

Aus³ der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung, Karlsruhe

Über die Wirksamkeit einiger für die Fischbeeisung vorgeschlagener bactericider Substanzen

Von W. Partmann

Bei der Durchsicht der Ergebnisse bisher vorliegender Untersuchungen über die Verwendung bactericider Stoffe zur Fischbeeisung, die von uns zusammenfassend dargestellt wurden¹⁾, fällt auf, daß die Autoren in vielen Fällen zur gleichen Zeit nur einen Stoff auf seine Eignung für bactericides Eis untersuchten. Einige Forscher verglichen 2 Stoffe und nur wenige — besonders zu erwähnen ist in diesem Zusammenhange Tarr²⁾ — prüften eine Reihe von Chemikalien auf ihre Wirksamkeit am gleichartigen Material nebeneinander. Es schien einleuchtend zu sein, daß das Verfahren, bei dem ein Vergleich verschiedener bactericider Mittel an möglichst einheitlichen Proben als Nährboden vorgenommen wird und das in letzter Konsequenz allein die Aufstellung einer objektiv begründeten Rangfolge ermöglicht, besonders aussichtsreich ist. Stoffe, die in einer solchen Rangfolge an den letzten Stellen stehen, bedürfen, sofern die vorangehenden nicht infolge ihrer toxischen Wirkungen auf den menschlichen Organismus auscheiden müssen, keiner weiteren Beachtung mehr. Da zu Beginn dieser Arbeit die Eignung einiger bactericider Stoffe für die Fischbeeisung Gegenstand mehrerer Untersuchungen und eingehender Diskussionen war, sollte versucht werden, sie mit einigen schon vorher von uns — allerdings in anderen Konzentrationen — untersuchten³⁾ nach subjektiv und objektiv ermittelten Testwerten in eine Rangordnung einzustufen. In experimenteller Hinsicht unberücksichtigt bleibt dabei die Frage ihrer Anwendbarkeit vom gesundheitlichen Standpunkt aus, die von zuständiger Seite zu klären wäre.

I. Die Wahl der Zusätze und ihrer Konzentrationen

Schon im Verlauf einer früheren Arbeit hatte sich herausgestellt, daß es bei der Geruchsbewertung, die als wesentlicher Maßstab für die Bestimmung des Frischezustandes von Fischen herangezogen werden kann, zweckmäßig ist, die Zahl der zur gleichen Zeit zu testenden Fischproben nicht über 8, höchstens aber 9 hinausgehen zu lassen³⁾. Es wurden daher 8, in wenigen Fällen auch 9 Versuche in den einzelnen Versuchsreihen angesetzt.

In den letzten Jahren wurde von verschiedener Seite für Desinfektionszwecke in der Lebensmittelhygiene das Präparat „Tego 51“ der Th. Goldschmidt AG., Essen empfohlen. Nach Angaben der Liefer-

firma handelt es sich bei diesem Stoff um ein geruchloses und ungiftiges Desinfektionsmittel, das als wirksamen Bestandteil ein höhermolekulares Aminosäurederivat in Form seines Hydrochlorids enthält. Der oberflächenaktive, zur Gruppe der Ampholytseifen gehörende Stoff sei als Zwitterion schematisch dargestellt:



Gisske⁴⁾ gibt als keimtötenden Bestandteil Di-(octyl)-aminoglycin und als waschaktiven Alkylaminoäthylglycinhydrochlorid an. Über die Bewährung von Tego 51 zu Desinfektionszwecken in der Milchwirtschaft wurde insbesondere von Schönberg⁵⁾, Meyer⁶⁾, Benk⁷⁾ und Gisske⁴⁾ berichtet. Nach Untersuchungen von Reuter und Coretti⁸⁾ konnte mit der einprozentigen Lösung dieses Desinfektionsmittels in fleischverarbeitenden Betrieben nur dann eine befriedigende Wirkung erzielt werden, wenn die Lösung auf 62—65° erwärmt 10 bis 15 Minuten lang einwirkte.

Über die Verwendung von Tego 51 zu Desinfektionszwecken in der Fischerei liegt eine gründliche Arbeit von Kietzmann⁹⁾ vor. Danach bewährte sich die Versprühung von 1%iger Lösung gut zur weitgehenden Entkeimung von Auktionskisten. Die bakteriologischen Untersuchungen ergaben, daß die Wirkung des Mittels gegen Fäulnisbakterien stark ist, dagegen nicht gegen Wasserbakterien.

Bei dem Versuch, Tego 51 als Zusatzmittel bei der Fischbeeisung zu verwenden, trat eine starke Schaumbildung auf, die Veranlassung war, das Präparat durch ein nahe verwandtes, zur gleichen Gruppe gehörendes zu ersetzen, das als „E 10“ bezeichnet wird.

Um in eigenen Versuchen zu mit anderen Präparaten vergleichbaren Ergebnissen zu kommen, wurden E 10 in 0,1- und 0,5%iger Konzentration und Tego 51 in der Konzentration von 0,1% getestet. Da die Invertseifen vergleichbarer Struktur in eiweißfreien Medien etwa gleich gut desinfizieren wie die Ampholytseifen, diesen aber bei Anwesenheit von Eiweiß unterlegen sein sollen¹⁰⁾, wurde das schon früher von uns benutzte Zephirol³⁾ jetzt in 10fach stärkerer Konzentration (1% der handelsüblichen Lösung) mit in die Untersuchung einbezogen.

In den letzten Jahren ist eine starke Diskussion um die Eignung des Präparates „Foromycen“ des *Petro-sin-Laboratoriums C. P. Ottersbach* in Glücksburg als Konservierungsmittel entstanden. Aus bisher vorliegenden Untersuchungen¹¹⁾ geht hervor, daß dieses Mittel gute bactericide Eigenschaften besitzt und als Eiszusatzmittel¹²⁾ die Haltbarkeit damit behandelter Fische gegenüber den mit normalem Eis bepäckten beträchtlich erhöht. Da Foromycen als wirksame Substanz Formaldehyd enthält, haften ihm nach der z. Z. vorherrschenden Meinung alle die am Formaldehyd für Lebensmittelkonservierungszwecke bisher als nachteilig gerügten Eigenschaften an¹¹⁾. In unwesentlichen Punkten des chemischen Verhaltens scheinen dagegen geringfügige Unterschiede zwischen beiden Stoffen zu bestehen. — Damit erscheint uns die Notwendigkeit gegeben, zunächst den *Formaldehyd* in die geplante Aufstellung der Rangfolge von Eiszusatzmitteln einzubeziehen, zumal die Beschäftigung mit in der chemischen Zusammensetzung nicht genau bekannten Stoffen, insbesondere mit verschiedenen Stoffgemischen, ins Uferlose führen könnte. Daß bei Verwendung von Formaldehyd eine Erhöhung der Haltbarkeit damit behandelter Fische zu erwarten war, konnte aus früheren Untersuchungen anderer Autoren¹³⁾ abgeleitet werden. Die Substanz kam in allen Versuchen in einer Konzentration von 0,05% und in einem Teil der Ansätze in 0,005%iger Konzentration zur Anwendung.

Für die Aufnahme von *Trypaflavin* in einer Konzentration von 0,005% war nur der Grund maßgeblich, daß es sich in der doppelt so hohen Konzentration vom Standpunkt der Haltbarkeitsverlängerung betrachtet gut bewährt hatte und uns ein Vergleich mit den neueren Mitteln wünschenswert erschien.

Von den bisher eingehender untersuchten bactericiden Mitteln ist in Kanada das *Natriumnitrit* bis zu einer Konzentration von 0,02% als Konservierungsmittel für Fischprodukte in neuerer Zeit zugelassen worden¹⁴⁾. Um zu sehen, ob es die übrigen hier von uns gewählten Zusätze in ihrer Wirksamkeit übertrifft, wurde es auch in diese Untersuchung mit eingeschlossen und zwar in der für Kanada erlaubten Konzentration. Es vermag uns so wie in einer früheren Arbeit, in der es in einer Konzentration von 0,05% zur Anwendung kam, einen festen Bezugspunkt eines Systems zu liefern, in dem das Ergebnis der Behandlung der Fische ohne einen bactericiden Zusatz den zweiten Fixpunkt abgibt.

II. Die Bestimmung der Testgrößen

Die Beurteilung aller Proben erfolgte nach dem Geruch und nach dem Gehalt an Tyrosin- und basischem Stickstoff. In einer früheren Veröffentlichung, in der wir die hier benutzten Analysemethoden genauer beschrieben¹⁵⁾, hatten wir gezeigt, daß sich die angeführten subjektiv und objektiv ermittelten Größen im allgemeinen gut zuordnen lassen und die unabhängig voneinander aufgestellten Rangfolgen zufriedenstellend übereinstimmen. Bei einem Teil unserer Muskelbreiversuche wurden auch die Keimzahlen nach dem *Koch'schen* Plattenverfahren bestimmt*).

*) Die Bestimmung der Keimzahlen wurde im Mikrobiologischen Laboratorium der Bundesforschungsanstalt für Lebensmittelfrischhaltung durchgeführt, wofür wir Frau N. *Maltschewsky* zu Dank verpflichtet sind.

Bei allen objektiven Testverfahren wurde an Hand der Mittelwerte aus mehreren Parallelversuchen für jede Testgröße, d. h. basischen Stickstoff, Tyrosin-Stickstoff und evtl. Rangnummern der Bakterienzahl eine Rangfolge aufgestellt. Der Geruch wurde zunächst unter Zugrundelegung des Karlsruher Bewertungsschemas beurteilt, wonach mit Hilfe der erteilten Noten die Rangfolge gebildet werden konnte. Außerdem wurde unabhängig von den Einzelnoten eine Rangfolge der Proben in jedem Einzelversuch aufgestellt; durch Addition der so aus den Einzelversuchen gewonnenen Rangfolgezahlen für die Parallelversuche konnte nunmehr die endgültige Rangfolge für eine Versuchsreihe gebildet werden. Diese Zahlenwerte lieferten dann die Grundlage für den Vergleich mit denjenigen Rangfolgen, die aus der Geruchsbewertung nach Noten und aus den objektiv ermittelten Testgrößen aufgestellt wurden.

Der niedrigsten Rangnummer entspricht der beste Frischzustand. Grundsätzlich wurde jedem Zusatz eine Rangnummer gegeben; stimmten aber die Mittelwerte bzw. Summen für die Testgrößen von mit verschiedenen Zusätzen behandelten Fischproben innerhalb einer Versuchsreihe so gut überein, daß eine unterschiedliche Einordnung in die Rangfolge nicht gerechtfertigt erschien, erhielten sie die gleiche Rangnummer, die in der Mitte zwischen den für diese Proben zur Verfügung stehenden lag.

III. Versuche mit Muskelbrei

Schon in früheren Veröffentlichungen^{1, 3)} hatten wir darauf hingewiesen, daß es außerordentlich schwierig ist, aus den Ergebnissen nur weniger Fischbeeisungsversuche mit einer geringen Anzahl von Fischexemplaren stichhaltige Schlußfolgerungen über die Wirksamkeit eines zugesetzten bactericiden Mittels zu ziehen. Zum guten Teil ist diese Tatsache dadurch bedingt, daß es normalerweise nicht möglich ist, Fischmaterial von gleichem biologischem Anfangszustand zur Verfügung zu haben und die Ausgangswerte für die einzelnen Testgrößen von Fisch zu Fisch bedeutende Unterschiede zeigen können¹⁵⁾. — Da wir in unseren Beeisungsversuchen außerdem aus ortsbedingten Gründen mit Süßwasserfischen arbeiten mußten, war ein Weg zu finden, der uns nach Abschluß dieser Versuche gestatten würde, Analogieschlüsse wenigstens auf die relative Wirksamkeit dieser Stoffe bei ihrer Verwendung als Eiszusätze zur Seefischbeeisung zu machen.

Unter Berücksichtigung dieser beiden Gesichtspunkte lag es nahe, zunächst mit Proben von Muskelbreihomogenaten zu arbeiten und zu prüfen, ob bei gleicher Behandlungsweise von möglichst frischem Seefisch- und in einer 2. Versuchsreihe von Süßwasserfischhomogenat, die bei gleichen Temperaturen zu lagern waren, übereinstimmende Rangfolgen für die gewählten bactericiden bzw. bacteriostatischen Stoffe erhalten wurden.

Bei den Homogenatversuchen kam folgende Arbeitsmethode zur Anwendung: Eben getöteten Schleien im einen Fall und Kabeljauschwanzstücken von möglichst frischen Tieren im anderen Fall wurde die Seitenrumpfmuskulatur unter möglichst sterilen Bedingungen entnommen und mit der sechsfachen Menge sterilisierten Leitungswassers im Starmix

Tabelle 1

Subjektive und objektive Bewertung bei Zusatz von bactericiden Mitteln zu Kabeljaumuskel-Homogenat

Zusatz	Geruchsbewertung					Geruchsbewertung					Gehalt an basischem Stickstoff					Geh. an Tyrosin-Stickst.					Bakterienzahl						
	Rangnummer			Rangfolge		Noten			Rangfolge		mg %			Rangfolge		mg %			Rangfolge		Rangnummer			Rangfolge			
	Einzelversuche			Mittelwert	Rangfolge	Einzelversuche			Mittelwert	Rangfolge	A	B	C	Rangfolge	Einzelversuche			Mittelwert	Rangfolge	A	B	C	Einzelversuche			Mittelwert	Rangfolge
	A	B	C	A		B	C	A	B		C	A	B		C	A	B	C		A	B	C					
0,02 % Natriumnitrit	2,5	3	6	3,8	3,5	4,5	5	3	4,2	3	64,4	59,1	47,3	56,9	3	3,7	3,3	2,2	3,1	2	—	8,5	5,5	7	8		
0,005 % Trypaflavin	2,5	2	3	2,5	2	4,5	5,5	4,5	4,8	2	65,4	49,6	39,3	51,4	3	5,1	5,2	2,1	4,1	6	—	2,5	1,5	2	2		
1 % Zephirol	5,5	4	5	4,8	5	2	5	3	3,3	4	68,7	45,5	45,6	53,3	3	7,1	2,5	1,9	3,8	6	—	2,5	3,5	3	3		
0,05 % Formaldehyd	1	1	1	1	1	8	7	5	6,7	1	58,1	43,7	37,1	46,3	1	1,8	1,8	1,3	1,6	1	—	1	1,5	1,3	1		
0,005 % Formaldehyd	—	5	3	4	3,5	—	1	4,5	2,8	5	—	118,6	52,8	85,7	6	—	5,9	2,0	3,9	6	—	7	5,5	6,3	6,5		
0,1 % Tego 51	7	6	7	6,7	7,5	1,5	0	2,5	1,3	8	113,9	121,0	51,6	95,5	7,5	3,3	6,3	2,2	4,0	6	—	4	7	5,5	5		
0,1 % E 10	4	9	8	7	7,5	4	0	1,5	1,8	7	117,3	119,3	55,7	97,4	7,5	3,6	5,6	3,4	4,2	6	—	5	8	6,5	6,5		
0,5 % E 10	5,5	8	3	5,5	6	2	0	4,5	2,2	6	65,7	75,0	39,3	60,0	5	3,8	4,8	1,9	3,5	3	—	6	3,5	4,8	4,0		
Kontrolle	8	7	9	8,0	9	1	0	1	0,7	9	115,3	134,4	111,8	120,5	9	3,9	6,2	7,2	5,8	9	—	8,5	9	8,8	9		

homogeniert. Das Homogenat wurde bis auf einen Rest für die Anfangsbestimmungen gleichmäßig auf neun vorher sterilisierte Erlenmeyerkolben verteilt und zu jeder der Proben einer der Zusätze gegeben, dessen Konzentration in Prozenten der zugesetzten Wassermenge angegeben wird. Nach gutem Durchmischen wurden die mit Korkstopfen verschlossenen Gefäße bei +1° C gelagert. Die Ermittlung der Testwerte erfolgte nach 9—18 Tagen.

a) Versuche mit Kabeljaumuskelhomogenat

Die Testwerte für die Einzelversuche A, B und C sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Vergleicht man die Rangfolgen für die einzelnen Testgrößen, so erkennt man, daß bei einigen Zusätzen größere Differenzen auftreten; die Differenzen sind z. T., wie z. B. aus den Mittelwerten für Tyrosinstickstoff hervorgeht, darauf zurückzuführen, daß sich diese Werte bei manchen Zusätzen nicht oder so unwesentlich unterscheiden, daß die Abweichungen innerhalb der Fehlergrenze der Methoden fallen und infolgedessen verschiedenen Mitteln dieselben Rangnummern gegeben werden müssen. Es ist leicht einzusehen, daß die Aufstellung einer Rangfolge überhaupt schwierig ist, wenn die oder ein Teil der zu testenden Proben keine wesentlichen Unterschiede zeigen. Auf unseren Fall übertragen, würde das aber bedeuten, daß wir es mit Stoffen annähernd gleicher Wirksamkeit zu tun haben.

Eine kritische Durchsicht der Tabelle lehrt eindeutig, daß ein Zusatz von 0,05% Formaldehyd zum Fischmuskelbrei alle anderen geprüften Zusatzstoffe in seiner konservierenden Wirkung übertrifft. Bei allen Testgrößen mußte die Rangfolge 1 gegeben werden. Den Protokollen für die Einzelversuche entnehmen wir in allen drei Fällen A, B und C übereinstimmend, daß die Proben nach der Lagerung einen reinen Fischgeruch ohne Anzeichen von Eiweißzerersetzung aufwiesen. Auf einen Formaldehydzusatz deuteten geruchlich keine Anzeichen hin. Mit verhältnismäßig großem Abstand in der Wirkung folgt das Trypaflavin in einer Konzentration von 0,005%. Unangenehm ist bei diesem Acridinderivat, daß es eine starke Gelbfärbung des Breies hervorruft, die, abgesehen von der Verleihung eines unnatürlichen Aus-

sehens, auch bei der kolorimetrischen Tyrosinbestimmung etwas zu hohe Werte vortäuscht. Darauf ist wohl zurückzuführen, daß die Rangfolge für den Tyrosinstickstoff von den übrigen wesentlich abweicht. Bei der subjektiven Beurteilung dieser Proben wurde ihr Geruch als etwas süßlich fremdartig bezeichnet. Mit nur geringem Abstand vom Trypaflavin folgt an dritter Stelle der 0,02%ige Natriumnitritzusatz. Die damit behandelten Proben besaßen einen stark fischigen Geruch, der in einem Fall schon auf den Beginn der Eiweißzerersetzung hindeutete. Bemerkenswert ist, daß in den zwei Versuchen, in denen die Bakterienanzahl bestimmt wurde, diese relativ hoch war. Den vierten Platz nimmt das Zephirol in 1%iger Konzentration ein; bei der Geruchsbewertung störte bei diesen Proben der Eigengeruch des Zephirols. In den Versuchen A und B war das handelsübliche Zephirol mit Citronell parfümiert verwandt worden, während im Versuch C ein unparfümiertes Präparat benutzt werden konnte. Aber auch im letzten Fall wurde der Geruch der Probe als seifig parfümiert empfunden. Es ist daher wohl möglich, daß der Eigengeruch des Mittels eine etwas zu schlechte Geruchsbewertung der Proben bedingt hat. Erst an fünfter Stelle folgt von den beiden Ampholytseifen das E 10, und zwar in der stärkeren Konzentration von 0,5%. Bei der subjektiven Beurteilung wurde ein ganz leichter Fremdgeruch festgestellt, im übrigen wurden alle Proben als an der Grenze der Genußtauglichkeit stehend oder als verdorben bezeichnet. Geruchlich etwas besser, aber unter Berücksichtigung der übrigen Eigenschaften erst an sechster Stelle in unsere Rangliste einzugruppierten, war die schwächere Formaldehydkonzentration von 0,005% Formaldehyd. Nach den Ergebnissen dieser Versuchsreihe würde vermutlich eine Konzentration etwa in der Mitte zwischen 0,05 und 0,005% Formaldehyd in einer Rangliste mit den übrigen angewandten Mitteln noch an erster Stelle stehen. Gleich schlecht und mit der Nummer 7,5 in unserer Rangfolge mußten die schwächere Konzentration von E 10 (0,1%) und Tego 51 in 0,1%iger Konzentration bewertet werden. Die damit angesetzten Proben waren alle verdorben. Eindeutig den schlechtesten Frischzustand wiesen die Proben ohne Zusatz auf, die in der Rangfolge stets an neunter Stelle kamen.

Ähnlich waren die Ergebnisse zweier orientierender Versuche mit Kabeljaufiletts, die 5 Minuten lang in verschiedene bactericide Lösungen von der angegebenen Zusammensetzung eingetaucht wurden und anschließend bei 100% relativer Feuchtigkeit und +1°C ohne Eiszusatz gelagert wurden. Im Vergleich zu den Muskelbreiversuchen zeigten die mit 0,02% Nitritlösung behandelten Filetstücke bei der Auslagerung einen relativ schlechten Frischzustand. Dieser Befund deckt sich mit einem schon früher mitgeteilten Ergebnis von Nikkilä, der die Wirkung antiseptischer Waschungen auf Heringe untersuchte¹⁶⁾. Da die Ergebnisse solcher Versuche durch den Grad der Infektion tieferliegender Muskelschichten unterschiedlich beeinflusst werden könnten und hier keine wirklich frischen Seefischfilets zur Verfügung standen, wurden zunächst keine weiteren Versuche in dieser Richtung angesetzt.

b) Versuche mit Schleienmuskelhomogenat

Bei den Versuchen mit Kabeljaumuskelfhomogenat wurde Muskulatur verwandt, deren Vorgeschichte nicht genau bekannt war, die aber sicher schon seit etwa 14 Tagen tot und in dieser Zeit autolytischen und auch bakteriellen Veränderungen unterworfen war. Schon nach einer Lagerzeit von 9 Tagen zeigten die Homogenate deutlich wahrnehmbare Unterschiede, so daß es ratsam erschien, die Versuche nach spätestens 11 Tagen abzubrechen.

Das bei diesen Versuchen gelagerte Schleienmuskelhomogenat wurde aus der Muskulatur eben getöteter Schleien hergestellt und wenige Stunden später unter denselben Bedingungen gelagert wie das Seefischhomogenat. Wie zu erwarten war, traten hierbei später, und zwar erst nach 14 Tagen, deutlich erkennbare Unterschiede im Geruch auf. Beim Versuch A wurde 14 Tage, Versuch B 16 und Versuch C 18 Tage bei +1°C gelagert.

Die Testwerte der Einzelversuche und die sich daraus ergebenden Rangfolgen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Auch bei diesen Versuchen zeigte der Formaldehyd in einer Konzentration von 0,05% die beste konservierende Wirkung. Er ließ kein Bakterienwachstum aufkommen und tötete auch die im frischen Homogenat vorhandenen Keime ab, deren

Menge zwischen 2 und $7 \times 10^4/\text{cm}^3$ lag. Der Geruch dieser Proben wurde als leimig bis tranig bezeichnet und trat bei den nur 14 Tage gelagerten Proben A so unangenehm in Erscheinung, daß dieses Homogenat geruchlich schlechter bewertet wurde als die mit Trypaflavin und Natriumnitrit behandelten Proben. Mit Abstand folgen die Proben, die einen Zephirolzusatz von 1% enthielten. Obwohl hier ein unparfümiertes Präparat verwandt worden war, wurde der Muskelbrei bei allen drei Versuchen als mehr oder weniger stark seifig parfümiert riechend empfunden. In der Rangordnung folgen etwa an gleicher Stelle die mit 0,02% Natriumnitrit, die mit 0,005% Trypaflavin und die mit 0,05 Formaldehyd behandelten Proben. Geruchlich wiesen die Proben, die die schwächere Formaldehydkonzentration enthielten, eine als etwas fremdartig leimig bezeichnete Note auf, die aber längst nicht in dem Maße in Erscheinung trat wie bei der stärkeren Aldehydkonzentration. An sechster Stelle in dieser Versuchsreihe wurden die mit 0,5% E 10 behandelten Proben eingeordnet, die alle schon mehr oder weniger stark verdorben waren, wie die Geruchsbewertung (Tab. 2) zeigt. Noch etwas schlechter bewertet wurden bei Berücksichtigung aller Testgrößen die mit 0,1% Tego 51 behandelten Proben, die aber besser abschnitten als die mit 0,1% E 10 versetzten. Wie zu erwarten war, mußten die Proben ohne Zusatz am schlechtesten beurteilt werden.

Bei einem Vergleich der Ergebnisse beider Muskelhomogenatversuche erkennt man eine etwas bessere, haltbarkeitsverlängernde Wirkung von 1% Zephirol und 0,005% Formaldehyd auf den Schleienmuskelbrei als auf den Kabeljaumuskelfbrei. Bei den übrigen Zusätzen ist die Übereinstimmung zwischen den beiden Homogenatarten zufriedenstellend.

IV. Beisungsversuche mit Schleien

Um zu sehen, ob die Ergebnisse der geschilderten Vergleichsversuche mit Muskelbrei auf Beisungsversuche mit Fischen zu übertragen sind, wurden in der zweiten Versuchsreihe Schleien von 200 bis 300 g Gewicht unmittelbar nach dem Töten und Ausweiden mit Eis bepackt gelagert, das die oben angeführten Zusätze enthielt. Die Versuchsanordnung wurde im wesentlichen aus einer früheren Untersuchung³⁾ über-

Tabelle 2

Subjektive und objektive Bewertung bei Zusatz von bactericiden Mitteln zu Schleienmuskel-Homogenat

Zusatz	Geruchsbewertung					Geruchsbewertung					Gehalt an basischem Stickstoff					Geh. an Tyrosin Stickst.					Bakterienzahl				
	Rangnummer			Rangfolge	Noten			Rangfolge	mg %				Rangfolge	mg %				Rangfolge	Rangnummer			Rangfolge			
	Einzelversuche				Einzelversuche				Einzelversuche		Mittelwert			Einzelversuche		Mittelwert			Einzelversuche						
	A	B	C	A	B	C	A	B	C	Mittelwert	A	B	C	Mittelwert	A	B	C								
0,02 % Natriumnitrit	2	3	5	3,3	3,5	7	5	2	4,7	3,5	25,6	33,3	40,7	33,2	5	3,3	7,0	7,0	5,8	4	5	2,5	5	4,2	4
0,005 % Trypaflavin	1	6	4	3,7	3,5	8	2	2,5	4,2	3,5	26,1	34,7	34,8	31,9	3	4,4	13,5	10,1	9,3	8	4	2,5	2	2,8	2
1 % Zephirol	5	1	3	3,0	3,5	5	6	3	4,7	3,5	24,5	28,9	28,9	27,4	2	3,8	5,6	5,3	4,9	2,5	2,5	5	3,5	3,7	3
0,05 % Formaldehyd	3	2	1	2,0	1	6	5,5	4	5,2	1	19,2	20,8	22,9	21,0	1	3,8	5,3	3,4	4,2	1	1	1	1	1	1
0,005 % Formaldehyd	4	4	2	3,3	3,5	5,5	4	3,5	4,3	3,5	24,2	29,8	45,4	33,1	5	4,7	6,6	3,6	5,0	2,5	6	7	6	6,3	7
0,1 % Tego 51	8	6	8	7,3	7	1	2	0	1	7,5	25,1	34,3	49,5	36,3	7,5	4,4	8,8	9,1	7,4	5	7,5	4	3,5	5	5,5
0,1 % E 10	7	8,5	9	8,2	8,5	2,5	1	0	1,2	7,5	27,2	39,6	43,6	36,8	7,5	5,4	12,1	9,4	9,0	8	7,5	8	8	7,8	8
0,5 % E 10	6	6	6	6,0	6	3,5	2	1	2,2	6	24,5	34,7	40,1	33,1	5	5,7	9,7	9,1	8,2	6	2,5	6	7	5,2	5,5
Kontrolle	9	8,5	7	8,2	8,5	0	1	0	0,3	9	27,2	40,2	64,2	43,9	9	5,2	12,8	10,1	9,4	8	9	9	9	9	9

Tabelle 3

Zusammenstellung der Ergebnisse von Versuchen an in Eis mit bactericiden Zusätzen gelagerten Schleien; die Testgrößen der subjektiven und objektiven Bewertung stellen Mittelwerte von 5 Parallelversuchen dar.

Zusatz	Geruchsbewertung nach Rangfolgen		Geruchsbewertung nach Noten		Gehalt an basischem Stickstoff		Gehalt an Tyrosin-Stickstoff	
	Mittelwert	Rangfolge	Mittelwert	Rangfolge	Mittelwert in mg %	Rangfolge	Mittelwert in mg %	Rangfolge
0,02 % Natriumnitrit	3,6	2,5	6,3	2,5	24,7	4	3,24	1
0,005 % Trypaflavin	3,5	2,5	6,2	2,5	24,5	4	3,58	4,5
1 % Zephirol	5,7	6	4,5	6	20,7	4	3,60	4,5
0,05 % Formaldehyd	1,4	1	8,2	1	16,6	1	3,42	2
0,1 % Tego 51	4,3	4	5,7	4	22,5	4	3,61	4,5
0,1 % E 10	6,9	8	3,4	7	33,6	7,5	5,34	8
0,5 % E 10	4,6	5	5,4	5	21,9	4	3,58	4,5
Kontrolle	6	7	3	8	29,7	7,5	4,43	7

nommen. Die Lagerung der beeißten Fische erfolgte nach dem Abwaschen des Schleimes der mehr oder weniger stark verschleimten Fische; dagegen wurde die Rangfolge für den Geruch bei den Einzelversuchen vor dem Abwaschen der Fische aufgestellt. Es sollte durch die beiden unabhängig voneinander durchgeführten subjektiven Bewertungen entschieden werden, ob sich nach dem Abwaschen des Oberflächenschleimes Verschiebungen in der relativen Geruchsbeurteilung ergeben. Neben den in Zahlen und Rangfolgen ausgedrückten Testwerten wurden auch Zustand von Kiemen und Augen, die Konsistenz des Fleisches und das Aussehen der Fische berücksichtigt.

Die Einzelergebnisse der fünf Parallelversuche wichen auch in dieser Reihe verhältnismäßig stark voneinander ab. Für die einzelnen Testgrößen sind die Mittelwerte aus den fünf Parallelversuchen und die sich daraus ergebenden Rangfolgen in Tabelle 3 zusammengestellt.

Wie in der vorigen Versuchsreihe, wurden ebenfalls bei den Beeißungsversuchen mit dem 0,05%igen Formaldehydzusatz die besten Ergebnisse erzielt. Infolgedessen konnte allen Testgrößen, mit Ausnahme von Tyrosin-Stickstoff, der die Rangfolge 2 erhielt, die Rangfolge 1 gegeben werden. Die Muskulatur hatte in Übereinstimmung damit noch bei der Auslagerung eine auffallend feste Struktur, wie sie sonst bei totenstarrten Fischen beobachtet wird. Wir möchten annehmen, daß eine ganz geringgradige Eiweißhärtung stattgefunden hat, die deutlich bei der Haut in Erscheinung trat. Die Haut sah in allen Versuchen matt und stumpf aus wie bei Seefischen, die längere Zeit im Schmelzwasser gelegen haben, wenn der Abfluß der Bilge verstopft ist. Dieser ungünstige subjektive Eindruck wurde aber deshalb von den Prüfern nicht bemängelt, weil diese Fische im Gegensatz zu allen übrigen Proben keinen oder doch nahezu keinen Oberflächenschleim besaßen und daher einen sehr viel günstigeren Gesamteindruck hinterließen. Die Haut zeigte bei der anschließenden Präparation zur Entnahme der Seitenrumpfmuskulatur für die analytischen Bestimmungen eine lederartige Konsistenz. Die Augen waren zwar eingefallen, aber im allgemeinen noch klar und wenig verfärbt. Lediglich

das Aussehen der Kiemen, das ja bekanntlich in der Praxis gern als ein Kennzeichen des Frischezustandes von Fischen herangezogen wird, wurde etwas von den mit Nitriteis behandelten Fischen übertroffen.

Nach unseren Versuchsergebnissen folgt das Natriumnitrit (0,02%) in relativ großem Abstand nach Formaldehyd an zweiter Stelle. Damit werden die von uns und anderen Autoren schon früher gemachten guten Erfahrungen¹⁷⁾ mit diesem Zusatzstoff bestätigt. Das Trypaflavin schneidet lediglich bei den Tyrosinwerten etwas schlechter ab und belegt infolgedessen den dritten Platz. Die Ursache für den höheren Tyrosindurchschnittswert kann hier nicht auf Bestimmungsfehler durch den Acridinfarbstoff selber zurückgeführt werden, da wohl die Haut, aber nicht das Muskelfleisch eine Gelbfärbung aufwies. Bei der mehr als doppelt so hohen Trypaflavin-Konzentration hatten wir früher eine Gelbfärbung der an Haut und Bindegewebe angrenzenden Muskelschicht kleiner Süßwasserfische festgestellt. Die Verfärbung der Haut und Schleimschicht verliert in Trypaflavineis gelagerten Fischen ein fremdartiges und unangenehmes Äußeres, so daß sie im allgemeinen nach dem Aussehen allein schlecht eingestuft wurden; auch die Kiemen waren gelblich-bräunlich verfärbt.

Waren die Unterschiede in der Wirkung zwischen Natriumnitrit und Trypaflavin nicht sehr groß, so fällt es noch schwerer, die vierte, fünfte und sechste Stelle in der Rangfolge zwischen den Zusätzen: 1,0% Zephirol, 0,1% Tego 51 und 0,5% E 10 aufzuteilen. Auswertbare Unterschiede ergaben sich nur bei der subjektiven Beurteilung. Bei Berücksichtigung der möglichen Fehlerquellen bei der Untersuchung einerseits und der geringen wahrnehmbaren Unterschiede andererseits schien es uns nicht gerechtfertigt, die Stoffe unterschiedlich zu beurteilen. Sie bekamen daher alle die gleiche Rangnummer (5). Besonders zu erwähnen ist, daß der Oberflächenschleim der in Zephiroleis gelagerten Fische nicht mehr gequollen, glasig-durchsichtig war, sondern die Oberfläche der Fischhaut in koagulierten Schleimfetzen nur teilweise bedeckte. Mit einem größeren Abstand aber untereinander gleich in der Wirksamkeit folgen an den

letzten Stellen die Proben mit schwächerer Konzentration von E 10 (0,1%), die sich praktisch als wirkungslos erweist, und diejenigen ohne Zusatz.

V. Diskussion der Ergebnisse

Stellt man die Rangfolgen, die sich bei Berücksichtigung aller Testgrößen für die einzelnen Versuchsreihen ergeben, zusammen (Tab. 4), so erkennt man,

Tabelle 4
Gegenüberstellung der Gesamtrangfolgen für die einzelnen Versuchsreihen

Zusatz	Gesamtrangfolge		
	Schleien beest	Kabeljaumuskelhomogenat	Schleienmuskelhomogenat
0,02 % Natriumnitrit	2	3	3,5
0,005 % Trypaflavin	3	2	3,5
1 % Zephirol	5	4	2
0,05 % Formaldehyd	1	1	1
0,005 % Formaldehyd	—	zwischen 5 und 6,5	3,5
0,1 % Tego 51	5	6,5	6
0,1 % E 10	7,5	6,5	7
0,5 % E 10	5	5	5
Kontrolle	7,5	8	8

daß die Beurteilung der bactericiden Stoffe in den angewandten Konzentrationen für die drei Versuchsreihen relativ gut übereinstimmt. Wir möchten daraus schließen, daß es zur ersten orientierenden Prüfung der relativen Wirksamkeit eines für die Fischbeisung vorgeschlagenen Zusatzmittels ratsam ist, Fischmuskelbrei in der von uns hier angegebenen Weise anzusetzen und gemeinsam mit Proben, die ein in seiner Wirksamkeit bekanntes Mittel enthalten, zu lagern.

Wir hatten schon früher auf die Möglichkeit hingewiesen, daß sich bactericide Substanzen gegenüber den auf den Seefischen und in Seefischfleisch vorkommenden Bakterien anders verhalten könnten als gegenüber den für Süßwasserfische typischen Arten. Aus den vorliegenden Untersuchungen ist jedoch für die benutzten bactericiden Mittel keine unterschiedliche Wirkung zu erkennen. Endgültig kann diese Frage aber erst nach einer gründlichen bakteriologisch-analytischen Überprüfung entschieden werden.

Die Versuchsergebnisse dürfen zu einem Urteil über die allgemeine bactericide Wirksamkeit der benutzten Mittel bzw. ihre Eignung für Desinfektionszwecke keinesfalls verleiten. Man muß sich dabei immer vor Augen halten, daß die angewandte Konzentration, Bakterienart, Infektionsstärke und Milieu wesentlich für die Beurteilung eines bactericiden Stoffes sind. Es ist z. B. zu erwarten, daß bei Fischbeisungsversuchen mit höheren Konzentrationen der Ampholytseifen wesentlich bessere Ergebnisse als die gefundenen erzielt werden könnten. Uns schienen aber die angewandten Konzentrationen aus wirtschaftlichen Gründen vernünftig zu sein. Das Zephirol ist in der bei diesen Versuchen angewandten hohen Konzentration (1%) für Fischbeisungsversuche nicht verwendbar und würde wahrscheinlich in der tragbaren 10fach schwä-

cheren Konzentration in Übereinstimmung mit früheren Versuchen ähnliche Ergebnisse geliefert haben wie Tego 51 und E 10. Dagegen wird sicher niemand bezweifeln, daß Zephirol und Tego 51 sich für bestimmte Desinfektionszwecke sehr gut eignen.

Für Formaldehyd scheint uns die Konzentration, bei welcher seine Wirkung diejenige der übrigen hier benutzten Mittel noch übertrifft, bei 0,01% zu liegen. Es wäre also wesentlich festzustellen, welche Mengen an Formaldehyd noch in der Muskulatur von Fischen vorhanden sind, die mit einem derartigen Formaldehydeis behandelt wurden und ob der Verzehr solcher Fische gesundheitlich unbedenklich ist. Die Klärung dieser Fragen liegt außerhalb der hier gestellten Aufgabe. Es sei aber erlaubt, einige gesicherte, bisher noch zu wenig bekannte Befunde herauszustellen: Formaldehyd hat eine gute bactericide oder bacteriostatische Wirkung und würde richtig angewandt, nämlich bei Beisung unmittelbar nach dem Fange, nicht nur das Aufkommen der Zersetzungsgerüche verhindern, sondern auch die bakterielle Zersetzung wirklich stark verzögern. Auf Grund dieser Erkenntnisse wurde das von F. Linley 1907 eingeführte und nach ihm benannte Verfahren, bei dem Formaldehyddämpfe in Kühlräume für Fleisch geleitet wurden, Jahre hindurch benutzt, und mehr als 1 Million von Argentinien nach England eingeführte Rinderviertel wurden so behandelt¹⁸⁾. Es wird in den uns vorliegenden Mitteilungen darüber übereinstimmend die gute Qualitätserhaltung des Fleisches hervorgehoben. In einem Bericht von Schryver an das Local Government Board on Public Health and Medical Subjects¹⁹⁾ wird auf die große Reaktionsfähigkeit des Formaldehyds hingewiesen und betont, daß bei dem Linley-Verfahren der Formaldehyd etwa 20 mm tief in die oberflächliche Muskelschicht eindringt — sofern diese nicht durch ein dickes Fettgewebe nach außen abgeschlossen ist — und hier noch lange Zeit nach der Behandlung nachgewiesen werden kann.

Diese Befunde, die Gefahren der bekannten Reaktion von Formaldehyd mit Proteinen und Aminosäuren unter Bildung von Methyleniminoderivaten für den menschlichen Verdauungstrakt und die Einwirkung von Formaldehyd auf Verdauungsfermente bzw. auf die Verdaulichkeit von Eiweiß²⁰⁾ mögen Veranlassung dazu gewesen sein, daß dieses Verfahren in England später verboten wurde. Bekanntlich schreibt man auch heute dem nach Geruch von Methylalkohol im menschlichen Organismus z. T. daraus gebildeten Formaldehyd die wesentliche Ursache der gewöhnlich auftretenden Vergiftungserscheinungen zu. Von den bisher bekannten Einflüssen des Formaldehyds auf lebende Organismen erscheint uns noch interessant, daß nach subcutaner Injektion bei Meerschweinchen und Ratten ein Anstieg der Eosinophilen im Bindegewebe erfolgt²¹⁾ und daß Formaldehyd auch eine mutagene Wirkung auf Bakterien auszuüben vermag²²⁾.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß der Zulassung von Formaldehyd zu Konservierungszwecken in der Nahrungsmittelindustrie eine gewissenhafte Prüfung durch die beteiligten Stellen vorangehen muß. Die Tatsache, daß Formaldehyd in Räucherwaren nachgewiesen werden kann, die Wirkung des bei der Marinadenherstellung gelegentlich benutzten Hexa-

methylentetramins auf einer langsam fortschreitenden Formaldehydabspaltung beruht und daß auch aus Trimethylaminoxid in Gegenwart gewisser Katalysatoren beim Erhitzen Formaldehyd abgespalten wird²³), können nicht als ernsthafte Einwände gegen die Vorsicht geltend gemacht werden, die dem Formaldehyd gegenüber im Zusammenhang mit ernährungsphysiologischen Fragen notwendig ist.

Bei einer kritischen Betrachtung der übrigen hier benutzten Zusatzstoffe erkennt man, daß, da Trypaflavin schon infolge der starken Gelbfärbung der Fischhaut ausgediebt werden muß und die oberflächenaktiven Mittel in tragbaren Konzentrationen relativ unwirksam zu sein scheinen, lediglich die Verwendung von NaNO₂ als Eiszusatzmittel in Erwägung gezogen werden kann, zumal auch die von vielen anderen Autoren damit erzielten guten Ergebnisse¹⁷) und seine Zulassung in Kanada dafür sprechen.

Zusammenfassung:

Unmittelbar nach dem Schlachten von Schleien entnommene Seitenrumpfmuskulatur und in einer zweiten Versuchsreihe Muskulatur aus Kabeljau-schwanzstücken wurde mit der sechsfachen Menge Wasser homogenisiert und Proben dieses Homogenates mit bactericiden bzw. bacteriostatischen Mitteln, die in neuerer Zeit für die Fischbeisung vorgeschlagen wurden, gemischt und bei +1° C gelagert; in einer dritten Versuchsreihe wurden Schleien kleiner Größe mit Eis, das die gleichen Zusätze enthielt, bei gleicher Temperatur gelagert. Die Konzentrationsangaben für die verwandten Mittel beziehen sich bei den Homogenatversuchen auf den Wasserzusatz und bei den Beisungsversuchen auf das zur Eisbereitung benutzte Wasser.

Die nach dem Auslagern beim Muskelbrei jeweils aus drei und bei den ganzen Fischen aus fünf Parallelversuchen erhaltenen Mittelwerte an basischem Stickstoff und Tyrosinstickstoff und die sich daraus ergebenden Rangfolgen wurden den mittleren Rangfolgen der Noten aus der Geruchsbewertung und in einigen Fällen auch der mittleren Rangfolge der Bakterienzahl gegenübergestellt. Aus der Zusammenfassung dieser Testgrößen wurde eine Gesamt-rangfolge der benutzten Mittel für die einzelnen Versuchsreihen aufgestellt. Obwohl zwischen den Rangfolgen für die einzelnen Testgrößen innerhalb der einzelnen Versuchsreihen Unterschiede auftraten, stimmten die Gesamt-rangfolgen verhältnismäßig gut überein.

In allen Reihen erwies sich ein Zusatz von 0,05% Formaldehyd als weitaus am besten wirksam. Es folgen 0,02% Natriumnitrit und 0,005% Trypaflavin, die etwa in gleichem Maße die zum Verderb führenden Vorgänge verzögerten. Die Wirkung der übrigen Mittel nahm in folgender Reihenfolge weiterhin ab: 1% Zephirol, 0,5% E 10, 0,1% Tego 51 und 0,1% E 10. Die Ergebnisse einiger Versuche mit 0,005% Formaldehyd lassen vermuten, daß eine Konzentration von 0,01% Formaldehyd noch derart wirksam sein würde, daß sie den ersten Platz innerhalb der hier geprüften Zusatzmittel einnehmen würde. Die Eignung der hier benutzten Stoffe als Zusätze zum Wassereis wurde diskutiert.

LITERATURVERZEICHNIS:

- 1) Partmann, W.: Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 94, 246 (1952).
- 2) Tarr, H. L. A.: J. Fish. Res. Board Canada 6, 257 (1944) — J. Fish. Res. Board Canada 7, 155 (1948) — Tarr, H. L. A., B. A. Southcott u. H. M. Bissett: Fish. Res. Board Canada, Progr. Rep. Pac. Coast Stat. No. 83, S. 35 (1950).
- 3) Partmann, W.: Kältetechnik 4, 192 (1952).
- 4) Glöcke, W.: Milchwissensch. 7, 75 (1952).
- 5) Schönberg, F.: „Hochschultag 1950“ Tierärztl. Hochsch. Hannover — Der Lebensmitteltierarzt 2, 106 (1950).
- 6) Meyer, F.: Der Lebensmitteltierarzt 2, Nr. 11 (1951).
- 7) Benk, E.: Milchwissensch. 7, 6 (1952).
- 8) Reuter, H., u. K. Coretti: Die Fleischwirtschaft 1952, H. 5.
- 9) Kietzmann, U.: Der Lebensmitteltierarzt 3, Nr. 8 u. 9 (1952).
- 10) Schmitz, A.: Milchwissensch. 7, 253 (1952).
- 11) Schönberg, F.: Z. Wissensch. u. Praxis d. Fleischwirtsch. 2, H. 1 (1950) — Amelunxen, v. H.: Über die Wirksamkeit von Foromyzen auf anaerobe Fleischfäulnisbazillen. Diss. Tierärztl. Hochsch. Hannover (1951) — Lerche, M.: Fleischwirtschaft 2, 51 (1950).
- 12) Blume, H.: Untersuchungen über Foromyzen als Eiszusatzmittel bei der Frischhaltung von Fischen. Diss. Vet. Med. Fakultät der Justus Liebig-Hochsch. Gießen 1951.
- 13) Keller, H.: Z. Fleisch- u. Milchhyg. 50, 72 (1940) — —: Meld. S. S. F., Damsgard, Bergen Nr. 1, S. 3 (1951).
- 14) —: Annual rep. of the Fish. Res. Board Canada 1950, S. 111.
- 15) Partmann, W.: Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 93, 341 (1951).
- 16) Nikkilä, O. E.: J. Sci. agric. Soc. Finland 22, 93 (1950).
- 17) Ssukrutow, N. J.: Fischereiwelt (russ.) 23, 11 (1949) — Shewan, J. M.: Nature (London) 166, 613 (1950) — Yamada, K. u. A. Murata: Bull. Jap. Soc. sci. Fish. 15, 380 (1949).
- 18) —: Ice and Cold Storage 11, 280 (1908) — —: Ice and Cold Storage 17, 57 (1914) — —: Eis- und Kälteindustrie 10, 71 (1908).
- 19) Newsholme, A.: Food Reports Nr. 9, S. 1—8 (1908).
- 20) Johannesson, F.: Biochem. Z. 83, 28 (1917).
- 21) Romani, J. D.: C. R. Séances Soc. Biol. Filiales 146, 33 (1952).
- 22) Engelsberg, E.: J. Bact. 63, 1 (1952).
- 23) Dunstan, W. R. u. E. Goulding: J. chem. Soc. 75, 1004 (1899) Shewan, J. M.: The chemistry and metabolism of the nitro-No. 6. The Biochemistry of fish. Hrsg. von R. T. Williams, S. 35, Cambridge: University Press 1951.

Die DEUTSCHE LEBENSMITTEL-RUNDSCHAU erscheint monatlich. Bestellungen nimmt jede Buchhandlung des In- und Auslandes, die Post oder der Verlag entgegen. In den Ländern Belgien, Dänemark, Großbritannien, Italien, Luxemburg, Niederlande, Norwegen, Portugal, Schweden, der Schweiz und der Vatikanstadt ist der Bezug durch die Post ebenfalls möglich. Bezugspreis: viertelj. DM 6.—, Einzelheft DM 2.20, Studenten und Assistenten in nicht voll bezahlter Stellung viertelj. DM 4.80.

Probeheft kostenlos durch den Verlag.

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m.b.H., Stuttgart, Tübinger Straße 53, Postfach 40.