

Beitrag zur Identifizierung der Tierartzugehörigkeit von Fleisch
in Fleischkonserven

Von H.-J. Sinell und H. J. Langner

In Europa ist die Erzeugung von Fleischkonserven in den letzten Jahren sprunghaft angewachsen. Die zweifelsfreie Ermittlung der Spezies-Identität in den verschiedensten Produkten ist daher für die amtliche Lebensmittelüberwachung oft zu einem dringlicheren Problem geworden als in früheren Jahren.

Für die Bearbeitung dieser Fragestellung lassen sich histologische, chemische und serologische bzw. immunochemische Methoden anwenden. Die Histologie ist allerdings für die Artbestimmung beim Muskelfleisch von Säugern wenig geeignet, da hier nicht so typische Gattungsunterschiede vorkommen, wie sie etwa bei verschiedenen Crustaceen beobachtet worden sind (GROSSKLAUS 1964). Die chemische Analyse wurde in Form der Elektrophorese angewendet, um native Proteine in wässrigen Extrakten zu charakterisieren (THOMPSON 1960, 1961, 1962; GILES 1962). Mittels papierchromatographischer Methoden gelang ebenfalls die Identifizierung der Tierspezies, wenn - wie beim Walfleisch - typische Eiweiß-Abbauprodukte vorhanden sind (vgl. u. a. CRUSH 1964 a und b). Auch an dem isolierten Fett läßt sich die Herkunft des Fleisches ermitteln. Dies gilt namentlich für Pferdefett, das durch seinen hohen Gehalt an hoch ungesättigten Fettsäuren charakterisiert ist (PASCHKE 1938). Diese Besonderheit ist mehrfach dem Nachweis von Verfälschungen mit Pferdefleisch zugrunde gelegt worden (HYNDS 1951, COOK 1962, FROMM u. Mitarb. 1964). Das Fett von Wiederkäuern hingegen ist u. a. durch seinen Gehalt an trans-Fettsäuren gekennzeichnet, die normalerweise im tierischen Organismus nicht gebildet werden, sondern das Produkt mikrobieller Umsetzungen in den Vormägen dieser Tiere darstellen (HARTMAN u. Mitarb. 1954, 1955, 1959). Der Wert der Fettuntersuchung für die Spezies-Identifizierung erfährt immerhin eine Einschränkung durch

die Tatsache, daß in zubereiteten Fleischerzeugnissen die Mitverarbeitung pflanzlicher Fette oder Öle die üblichen Fettkennzahlen merklich verändert (COOK 1962).

Das am weitesten verbreitete Verfahren ist das serologische, das seit den entscheidenden Untersuchungen von P. UHLENHUTH zu Anfang dieses Jahrhunderts als "biologische Eiweißdifferenzierung" bekannt und in der Routine-Diagnostik allgemein bewährt ist. Dies Verfahren beruht auf dem Phänomen, daß der Organismus eines geeigneten Serumspenders (.B. des Kaninchens) auf die parenterale Einverleibung eines artfremden Eiweißes mit der Bildung spezifischer Antikörper reagiert. Läßt man die Antikörper auf das homologe Antigen einwirken, so kann die dabei ablaufende Reaktion in vitro mittels der in der Serologie gebräuchlichen Methoden sichtbar gemacht werden. Die Spezifität der Antikörper soll im günstigsten Falle so weit gehen, daß nur Proteine der dem Antigen homologen Tierart gefällt werden, während mit dem Eiweiß einer anderen Spezies eine Reaktion nicht eintritt. Als Antigene werden bei der Immunisierung im allgemeinen Seren verwendet; seltener wurde auch mit nativen oder modifizierten Muskeleiweißen gearbeitet.

Der Wert der biologischen Eiweißdifferenzierung als diagnostische Methode bei der Lebensmitteluntersuchung wird erheblich dadurch eingeschränkt, daß man allgemein annimmt, einer Differenzierung seien tierische Eiweiße nur so lange zugänglich, wie sie sich in nativem Zustand befänden. Bei hitzedenaturierten Eiweißen soll eine Identifizierung mittels serologischer Methoden nicht mehr möglich sein. In früheren Untersuchungen (SINELL 1961 a und b, 1962) konnte nachgewiesen werden, daß diese Ansicht nicht zutrifft. Bestimmte Fraktionen wasserlöslicher Muskeleiweiße bewahren auch in hitzedenaturiertem Zustand (wenigstens im Bereich bis zu 120° C) noch eine immunologische Aktivität, d.h. sie vermögen nach parenteraler Einverleibung im Kaninchen die Bildung spezifischer Antikörper zu provozieren. Wenngleich solche Immunisierungen mit Erfolg möglich sind, so wird dennoch in der Praxis die serologische Identifizierung derartiger hitzedenaturierter

Muskelproteine - etwa in einem hochehitzten Dosenfleischerzeugnis - durch verschiedene Umstände sehr erschwert oder sogar unmöglich gemacht.

Bei aller Schwierigkeit, die die Untersuchung bereitet, kann man jedoch durch die Kombination geeigneter Methoden zu einem Resultat kommen. So führten FROMM u. Mitarb. (1964) den Nachweis von Pferdefleisch in Dosenkonserven durch die Feststellung des FORSSMANSchen Antigens bei gleichzeitiger Analyse des Fettes. Auch wir haben das gleiche Problem bearbeitet und sind ebenfalls durch Kombination der serologischen und der chemischen Analyse zu Ergebnissen gelangt, über die im folgenden referiert werden soll.

Material und Methoden

Dosenkonserven:

Die untersuchten Konserven stammten aus einer größeren Partie "Rindsgulasch mit pikanter Sauce"; die Ware befand sich in der Bundesrepublik und in West-Berlin im Verkehr, und es war der Verdacht aufgetaucht, daß in diesem Erzeugnis Pferdefleisch verarbeitet worden war. Das unserem Institut zur Untersuchung übersandte Material rührte aus einem Restposten her, der von den Behörden beschlagnahmt worden war.

Zu Kontrollzwecken wurden in einer Fleischwarenfabrik unter üblichen Bedingungen Pferde- und Rindsgulaschkonserven mit einer Frischfleischeinwaage von 150 bis 200 g in Weißblechdosen hergestellt und anschließend im Gegendruckautoklaven bei 121° C für 55 min sterilisiert. Als weitere Kontrollen wurden Muskelstücke von Pferd und Rind verwendet, die ohne weitere Zusätze in einem Laborautoklaven unter thermoelektrischer Kontrolle für 20 min einer Temperatur von 120° C im Inneren ausgesetzt worden waren.

Präzipitierende Seren:

Zur Herstellung präzipitierender Seren wurden Kaninchen mit einem Gewicht von ca. 3 kg nach früher beschriebenem Verfahren (SINELL 162 a) mit aus erhitztem Muskeleiweiß gewonnenen Antigenen (sog. "Thermo-Antigene") immunisiert. Hierbei wurden Muskeleiweiße in wässriger Lösung durch eine 45 min dauernde Erhitzung bei 70° C koaguliert und anschließend gewaschen und lyophilisiert.

Das Lyophilisat wurde zu jeder Injektion in Mengen von 30 bis 50 mg in 3 ml physiol. Kochsalzlösung feinst suspendiert und i. v. verabreicht. Die Injektionen wurden in 2- bis 3-tägigen Abständen bis zu 16mal wiederholt. Hatte sich ein ausreichend hoher Titer gebildet, so wurden die Kaninchen 8 Tage nach der letzten Injektion entblutet. Die gewonnenen Seren wurden ebenfalls lyophilisiert. Zur Kontrolle wurden Seren von unbehandelten Kaninchen verwendet.

Herstellung der Extrakte:

Aus dem Untersuchungsmaterial wurden nach Entfernen der übrigen Bestandteile gröbere Muskelfleischstücke isoliert und sorgfältig von anhaftenden Binde- und Fettgewebsresten befreit. Diese Muskelstücke wurden anschließend in der IKA-Analysenmühle unter Zusatz eines mindestens gleich großen Quantums Trockeneis feinst zerkleinert und anschließend bei 10^{-2} bis 10^{-1} Torr lyophilisiert. Jedes Muskelstück wurde gesondert behandelt und bis zur Extraktion im Exsikkator aufbewahrt. Die Extraktion der Lyophilisate erfolgte jeweils mit der 10fachen Menge destilliertem Wasser über 24 bis 48 Std. im Kühlschrank. In einigen Fällen erwies es sich als notwendig, die Lyophilisate vor der Extraktion mit Petroläther zu entfetten. Trübungen, die auch trotz vorhergehender Entfettung auftraten, konnten meist durch hochtouriges Zentrifugieren (bis 15.000 U/min) beseitigt werden. In den Extrakten wurde der Eiweißgehalt mittels der Biuret-Methode bestimmt.

Präzipitation:

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde ausschließlich die Präzipitation in Röhrchen mit einer Länge von 30 mm und einer lichten Weite von 3 mm angewendet. In diesen Röhrchen wurden 30 bis 50 μ l Serum mit dem Extrakt unter Verwendung einer Kapillarpipette sorgfältig überschichtet. Alle Reaktionen wurden mindestens 45 min lang beobachtet, wobei alle 5 min eine erneute Ablesung erfolgte. Als positiv wurde eine Reaktion nur dann bewertet, wenn sich an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten eine mit bloßem Auge deutlich sichtbare Trübungszone ausgebildet hatte. Die endgültige Ablesung erfolgte durch zwei Untersucher unabhängig voneinander.

Durch ein "T" wurde vermerkt, wenn infolge einer mehr oder weniger starken Trübung des Serums oder des Extraktes die beobachtete Reaktion nicht zweifelsfrei als + oder - oder unter Umständen überhaupt nicht beurteilt werden konnte.

Untersuchung des Fettes:

Darstellung der Fettsäuremethylester:

Außer dem Schmelzfett, das sich auf dem Doseninhalt abgesetzt hatte, wurde auch das dem Muskelfleisch direkt anhaftende Fett untersucht. Das Rohfett wurde im Vacuum bei 60° C von Wasser und anderen flüchtigen Bestandteilen befreit, anschließend mit Seesand verrieben und mit Petroläther im Soxhlet extrahiert.

Die Entfernung des Unverseifbaren und die Gewinnung der freien Fettsäuren erfolgte nach den DGF-Einheitmethoden (C-III 1 a bzw. C-III 2). Die Fettsäuren wurden dann mit frisch hergestellter Diazomethanlösung zu Fettsäuremethylestern umgesetzt.

Zur Entfernung überschüssigen Diazomethans wurde die Lösung bis zum Verdampfen des Äthers bei 36° C rektifiziert. Schließlich wurden die Methylester bei 5° C mit Äther aufgenommen, mit Na₂SO₄ getrocknet und gaschromatographisch aufgetrennt.

Gaschromatographische Auftrennung:

Wir verwendeten das Gerät der Fa. Perkin-Elmer & Co Type F6/4HF mit Flammenionisationsdetektor und Helium als Trägergas, dessen Durchflußrate mittels eines Seifenblasen-Strömungsmessers auf 1,5 ml/min eingestellt wurde. Die Probenmenge betrug jeweils 1 µl bei einem Teilungsverhältnis von 1:100 vor der Säule. Als Trennsäulen verwendeten wir eine 50 m Kapillarbandsäule, die mit Apiezonfett-L und eine 25 m Kapillarbandsäule, die mit Butandiolsuccinatpolyester als stationärer Phase belegt war. Die Empfindlichkeit betrug $X = 2$ bei $R = 1$. Der Vorschub des Schreibers (Elektronenkompensograph der Fa. Siemens) war auf 0,16 cm/min (zur Dokumentation) bzw. 0,5 cm/min (für die quantitative Auswertung) eingestellt.

Als Vergleichssubstanzen wurden die Methylester der Palmitin-, Stearin-, Linol-, Linolen-, Elaidin- und Margarinsäure verwendet. Die Identifizierung fraglicher Methylester erfolgte mittels des log. R_T -C-Zahl-Diagrammes, bei dem die Logarithmen der Retentionsvolumina der Testsubstanzen gegen die Anzahl ihrer C-Atome aufgetragen werden. Das unseren Ergebnissen zugrunde gelegte Diagramm ist in Abb. 1 wiedergegeben.

IR-Spektren:

Die Aufnahme der Spektren erfolgte mit einem Beckman - IR - 9 - Gerät mit NaCl-Optik. Die Fettsäure-Methylester wurden sowohl in Tetrachlorkohlenstoff als auch als Film auf NaCl-Prismen in dem spektralen Bereich zwischen 1300 cm⁻¹ u. 830 cm⁻¹ untersucht. Ausgewertet wurde die Bande bei 968 cm⁻¹. Die Empfindlichkeit der Methode gestattete bei der angegebenen Arbeitsweise den Nachweis von 0,1 % trans-Fettsäuren in einem Gemisch.

Ergebnisse und Diskussion

A. Organoleptischer Befund

Das fragliche "Rindsgulasch" befand sich zu je 300 g in unlaktierten Weißblechdosen, die an den inneren Wandungen teilweise eine sehr starke Marmorierung erkennen ließen. Der Inhalt bestand aus einer sehr sämigen, bräunlichen Tunke, in der sich

mehrere bräunlich-rötliche, teilweise dunkelrotbraune Muskelfleischteile mit anhaftenden Sehnteilen befanden. Auf dem Inhalt hatte sich in geringer Menge leuchtend gelbrotes Fett abgesetzt, das eine griesig-körnige Beschaffenheit und eine halb-feste, salbige Konsistenz aufwies. Fleisch und Sauce schmeckten würzig und sehr scharf. Irgendein Hinweis auf die Herkunft des Fleisches war dem organoleptischen Befund nicht zu entnehmen.

B. Serologische Untersuchung

Die Ergebnisse, die mit der Präzipitation erhalten wurden, sind in der Tabelle auszugsweise dargestellt. Der besseren Übersichtlichkeit wegen haben wir uns bei der Wiedergabe der Resultate mit den Anti-Rind-Seren nur auf das Serum Nr. 82 beschränkt, während die Reaktionen mit den Anti-Pferd-Seren vollständig dargestellt sind. Auch auf die Wiedergabe der Ergebnisse mit Normalseren und mit physiol. Kochsalzlösung wurde verzichtet, da alle Reaktionen erwartungsgemäß negativ ausfielen.

Betrachtet man zunächst einmal die an verschiedenen Untersuchungstagen angesetzten Kontrollreaktionen, so fällt auf, daß diese z. T. unspezifisch positiv ausfielen und leider auch nicht in allen Fällen eindeutig reproduzierbar waren. Das Ausbleiben einer Reaktion, also der negative Ausfall, kann in keinem Falle als beweisend angesehen werden, da man nicht immer damit rechnen kann, daß präzipitable Substanz in genügender Menge in Lösung gegangen ist. Schwieriger zu beurteilen sind die unspezifisch positiven Reaktionen. Ein Serum, das derartige Reaktionen zeigt, muß von der weiteren Beurteilung ausgeschlossen werden. Dies traf auch für das Serum Nr. 82 zu. Daher war die Frage nach dem Vorhandensein von Rindfleisch in dem vorliegenden Material nicht zu beantworten. Ähnlich unbefriedigende Ergebnisse hatten wir mit neun anderen Anti-Rind-Seren, die wir im Verlauf dieser Untersuchungen hergestellt hatten.

Etwas günstiger verhielten sich die Anti-Pferd-Seren bei den Kontrolluntersuchungen. Zwar zeigten auch hier die Seren Nr. 145 und 157 vereinzelt unspezifisch positive Reaktionen, jedoch nicht das Serum 154, das - wenn überhaupt - immer nur mit homologen Extrakten positiv reagierte. Es war zu klären, ob diese positiven Reaktionen nun auch auf der Fällung des homologen Muskeleiweißes (oder besser seiner Denaturierungsprodukte) oder etwa auf einer Reaktion zwischen dem FORSSMAN-Antigen und heterogenetischen Antikörpern beruhten. Auch das Pferd gehört zu den FORSSMAN-Antigen-haltigen Organismen, wie verschiedene Nagetiere, einige Fleischfresser und unter anderem auch der Wal. Wir überprüften daher das Serum 154 mit Antigenen aus Walmuskulatur und Meerschweinchen-Nieren, fanden jedoch keine positive Reaktion. Dies wäre auch schwerlich zu erwarten gewesen, da es sich bei den heterogenetischen Antikörpern um Hämolysine nicht aber um Präzipitine handelt.

Bei vergleichender Betrachtung der mit dem fraglichen Untersuchungsmaterial angestellten Reaktionen ist nicht zu verkennen, daß hier eine gewisse Häufung von positiven Ergebnissen mit den Anti-Pferd-Seren vorliegt, wenigstens soweit es die ersten vier in der Tabelle angegebenen Herstellungs-Chargen angeht. Die letzte, mit 20 I bezeichnete Herstellung verhielt sich allerdings etwas abweichend. Aus ihr ließen sich einwandfrei präzipitierende Extrakte nicht gewinnen, was sich bei zahlreichen Wiederholungen der Reaktionen bestätigte. Auch mit Anti-Rind-Seren waren keine Präzipitationen zu erzielen, so daß über die Herkunft des Fleisches aus dieser Herstellung eine Aussage nicht möglich war.

Mit den vorliegenden Untersuchungen bestätigte sich die bereits früher beschriebene Beobachtung, daß es möglich ist, mittels geeigneter Immunisierungsmethoden Seren zu gewinnen, die auch bei hitzedenaturierten Eiweißen wenigstens bis zu einem gewissen Grade eine Identifizierung zulassen. Daß Muskeleiweiße in nativem

Serologische Untersuchung von "Rindsgulasch"

(Präzipitation mit Aq. dest. Extrakten)

Herstellungs- charge (Stanzung)	Dose Nr.	Fleisch- stück	Anti-Rind	70°-Serum	Anti-Pferd	70°-Serum	
			Nr. 82	Nr. 145	Nr. 154	Nr. 157	
21 XII	1	A	-	+	+	+	
		B	-	+	(+)	-	
	2	A	+	+	+	+	
		3	A	-	-	-	+
		B	-	T	T	+	
C	-T	+T	T	+			
25 XII	1	A	-	-	-	-	
		A	-	+	-	+	
	2	A	-	+	+	+	
B		-	+	+	+		
27 XII	1	A	+	+	+	+	
		B	-	+	+	+	
10 I	1	A	-	-	+	+	
		B	+	+	+	+T	
		C	-	+	+	-	
20 I	1	A	-	-	-	-	
		B	-	-	-	+T	
Rind-120°-Muskulatur	Kontr. I		-	+T	-	-	
Rindsgulasch			-	-	-	-	
Pferd-120°-Muskulatur			-	+	-	+	
Pferdegulasch			-	+	+	+	
Rind-120°-Muskulatur	Kontr. II		+	-	-	-	
Rindsgulasch			-	-	-	-	
Pferd-120°-Muskulatur			-	+	-	+	
Pferdegulasch			+	+	+	+	
Rind-120°-Muskulatur	Kontr. III		+	-	-	+	
Rindsgulasch			(+)	-	-	+	
Pferd-120°-Muskulatur			-	-	-	+	
Pferdegulasch			-T	+	+	T	

Zeichenerklärung: - = negative Reaktion
 + = ganz schwache, jedoch nicht eindeutig als positiv zu bewertende Reaktion
 (+) = schwach positive Reaktion
 + = positive Reaktion T = Trübung

Zustand eine immunologische Spezifität besitzen, ist seit langem bekannt (vgl. u. a. MANTEUFEL und ROMIOKA 1924, KESZTYÜS und VÁRTERÉSZ 1945, KENDREW u. Mitarb. 1954, SZENT-GYÖRGY und HOLTZER 1959). Über serologische Untersuchungen an erhitzten Muskeleiweißen und Versuche zu ihrer Differenzierung in Fleischerzeugnissen liegen jedoch nur ganz vereinzelte Mitteilungen vor (W.A.SCHMIDT 1908, ROSENBERG 1928, SINELL 1961 a, WERSCHING 1960). Zweifellos werden solche Untersuchungen durch die bekannte Tatsache erschwert, daß mit steigendem Erhitzungsgrad - besonders über 100°C - nicht nur die antikörperbildende Aktivität, sondern vor allem auch die tierartlich gebundene Spezifität bei den als Antigene verwendeten hitzedenaturierten Muskeleiweißen abnimmt. Die vorstehenden Ergebnisse bestätigen dies erneut. Sie zeigen aber auch, daß derartige Differenzierungsversuche nicht von vornherein als völlig aussichtslos angesehen werden sollten.

Die hier ermittelten Resultate waren freilich nicht so eindeutig, als daß die Verarbeitung von Pferde- (oder besser Einhufer-) fleisch mit absoluter Sicherheit als erwiesen hätte angesehen werden können. Dies war erst möglich, nachdem auch die Ergebnisse der Fettuntersuchung mit herangezogen worden waren.

C. Fettanalysen

Die prozentualen Fettsäure-Anteile, die in dem Fett der fraglichen Konserven und auch in den verschiedenen Kontrollen ermittelt wurden, sind im folgenden tabellarisch zusammengestellt. Da lediglich die hier besonders interessierenden Säuren C_{14} - C_{18} ausgewertet wurden, ergeben die Summen ihrer Anteile am Gesamtfettsäuregehalt stets etwas weniger als 100 %.

Bei vergleichender Betrachtung der an den Kontrollen ermittelten Daten werden die aus der Literatur bekannten Unterschiede zwischen Pferde- und Rinderfett bestätigt. Charakteristisch ist

für das Rinderfett der auffallend hohe Stearinsäuregehalt, der allerdings in den verschiedenen Geweben außerordentlichen Schwankungen unterworfen ist. So liegt er im interstitiellen Fettgewebe um durchschnittlich mindestens 10 % niedriger als im Depotfett (Nierentalg). Pferdefett hingegen weist auch bei den vorliegenden Analysen den bekannten hohen Gehalt an den hochungesättigten Fettsäuren Linol- und Linolensäure auf. Schließlich ist noch auf die trans-Octadecensäure, die beim Rind in Anteilen zwischen 5,6 % und 11,0 % festgestellt wurde, während sie im Pferdefett nicht nachzuweisen war. Die Ergebnisse, die an den Kontrollkonserven ermittelt wurden, stimmten mit den vorstehenden weitgehend überein.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der Kontrolluntersuchungen mit den Analysendaten der fraglichen Konserven, so fällt auf den ersten Blick die Übereinstimmung mit den Werten für Pferdefett auf. Dies betrifft eigentlich alle C_{14} - bis C_{18} -Säuren. Eine Ausnahme machen allerdings die hochungesättigten C_{18} -Säuren. Der Mittelwert von 11,9 % liegt deutlich unter dem in den Kontrolluntersuchungen festgestellten Wert. Auch in der Literatur werden für den Linol- und Linolensäuregehalt des Pferdefettes höhere Werte angegeben. Allerdings scheinen diese Abweichungen, gemessen an den sonstigen Übereinstimmungen, nur gering. Vor allem läßt die Analyse den Schluß zu, daß das fragliche Material kein reines Rinderfett sein konnte, da selbst unter extremen Verhältnissen noch niemals derart niedrige Stearinsäure- und so hohe Linol- und Linolensäurewerte beim Rind beobachtet worden sind. Immerhin bestand die Möglichkeit einer Beimischung von Rinderfett, wenn auch die übrigen Werte dies nicht sehr wahrscheinlich machten.

Die infrarotspektroskopische Untersuchung ermöglichte hier eine wertvolle Ergänzung der bisherigen Befunde. Die Anwesenheit von Rinderfett hätte sich durch das Vorhandensein von trans-Octadecensäure kundtun müssen, die allerdings schon bei der gaschromatographischen Untersuchung nicht nachgewiesen werden konnte. Dies Resultat wurde durch das IR-Spektrogramm bestätigt. Das für das Vorkommen von isolierten trans-Doppelbindungen charakteristi-

sche Inkrement der 968 cm^{-1} -Bande fehlt im Pferdefett und auch in dem Fett der fraglichen Konserven völlig, während es in der Rinderfett-Kontrolle deutlich nachweisbar ist (Abb.2). An der Identität des Fettes konnte somit kein Zweifel mehr bestehen. Durch das völlige Fehlen von trans-Fettsäuren - im vorliegenden Falle kam in erster Linie trans-Octadecensäure in Betracht - war die Abwesenheit von Wiederkäuerfetten in dem fraglichen Material erwiesen.

Da in dem vorliegenden Material kein Rinderfett verarbeitet worden war, gestaltete sich die Diagnose einfach. Wäre der trans-Fettsäurenachweis positiv verlaufen, so hätte dies bei der hier bearbeiteten Fragestellung keinen gegenteiligen Beweiswert gehabt. Da bereits geringe Beimengungen von Rinderfett zu nachweisbaren trans-Fettsäuregehalten führen und auch das Fett von Nicht-Wiederkäuern gelegentlich trans-Fettsäuren enthalten kann, wäre die Anwesenheit von Pferdefett nicht auszuschließen gewesen. In diesem Falle hätte man sich auf die konventionelle Ermittlung der Werte für die gesättigten und hochungesättigten C_{18} -Fettsäuren beschränken müssen.

L i t e r a t u r

- COOK, H.R. J.Ass.Off.Agric.Chem. 34, 356, 1951
- CRUSH, K.G. a) J.Sci.Food Agric. 15, 440, 1964
- ders. b) J.Sci.Food Agric. 15, 555, 1964
- FORSSMAN, J. in: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Herausg. v. Kollé, Kraus, Uhlenhuth. III, 1, S.469. Verlag G.Fischer, Jena 1930
- FROMM, G. Arch.Hyg.Bakt. 148, 244, 1964
- LANGHELD, I.
J. WURZIGER
- GILES, B.C. J.Sci.Food Agric. 13, 264, 1962

- GROSSKLAUS, D. Arch.Lebensmittelhyg. 15, 6, 1964
- ders. Arch.Lebensmittelhyg. 15, 29, 1964
- HARTMAN, L. Nature (London) 174, 185, 1954
F.B.SHORLAND,
I.R.C.McDONALD
- HARTMAN, L, Biochem.Z. 61, 603, 1955
F.B.SHORLAND
- HARTMAN, L., Nature (London) 184, 2024, 1959
F.B.SHORLAND
- HYNDS, K.E. J.Ass.Off.Agric.Chem. 34, 356, 1951
- KENDREW, J.C. Nature (London) 174, 946, 1954
R.G.PARRISH,
J.R.MARRACK,
E.S.ORLANS
- KESZTYÜS, L., Z.Immun.forsch. 105, 372, 1945
V. VÁRTERESZ
- MANTEUFEL, P., Zbl.Bakt.I.Orig. 91, 317, 1924
Y.TOMIOKA
- PASCHKE, B. Z.Lebensmittel-Unters.u.Forsch.76, 476, 1938
- ROSENBERG, R. Zbl.Bakt.I.Orig. 197, 448, 1928
- SCHMIDT, W.A. Biochem. Z. 14, 294, 1903
- SINELL, H.-J. a) Zbl.Vet.Med. 8, 57, 1961
- ders. b) Berl.Münch.Tierärztl.Wschr. 74, 107, 1961
- ders. Proc.3rd Symp.World Assoc.Vet.Food Hyg.
Nice 1962, S. 23
- SZENT-GYÖRGY, A.G. Biochem.Biophys.Acta 41, 14, 1960
- THOMPSON, R. J.Ass.Off.Agric.Chem. 43, 763, 1960
- ders. J.Ass.Off.Agric.Chem. 44, 787, 1961
- ders. J.Ass.Off.Agric.Chem. 45, 275, 1962
- WERSCHING, St. Arch.Lebensmittelhyg. 11, 173, 1960

Abhängigkeit der Retentionsvolumina (log) der
 Carbonsäure-methylester von der Anzahl der C-Atome.

1.

Pferdefett

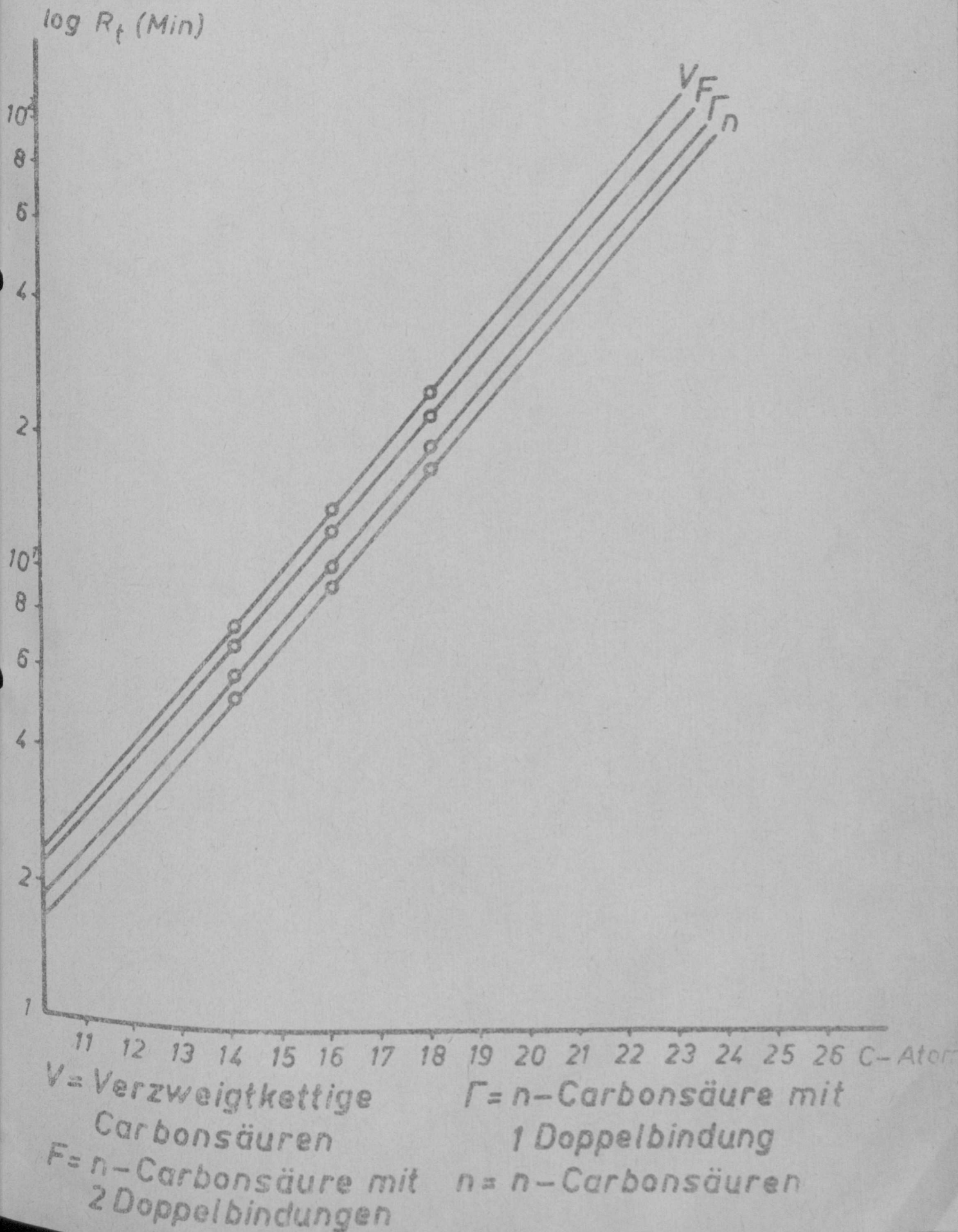


Tabelle I

Fettsäure-methylester aus intermusk. Pferdefett
in %

Probe Nr. Fettsäure	1	2	3	4	5	6	7	\bar{X}	$\pm S$
C14/1	1,3	1,2	1,8	1,4	1,5	1,5	0,9	1,4	0,28
C14	6,9	5,9	6,2	7,2	7,4	8,2	5,6	6,8	0,92
C16/2	0,9	0,6	0,7	1,3	0,8	0,9	0,6	0,8	0,60
C16/1	12,0	11,4	11,5	11,6	12,8	13,4	8,8	11,6	1,47
C16	27,2	30,5	29,5	31,3	29,1	28,6	29,2	29,3	1,33
C18/2+3	18,1	13,6	13,5	12,4	13,3	13,6	18,4	14,7	2,52
C18/1	28,9	34,5	32,4	30,2	31,1	29,8	32,7	31,4	1,94
C18	2,9	2,5	3,0	2,9	2,5	2,7	3,2	2,8	0,26

Tabelle II

Fettsäure-methylester aus Rinderfett in %

Fettsäure	intermuskuläres Fett			Nierentalg	
C14/1	2,0	1,6	1,5	1,2	1,2
C14	5,5	4,7	5,0	4,1	5,8
C16/1	4,2	3,9	3,7	2,3	3,7
C16	30,5	27,4	29,6	24,9	26,2
C18/2+3	1,8	2,2	2,0	2,9	1,7
C18 _{cis} /1	30,5	32,0	29,1	18,6	18,9
C18 _{trans} /1	5,6	10,9	8,3	11,0	10,8
C18	14,4	13,7	16,4	26,8	24,8

Tabelle III

Fettsäure-methylester, isoliert aus
Rindsgulasch-Konserven in %

Fettsäure	1	2	3	4	\bar{X}	$\pm S$
C14/1	1,3	0,9	1,5	1,4	1,3	0,26
C14	4,2	5,0	4,6	5,0	4,7	0,12
C16/1	4,5	3,0	5,4	4,7	4,4	0,10
C16	30,8	30,1	25,6	26,4	28,2	2,61
C18/2+3	2,1	1,3	2,1	2,4	2,0	0,15
C18 _{cis} /1	33,3	26,8	34,3	31,0	31,4	3,20
C18 _{trans} /1	4,8	7,3	7,5	7,4	6,8	0,13
C18	14,2	18,0	13,9	15,0	15,3	1,87

Tabelle IV

Fettsäure-methylester
aus Pferdegulasch-Konserven
in %

Fettsäure	%
C14/1	1,2
C14	6,8
C16/1	12,3
C16	26,8
C18/2+3	17,2
C18/1	29,0
C18	3,8

Tabelle V
 Fettsäure-methylester, isoliert aus den zur
 Untersuchung eingesandten Gulaschkonserven in %

Fettsäure	1	2	3	4	5	6	7	8	9	\bar{X}	$\pm S$
C14/1	1,2	1,2	1,2	0,7	0,8	0,8	1,2	1,1	1,2	1,0	0,22
C14	6,0	5,8	7,2	6,0	5,7	6,8	9,1	8,4	6,9	6,9	1,20
C16/1	12,8	10,2	8,8	8,4	7,3	7,0	8,2	10,2	7,7	9,0	1,83
C16	30,2	29,5	30,5	30,2	31,6	31,3	28,5	30,2	31,8	30,4	0,29
C18/2+3	11,0	8,9	12,4	12,6	12,2	13,6	13,0	12,4	11,3	11,9	1,60
C18/1	32,3	32,2	33,0	35,4	35,3	31,8	33,1	30,5	32,9	32,9	1,57
C18	4,7	4,2	3,9	4,0	4,8	4,8	4,8	4,5	4,4	4,5	0,11

Tabelle VI
 Mittelwerte der aus den untersuchten Proben
 erhaltenen Werte aller C18-Fettsäuren in %

Fettsäure	Rind	unters. Dose	Pferd	R.+Pfd. 1:1
C18/2+3	2,1	11,9	14,7	6,6
C18cis/1	25,8	32,9	31,4	32,2
C18trans/1	9,5	0	0	4,5
C18	19,2	4,4	3,3	7,6

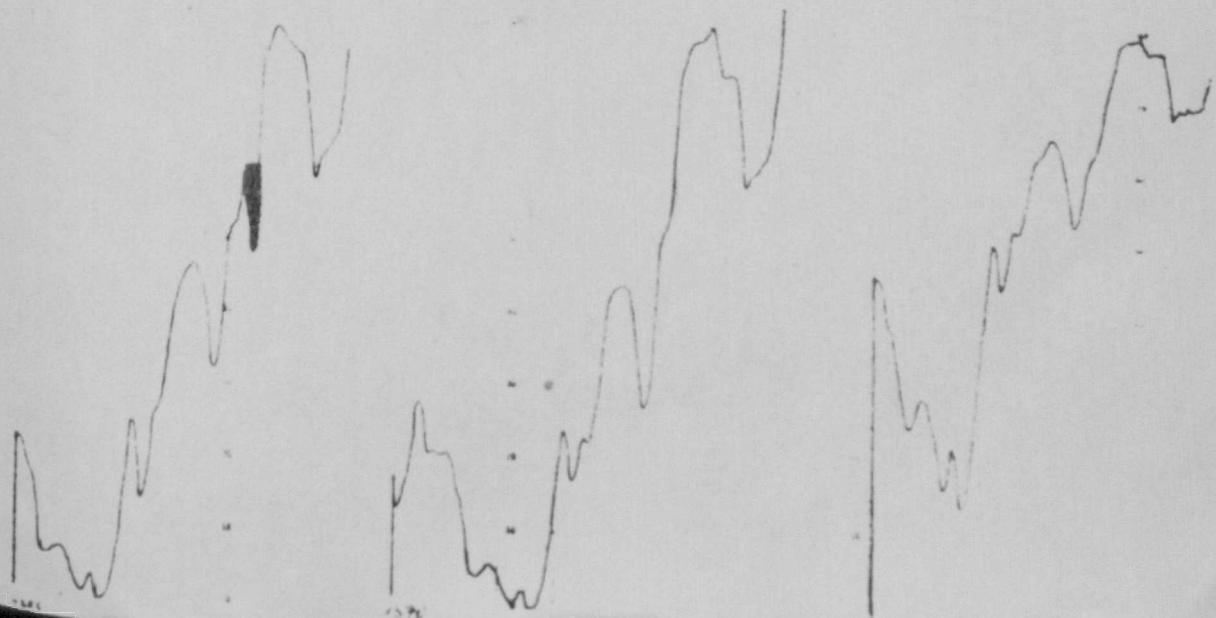
IR-Spektrophotogramme aus

Fett aus

Rinderfett

Pferdefett

Verdachtsproben



80

Summary

Contribution to the identification of animal species in
canned meat.

Prof. Dr. H.-J. Sinell und Dr. H.J. Langner

The difficulties in the determination of the species identity in canned meat are demonstrated in a specimen of "Beef-gulyas" suspected to contain horse meat. It was examined serologically with antisera specifically effective against heated muscle protein. The muscle tissue in question was lyophilised and then extracted by distilled water for 48 hrs. at $+4^{\circ}$ C. The results of the precipitation test led to a suspicion. However nonspecific results appeared sporadically. The arising suspicion could be confirmed by examination of the fat. Liberated fatty acids were converted to methyl-esters and analysed by gas chromatography and by infra red spectroscopy. High values for 9,12-octadecadienoic- and 9,12,15-octadecatrienoic-acid with low octadecanoic acid values characterised the concerned fat as horse fat. As non saturated trans fatty acids could not be detected the absence of fat from ruminants was approved. A positive test for trans fatty acid would not have indicated the absence of horse fat.

Zusammenfassung

Beitrag zur Identifizierung der Tierartzugehörigkeit von Fleisch in Fleischkonserven.

Prof. Dr. H.-J. Sinell u. Dr. H. J. Langner

Die Schwierigkeiten bei der Feststellung der Spezies-Identität von Fleisch in hoch erhitzten Dosenkonserven werden an Hand eines Falles aufgezeigt, bei dem in einem Fertiggericht der Nachweis einer Verarbeitung von Pferdefleisch zu führen war. Die serologische Untersuchung wurde mit spezifischen, gegen erhitztes Muskeleiweiß gerichteten Antiseren vorgenommen. Die fragliche Muskulatur wurde lyophilisiert und mit destilliertem Wasser 48 Stunden bei $+4^{\circ}\text{C}$ extrahiert. Die Ergebnisse der Präzipitation führten zwar zu einem Verdacht; doch traten vereinzelt unspezifische Reaktionen auf, so daß eine zweifelsfreie Aussage nicht möglich war. Der bestehende Verdacht ließ sich durch die Untersuchung des Fettes aus den Konserven bestätigen. Die freigesetzten Fettsäuren wurden zu Methylestern umgesetzt und gaschromatographisch und infrarotspektroskopisch untersucht. Hohe Werte an Octadecadien- und Octadecatriensäure bei niedrigen Octadecansäuregehalten charakterisierten das fragliche Fett eindeutig als Pferdefett. Auf Grund des Fehlens von trans-ungesättigten Fettsäuren konnte mit Sicherheit auf die Abwesenheit von Wiederkäuerfett geschlossen werden. Wäre der trans-Fettsäurenachweis positiv verlaufen, so wäre dies natürlich kein Beweis für das Nichtvorhandensein von Pferdefett gewesen.