekannt. Außerdem wurden bestimmte Proben auf jahreszeitliche Unterschiede überprüft. Um Aussagen treffen zu können, wurden verschiedene Probenahmen durchgeführt. Die erste Probenserie bestand aus Ei-Zuckerkonzentraten in vier Altersabstufungen (2 Wochen bis 6 Monate), die zweite Serie aus frischen Volleiern, die in jeweils einem bestimmten Monat gelegt wurden und sofort eingefroren wurden. Die dritte Serie waren Volleier in sechs Altersabstufungen von ganz frisch bis 6 Monate.

Aus den Proben wurden die ethanollösliche Stickstofffraktion und der Nicht-Protein-Stickstoff gewonnen und mittels N-Bestimmung nach Kjeldahl analysiert. Dabei wurden die Fraktionen quantifiziert und untersucht, ob jahreszeitliche oder lagerungsbedingte Unterschiede auftreten. Weitere nasschemische Parameter wie Gesamtstickstoff, pH-Wert, Leitfähigkeit, Trockenmasse und Asche wurden untersucht.

Weiters wurden die Eiroteine mittels alkalischer PAGE (Urea-PAGE), SDS-PAGE und Nativer PAGE analysiert und auf qualitative Unterschiede des Bandenmusters überprüft, wobei hier der Schwerpunkt auf den Lagerungsreien lag.

Die Urea-PAGE von Eiern ist mit einer klassischen, von beispielsweise Caseinen, nicht vergleichbar. Es gibt keine klaren Grenzen zwischen den Banden und das gesamte Gel wirkt verschwommen, was ein Auswerten sehr schwierig macht. Dennoch sind diese Gele am aussagekräftigsten was die Lagerung betrifft. Zwei stark intensiver werdende Banden im unteren Viertel der Gels weisen auf eine Art „Alterungsprozess“ hin. Dieses Phänomen ist bei der Lagerungsreihe der Volleier und der Volleizuckerkonzentrate zu sehen, hat also

nichts mit einer bestimmten Verarbeitung oder speziellen Lagerung zu tun. Es könnte sich um eine Ovalbumin-Bande handeln, denn die Bande wird sehr intensiv und Ovalbumin hat einen Anteil an den Eiklarproteinen von über 50 %. Was außerdem dafür sprechen würde, ist die Tatsache, dass keine andere Bande am Gel an Intensität verliert und das Standardprotein Ovalbumin kaum im Trenngel sichtbar ist. Nachdem ein frisches Ei 5 % S-Ovalbumin enthält und ein sechs Monate gelagertes Ei 80 % (aus Ovalbumin), könnte die untere Bande ein Hinweis auf eine S-Ovalbumin-Bande sein.

Die herkömmliche elektrophoretische Methode um Eiprotein zu trennen ist die SDS-Gelelektrophorese. Dadurch dass die Auftrennung ausschließlich nach der Masse erfolgt, weil die Eigenladung der Proteine durch das SDS verdeckt wird, erhält man ein angenehm auswertbares Bandenmuster. Allerdings sind die Veränderungen in Eiern über 6 Monate Lagerungszeitraum zu gering, um mittels SDS-PAGE eine Aussage über Zusammensetzungsänderungen, Proteolyse oder gar jahreszeitliche Unterschiede treffen zu können. Dasselbe gilt für die Native PAGE, wo die Banden auch klar abgegrenzt sind, allerdings keine Aussage zulassen.

Die Stickstofffraktionsbestimmungsmethoden nach Kjeldahl sind aufgrund der Inhomogenität der Proben, sowie der Probenaufarbeitung und –handhabung sehr schwierig auszuwerten. Insbesondere das Behandeln der Proben mit TCA und Ethanol, um die Proteinfraction zu fällen, ist, ohne methodische Fehler zu machen, sehr schwierig. Darauf lassen auch die unterschiedlichen Ergebnisse schließen. Allerdings ist in der Lagerungsserie der Volleier ein geringer, aber konstanter Anstieg des ethanollöslichen Stickstoffs zu verzeichnen, wenn man einen Ausreißer aus der Betrachtung nimmt.

Die pH-Wert-Messungen lassen keine Aussagen über das Alter der Eier zu. Zwar finden sich in der Literatur einige Stellen über pH-Wert-Änderungen über einen Lagerungszeitraum von 6 Monaten, allerdings in erster Linie bei Schalen-

lagerung und nur im Eiklar. Die Veränderungen im Dotter sind vernachlässigbar.

Die spezifische Leitfähigkeit des Dotters und des Eiklars ändert sich im Laufe der Eialterung. Bei einem Vollei, also einer Mischung aus Klar und Dotter, kann allerdings keine signifikante Aussage gemacht werden, obwohl es Tendenzen zu einer höheren Leitfähigkeit bei älteren Eiern gibt.

Trockenmasse und Asche von Eiern, die in Schale gelagert werden, steigen, weil Wasserdampf durch die Schale entweicht. Bei Flüssigei kann diese Aussage nicht bestätigt werden.

Die Ergebnisse des statistischen Teils dieser Arbeit sind auf Grund der geringen Fallzahl eher zu vernachlässigen.

6 Zusammenfassung

Vollei ist eine wichtige humane Nährstoffquelle. Es enthält die zwei Makronährstoffe Proteine und Lipide, sowie viele Mikronährstoffe in Form von Vitaminen und Mineralstoffen. Auf Grund seiner Proteinzusammensetzung ist es ein Lebensmittel, das mit einer Summe essentieller Aminosäuren ohne Histidin von 490 mg/g Protein, einen Chemical-Score-Wert bezogen auf das FAO-Referenz-Protein von 100 aufweist.

In der Lebensmittelindustrie macht man sich vor allem die funktionellen Eigenschaften der Proteine zu Nutze. Hierbei handelt es sich in erster Linie um die Proteine des Eiklars, allen voran Ovalbumin, Conalbumin, Ovomucoid und Ovomucin. Sie beeinflussen die Produktqualität vor, während und nach der Verarbeitung.

In dieser Arbeit wurden auf Basis von verschiedenen Lagerungsversuchen über sechs Monate eventuelle Veränderungen in der Volleizusammensetzung gesucht. Der Schwerpunkt der durchgeführten Analysen lag auf den Stickstofffraktionen: dafür wurden drei elektrophoretische Methoden angewendet, sowie drei verschiedene Kjeldahl-Methoden. Außerdem wurden klassische Parameter wie Leitfähigkeit, pH-Wert, Asche und Trockenmasse untersucht.

In einer Versuchsreihe konnte festgestellt werden, dass es einen konstanten Anstieg im Nicht-Protein-Stickstoff-Anteil über sechs Monate gibt. Auffällig ist außerdem der stark positive Zusammenhang zwischen einer langen Lagerungszeit der Eier und einer hohen Leitfähigkeit sowie einer geringen Trockenmasse.

7 Summary

The whole egg consists of many important nutrients such as proteins, lipids, vitamins or minerals. Therefore it is a very meaningful part of the human nutrition. Moreover its protein components and essential amino acids are responsible for a Chemical-Score-Value of 100.

The food industry uses whole eggs because of their functionality in different matrices. Especially egg white is a complex protein system existing of different fractions like ovalbumin, conalbumin, ovomucoid or ovomucin. They have a great impact on the foaming properties, the texture and the sensory characteristics while storage, production and consumption.

This work is based on different storage trials. Therefore various whole eggs were stored over six months and changes in the complex composition were looked for. The focus of the analysis was conducted on the nitrogen fractions: thus three electrophoretic methods were applied and three different Kjeldahl methods. In addition, classical parameters such as conductivity, pH, ash and dry matter were investigated with.

In a series of experiments it was found that there is a constant increase in the non-protein nitrogen fraction over six months. Also striking is the strong positive correlation between a long-term storage of eggs and a high conductivity and a low dry matter.

8 Literaturverzeichnis

ANONYM: AOAC Official Method 925.31. Nitrogen in Eggs. Kjeldahl Method, 2000.

ANONYM: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–11. Untersuchung von Lebensmitteln: Messung des pH-Wertes in Eiern und Eiprodukten, 1995.

ANONYM: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–13. Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung der Asche in Eiern und Eiprodukten, 1991.

ANONYM: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–15. Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung des Rohproteingehaltes in Eiern und Eiprodukten, 2007.

ANONYM: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG. Methode L 05.00–12. Untersuchung von Lebensmitteln: Bestimmung der Trockenmasse in Eiern und Eiprodukten, 1991.

ANONYM: Eier und Eiprodukte. Schweiz. Lebensmittelbuch, Kapitel 21, 2002.

ANTON M, GANDEMER G: Composition, Solubility and Emulsifying Properties of Granules and Plasma of Egg Yolk. Journal of food science, volume 62, 3, 1997: 484-487.

ANTON M, MARTINET V, DALGALARRONDO M, BEAUMAL V, DAVID-BRIAND E, RABESONA H: Chemical and structural characterisation of low-density lipoproteins purified from hen egg yolk. Food Chemistry, 83, 2003: 175-183.

BACHER J: Clusteranalyse – anwendungsorientierte Einführung. München & Wien: Oldenburg, 2002.

BACKHAUS K: Multivariate Analysemethoden. Eine anwendungsorientierte Einführung. Berlin, Springer, 2003.

BALTES W: Lebensmittelchemie. 6. Auflage, Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2007: 344-347.

BAUMANN E: Beurteilung der Proteolyse von ausgewählten Schimmelkäsen mittels UPLC und elektrophoretischer Methoden, 2011.

BELITZ H-D, GROSCH W, SCHIEBERLE P: Lehrbuch der Lebensmittelchemie. 6. Auflage, Springer Verlag, Deutschland, 2008: 564-579.

BLASIUS J: Korrespondenzanalyse. München und Wien: Oldenburg, 2001.

BROSIUS F: SPSS 8 Clusteranalyse. International Thomson Publishing, 2006: 691-719. (a)

BROSIUS F: SPSS 8 Clusteranalyse. International Thomson Publishing, 2006: 721-737. (b)

BROSIUS F: SPSS 14 - Das mitp-Standardwerk. Heidelberg: mitp, 2006. (c)

BÜHL A: SPSS 16 - Einführung in die moderne Datenanalyse. München, Pearson Studium, 2008.

CHEFTEL J C, CUQ J L, LORIENT D: Lebensmittelproteine. Behr's Verlag, Hamburg, 1992: 134-155, 182-193.

DACH: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr. Umschau/Braus Verlag, Frankfurt am Main, 2008.

EBERMANN R, ELMADFA I: Lehrbuch Lebensmittelchemie und Ernährung. 2. Auflage, Springer-Verlag, Wien, 2011: 57-75, 332-334.

ELMADFA I, FREISLING H, NOWAK V, HOFSTÄDTER D, et al.: Österreichischer Ernährungsbericht 2008. 2. Auflage, Wien, 2009.

ELMADFA I, LEITZMANN C: Ernährung des Menschen. 4. Auflage, Verlag Eugen Ulmer Stuttgart, Stuttgart, 2004: 269-194.

FRANZKE C: Allgemeines Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Behr's Verlag, Hamburg, 1996.

GREENACRE M J: Correspondence Analysis in Practice. London, Academic Press, 1993.

GUILMINEAU F, KRAUSE I, KULOZIK U: Efficient Analysis of Egg Yolk Proteins and Their Thermal Sensitivity Using Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrylamide Gel Electrophoresis under Reducing and Nonreducing Conditions. Journal of agricultural and food chemistry, 53, 2005: 9329-9336.

HAMMERSHOJ M, QVIST K B: Importance of Hen Age and Egg Storage Time for Egg Albumen Foaming. Lebensmittelwissenschaft und –Technologie, 34, 2001: 118-120.

IMAFIDON G I, SOSULSKI F W: Nonprotein Nitrogen Contents of Animal and Plant Foods. Journal of agricultural and food chemistry, Vol. 38, No. 1, 1990: 114-118.

KAUFMAN L, ROUSSEUW P J: Finding Groups in Data. An Introduction to Cluster Analysis. Hoboken, Wiley-Interscience, 2005.

KOVACS-NOLAN J, PHILLIPS M, MINE Y: Advances in the Value of Eggs and Egg Components for Human Health. Journal of agricultural and food chemistry, 53, 2005: 8421-8431.

LAUTERBÖCK S: Die Qualität von Volleiern bezüglich ihrer Verarbeitbarkeit in Lebensmitteln, 2011.

MANN K: The chicken egg white proteome. Proteomics 7, 2007: 3558-3568.

MATISSEK R, STEINER G, FISCHER M: Lebensmittelanalytik. Springer Verlag, Berlin Heidelberg, 2010: 85-126.

MAYER H: Skriptum der Vorlesung Milchanalytik, gelesen im Sommersemester 2011.

OMANA D A, LIANG Y, KAV N N V, WU J: Proteomic analysis of egg white proteins during storage. Proteomics, 11, 2011: 144-153.

OMANA D A, WANG J, WU J: Ovomucin – a glycoprotein with promising potential. Trends in Food Science and Technology 21, 2010: 455-463.

RAGNI L, AL-SHAMI A, MIKHAYLENKO G, JUMING T: Dielectric characterization of hen eggs during storage. Journal of Food Engineering 2007, 82: 450-459.

RAIKOS V, HANSEN R, CAMPBELL L, EUSTON S R: Separation and identification of hen egg protein isoforms using SDS-PAGE and 2D gel electrophoresis with MALDI-TOF mass spectrometry. Food Chemistry, 99, 2006: 702-710.

ROBINSON D S, MONSEY J B: Changes in the Composition of Ovomucin during Liquefaction of Thick Egg White. *Journal of Science: Food and Agriculture*, 23, 1972: 29-38.

ROTH K: Allerlei vom Frühstücksei: Eine Oologisch-chemische Osterbetrachtung. *Chem. Unserer Zeit*, 2009, 43: 100-114.

RUDOLPH W: Beziehungen zwischen spezifischer Leitfähigkeit und Alter des Hühnereies. *Zeitschrift f. Untersuchung der Lebensmittel*, 75. Band, 1938: 428-430.

SCHÄFER A, DREWES W, SCHWÄGELE F: Effect of storage temperature and time on egg white protein. *Nahrung*, 43, Nr. 2, 1999: 86-89.

TEMPL M, FILZMOSE P, REIMANN C: Cluster analysis applied to regional geochemical data: Problems and possibilities. *Applied Geochemistry* 2008, 23: 2198–2213.

TILGNER M: Thermische Reaktion von Eiklarproteinen: Denaturierungskinetik und Verschäumungsverhalten. Verlag Dr. Hut, München, 2010.

WESTERMEIER R: Elektrophorese – Praktikum, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Deutschland, 6940 Weinheim, 1990.

WU G: Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. Springer Verlag, *Amino Acids* 37, 2009: 1-17.

ZIEGELWANGER E: Biochemische Charakterisierung von Schnittkäse aus Rohmilch im jahreszeitlichen Verlauf, 2006.

9 Curriculum Vitae

geboren am 05.07.1985 in Klagenfurt, ledig

Ausbildung

08/11	Teilnahme am internationalen Workshop “Food Safety, Quality and Nutrition Course” (Czech University of Life Sciences Prague)
Seit 10/09	Masterstudiengänge Ernährungswissenschaften an der Universität Wien sowie Lebensmittelwissenschaften und -technologie an der Universität für Bodenkultur Wien
02/08 – 09/09	Bakkalaureatsstudium der Ernährungswissenschaften an der Universität Wien (Bakk.rer.nat.)
10/03 – 12/07	Bakkalaureatsstudium der Lebensmittel- und Biotechnologie an der Universität für Bodenkultur Wien
09/95 – 06/03	Europagymnasium Klagenfurt Reifeprüfung mit ausgezeichnetem Erfolg im Juni 2003

Berufserfahrung

03/11 – 06/11	Angestellt an der Universität für Bodenkultur Wien als Tutorin für die Lehrveranstaltung „Lebensmittelchemie Übungen“
02/10 – 06/11	Mitarbeit auf Werkvertragsbasis bei Welko Media GmbH für das Projekt Kochen in Wien
03/10 – 06/11	Angestellt an der Universität Wien als Tutorin für die Übung „Vorratsschutz und Vorratshaltung“
09/09 – 09/10	Geringfügige Beschäftigung bei Ströck GmbH (Filial- und Mitarbeiterverantwortung am Wochenende)
07/09 – 08/09	Ferialarbeit bei Ströck GmbH (Verkaufstätigkeit)
07/08 – 08/08	Praktikum im Bereich Labor/Qualitätssicherung bei PAGO Fruchtsäfte GmbH
Seit 12/07	Mitarbeit auf Werkvertragsbasis bei DIOR Österreich (PR, Marketing, Arbeiten mit SAP)
01/07 – 08/07	Geringfügige Beschäftigung bei Alte Schmiede (Marketing)
01/07 – 08/07	Geringfügige Beschäftigung bei GVO Personal (Servicetätigkeit)
07/04 – 08/07	Laborbeschäftigung im chemischen und mikrobiologischen Labor der Berglandmilch Gen.m.b.H Betrieb Klagenfurt (Ur- laubsvertretungen in vorlesungsfreier Zeit)