

Bestimmung von Herkunft und Tierart in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Determination of origin and animal species in meat and meat products

F. SCHWÄGELE

Zusammenfassung

Auf gesamteuropäischer Ebene besteht gegenwärtig Bedarf nach Systemen, welche die Möglichkeit bieten, die Herkunft, Art der Verarbeitung, die Verteilung und den Verbleib von Lebensmitteln zurückzuverfolgen. Solche Systeme sollen das Vertrauen der Verbraucher in angebotene Lebensmittel erhöhen und gleichzeitig den Behörden helfen, nicht sichere vom Verzehr auszuschließende Lebensmittel zu identifizieren, um diese schnell und vollständig vom Markt zu nehmen. Ein gesamteuropäisches Protokoll zur Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln könnte dazu beitragen, die Behörden umfassend in der Verfolgung von Betrugsfällen im Lebensmittelbereich zu unterstützen. Die Lebensmittelkette stellt eine Reihe von aufeinander folgenden und parallelen Stufen dar, die das gesamte Spektrum von der landwirtschaftlichen Produktion bis hin zum verzehrsfähigen Lebensmittel in der Hand des Endverbrauchers umfassen. Nachfolgend wird aufgezeigt, welche Möglichkeiten zur Rückverfolgbarkeit im Bereich von Fleisch und Fleischerzeugnissen existieren.

Summary

On a pan-European level there is a need for traceability systems giving information on origin, processing, retailing and final destination of food stuffs. Such systems shall enhance consumer confidence in food, enable the regulatory authorities to identify and to withdraw unsafe and not consumable foodstuffs from the market. A pan-European food traceability protocol would greatly assist authorities in detecting fraud. The food chain comprises a range of sequential and parallel stages bridging the full spectrum from agricultural production to the consumable food stuff in the hands of the consumer. This contribution summarises the existing possibilities of traceability in the area of meat and meat products.

Schlüsselwörter Rückverfolgbarkeit – Fleisch – Fleischerzeugnisse

Key Words traceability – meat – meat products

Das Puzzlespiel der Lebensmittelkette

In Artikel 18 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur „Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur Lebensmittelsicherheit“ ist die „Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln und Futtermitteln“ verankert.

Fußend auf dieser Verordnung ist die Entwicklung eines Protokolls zur Rück-

verfolgbarkeit bei Lebensmitteln dem Zusammensetzen eines Puzzlespiels vergleichbar. Da es verschiedene so genannte „Fingerabdruck-Techniken“ (fingerprint-techniques) für Lebensmittel gibt, ist jedes davon ein Element im Puzzlespiel zur Rückverfolgbarkeit in der Lebensmittelkette. Dabei ist es wichtig, die schon vorhandenen Stücke des Puzzles zusammenzufügen, noch fehlende zu suchen, um sehr früh bereits eine Ahnung des Gesamtbildes zu bekommen. Es macht also keinen Sinn, die Teile des Puzzles nur zu sammeln, ohne sie zusammenzusetzen. Auch wenn einige Teile des Puzzles noch fehlen, können in vielen

Fällen auf diese Weise bereits verlässliche Aussagen getroffen werden. Diese Schlussfolgerungen können absolut (z. B. Fleischerzeugnis enthält Schweinefleisch) oder weniger spezifisch (pflanzliche oder tierische Inhaltsstoffe) sein. Die gesammelten Informationen müssen mit einer entsprechenden Informationstechnologie umgesetzt werden, welche es erlaubt, Rückverfolgbarkeit auf den beiden möglichen Schienen zu betreiben, nämlich einerseits von der landwirtschaftlichen Urproduktion über die Verarbeitung und Verteilung bis hin zum Endverbraucher (vom Bauernhof bis zur Gabel; 'Tracking' – stromabwärts in der Verbraucherkette) oder auf dem umgekehrten Weg vom Endverbraucher über die Verteilung und Verarbeitung bis hin zur landwirtschaftlichen Urproduktion (von der Gabel bis zum Bauernhof; 'Tracing' – stromaufwärts in der Verbraucherkette).

Geeignete Methoden für die Analyse von Lebens- und Futtermitteln in Kombination mit Informationstechnologie sind wesentlich für ein gut funktionierendes System zur Rückverfolgbarkeit.

Möglichkeiten zur Rückverfolgbarkeit bei Fleisch und Fleischerzeugnissen

Mit Blick auf die Rückverfolgbarkeit bei Fleisch und Fleischerzeugnissen sind die nachfolgend aufgeführten Aspekte von Bedeutung, welche sich über die gesamte Lebensmittelkette erstrecken und, insofern möglich, Auskunft über die verwendete Tierart, deren Herkunft, Authentizität, Zusammensetzung, Alter und das Produktionssystem (einschließlich verwendete Futtermittel) geben sollen:

Identifikation der Tierart in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Gerade bei Fleisch und Fleischerzeugnissen ist es wünschenswert, eine Reihe zuverlässiger Methoden zu haben, welche es ermöglichen, die vorhandenen Tierarten schnell und eindeutig zu identifizieren. Die analytischen Zielsubstanzen können Proteine, DNA aber auch Fette sein, die es unter Anwendung eines breiten Spektrums

unterschiedlichster Techniken erlauben, die verarbeitete Spezies zu erkennen.

Methoden auf Protein- und Fettsäure-Basis. Zur Identifikation der Tierart wurden in den Anfängen vor allem spezifische Markerproteine (Enzyme, Myoglobin, etc.) genutzt, die aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit in unterschiedlichen Matrices (Stärke, Agarose, Polyacrylamid) entweder entsprechend des Molekulargewichts oder des isoelektrischen Punktes (isoelektrische Fokussierung – IEF) elektrophoretisch getrennt und tierartspezifisch zugeordnet werden können (COWIE, 1968; HOFMANN, 1986, HOFMANN und BLÜCHEL, 1986). Die Nachweisgrenzen der elektrophoretischen Verfahren liegen in Abhängigkeit von der Anfärbung der Proteinbanden zwischen 0,1 und 1 %.

Immunologische Techniken, welche ebenfalls spezifische Zielproteine für die Tierartidentifikation verwenden, sind das 'Western Blotting' (SCHWÄGELE, 2001) und eine spezifische Form des Enzym Immuno Assays (EIA), der so genannte 'enzyme linked immuno sorbent assay' (ELISA) (SCHWÄGELE, 2001) auf festen Oberflächen (Mikrotiterplatten). Die Funktionsweise des ELISA-Tests wird in Abbildung 1 beschrieben, wobei ein qualitativer Nachweis der Tierart ab 1 % Schweinefleisch, 2 % Geflügel- oder Rindfleisch und 5 % Schaffleisch möglich ist.

Auch mit Hilfe der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) ist der Nachweis der Tierart unter Verwendung spezifischer Markerproteine möglich, jedoch hat sich diese Methodik gegenüber den elektrophoretischen und immunologischen Verfahren nur wenig bewährt.

Als weitere Zielsubstanzen für die Identifikation der Tierart können die Relationen zwischen gesättigten, einfach und mehrfach ungesättigten Fettsäuren dienen, deren Zusammensetzung mittels Gaschromatographie (GC) oder durch Kopplung von GC und Massenspektrometrie (MS) nachgewiesen werden kann. Die Erfahrung zeigt jedoch, dass das genannte Verfahren mit großen Schwankungen behaftet ist, so dass bei Vorliegen von nur

einer Tierart bedingt verlässliche Aussagen getroffen werden können (HONIKEL *et al.*, 2002) und die Methodik bei Gemischen gänzlich versagt.



Abb. 1: Funktionsweise des ELISA-Tests

Methoden auf DNA-Basis. In den letzten fünfzehn Jahren haben in der Lebensmittelanalytik neben immunochemischen Verfahren in besonderer Weise Methoden auf DNA-Basis stark an Bedeutung gewonnen. Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) (MULLIS and FALOONA, 1987) stellt in diesem Zusammenhang die Schlüsseltechnologie dar und wird vor allem auch zum Nachweis (qualitativ) und zur Bestimmung (quantitativ) von Tierarten in Lebensmitteln eingesetzt.

Die PCR ist ein sehr viel sensitiveres Verfahren zum Nachweis von Tierarten in Lebensmitteln als diejenigen, welche sich Proteine sowie Bestandteile des tierischen Fettes als nachzuweisende Zielsubstanzen zunutze machen. Während bei letzteren Analyseverfahren entsprechende

„Marker“ isoliert und mittels spezifischer Methoden direkt nachgewiesen werden, besteht bei der PCR die Möglichkeit, mit Geringstmengen an zu analysierender Substanz zu arbeiten.

Nach Isolation der Ziel-DNA wird diese unter Anwendung der PCR amplifiziert (Abb. 2). Wenn keine artspezifischen Primer eingesetzt wurden, sondern so genannte Universalprimer, muss das PCR-Produkt anschließend mittels verschiedener Verfahren, wie z. B. RFLP (Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus-Analyse), SSCP (Einzelstrangkonnformations-Polymorphismus-Analyse), 'Southern Blotting' (Hybridisierung) oder Sequenzierung, näher charakterisiert werden. Letztgenannte analytische Methoden werden mit Ausnahme der Sequenzierung in Kombination mit einfacher elektrophoretischer Darstellung der resultierenden DNA-Fragmente zur qualitativen PCR benutzt. Die Nachweisgrenze von Tierarten liegt je nach Art der PCR-Methode bei $\leq 0,1\%$ (SCHWÄGELE, 2003).

Um mit der PCR sichere und reproduzierbare Ergebnisse erzielen zu können, müssen folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

Die für die PCR notwendige DNA muss in gleich bleibend hoher Ausbeute und Qualität aus den verschiedenen zu analysierenden Matrices isolierbar sein (BINKE *et al.*, 2003b). Mit Qualität ist dabei der Fragmentierungsgrad der DNA gemeint, denn durch den Einfluss der Verarbeitung (Scherkräfte, pH-Wert, Hitzebehandlung, etc.) und die Methode der Isolation wird die resultierende DNA unterschiedlich stark fragmentiert vorliegen. Überwiegen sehr kurze DNA-Stücke (< 100 Basenpaare), so kann dadurch die PCR beeinträchtigt werden, sofern die Ziel-DNA für das Amplifikat mehr als 150 Basenpaare enthalten sollte.

Die für die PCR isolierte DNA-Menge wird im Wesentlichen auch davon beeinflusst, ob die Zielsequenzen zur Tierartidentifikation aus der genomischen (Zellkern) oder Zellorganellen- (Mitochondrien-) DNA stammen (SCHWÄGELE, 2003). Die An-

zahl der Mitochondrien in tierischen Zellen schwankt z.B. sehr stark in Abhängigkeit von Tierart und Gewebe. Im Fettgewebe ist im Gegensatz zu Fleisch (Muskelgewebe) in der Regel nur wenig (ca. 30 %

DNA enthalten. Innereien wie Leber und Herz enthalten 10- bis 25-mal soviel DNA (aus Mitochondrien und Zellkern stammend) wie Fleisch (BINKE *et al.*, 2003a).

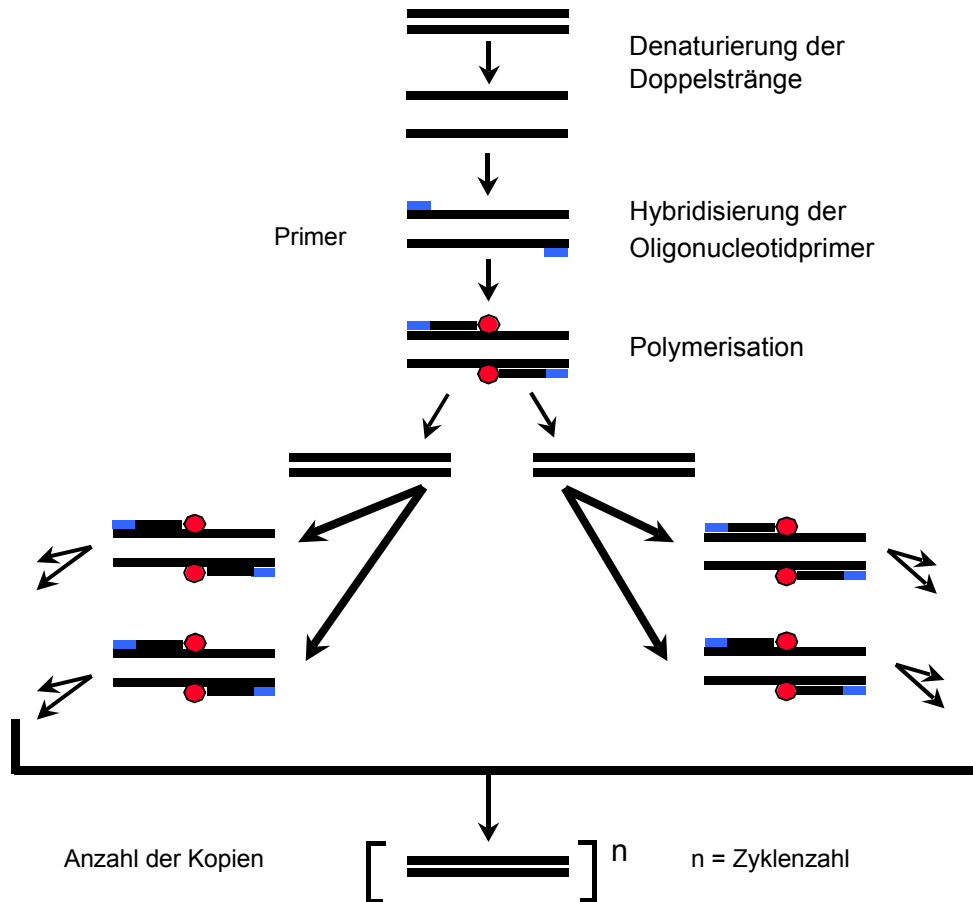


Abb. 2: Schema der Polymerase-Kettenreaktion

Für das Ergebnis der semiquantitativen Tierartbestimmung unter Einsatz der Real-time PCR spielt insbesondere die PCR-Effizienz (BINKE *et al.*, 2004) eine wichtige Rolle. Aus den verschiedenen Produktmatrices können zusammen mit der DNA unterschiedliche niedermolekulare Substanzen mitextrahiert werden, welche die PCR hemmen oder auch aktivieren können, was letztendlich zu unterschiedlichen Ausbeuten mit Blick auf das PCR-Produkt führen kann. Gerade auch Bestandteile der verwendeten Gewürze können hier eine Rolle spielen. Die PCR-Effizienz wird des Weiteren von der Qualität der verwendeten DNA-Polymerasen, sonstiger verwendeter Biochemikalien, die für die

PCR eingesetzten Thermocycler und die dort eingestellten Programme (Zeit, Temperatur, Zyklusanzahl) beeinflusst.

Mittels Real-time PCR ist eine absolute Mengenangabe einer Zutat, z.B. einer Tierart in einer Konserve, nicht möglich. Die absolute Zahl intakter Genkopien im Gewebe ist nicht genau bestimmbar, sondern es kann nur die Kopienzahl in der zur PCR eingesetzten DNA exakt gemessen werden. Aus oben genannten Gründen ist es deshalb nicht einfach, beim Versuch der Quantifizierung von Tierarten mittels PCR verlässliche und reproduzierbare Ergebnisse in Lebensmitteln zu bekommen.

Zur eindeutigen Identifikation der Tierart und damit zum Nachweis der Echtheit eines deklarierten Fleischerzeugnisses bedarf es verlässlicher PCR-Systeme wie z. B. im Falle von Ziege (ALTMANN *et al.*, 2004). Unter Verwendung eines artspezifischen Primersystems, das in der 5'-flankierenden Region des single-copy Gens *beta casein* bindet, ergibt unter 12 verarbeitungsrelevanten Tierarten ausschließlich Ziegen-DNA mittels PCR ein Amplifikationsprodukt. Weiterhin zeigt sich, dass durch das genannte Primer-Paar Ziegenfleisch und Ziegenmilch in kommerziell erworbenen, prozessierten und verschiedenen hitzebehandelten Produkten zuverlässig detektiert werden kann.

Authentifizierung, geographische Herkunft und Aufklärung von Betrugsfällen

Zur Authentifizierung und Aufklärung von Verfälschungen im Fleischbereich können im Hinblick auf die Identifikation der Tierart und zum Nachweis von bestimmten Varietäten die im vorhergehenden Punkt erwähnten elektrophoretischen, chromatographischen und die molekularbiologischen Methoden, welche auf Protein- und DNA-Basis arbeiten, zur Anwendung kommen. Dabei soll abgesichert werden, ob ausgewiesene lokale oder regionale Fleischspezialitäten tatsächlich aus dem deklarierten Rohstoff hergestellt wurden (z. B. Schwäbisch Hällisches Schweinefleisch aus entsprechenden Kreuzungen mit Chinesischen Maskenschweinen, Jamon Iberico aus ausschließlich iberischen Schweinen, gefüttert mit Eicheln der iberischen Steineiche, etc.).

Dies dient zur Rückverfolgbarkeit und Absicherung von (1) geschützten Ursprungsbezeichnungen (g.U.; englisch: PDO – Protected Designation of Origin), welche besagen, dass Erzeugung, Verarbeitung und Herstellung eines Produktes in einem bestimmten geographischen Gebiet nach einem anerkannten und festgelegten Verfahren erfolgen müssen, (2) geschützten geographischen Angaben (g.g.A.; englisch: PGI – Protected Geographical Indication), wobei eine Verbindung zwischen mindestens einer der Produktionsstufen, der Erzeugung, Verarbeitung oder Her-

stellung und dem Herkunftsgebiet besteht oder es sich um ein Erzeugnis mit besonderem Renommee handelt. Des Weiteren existiert in der Europäischen Union die (3) Bescheinigung besonderer Merkmale (B.b.M.; englisch: CSC – Certificate of Specific Character), welche eine überprüfbare gemeinschaftliche Bescheinigung darüber ist, dass ein Lebensmittel eine Reihe besonderer Merkmale aufweist, durch die es sich von anderen gleichartigen Lebensmitteln deutlich unterscheidet.

Authentifizierung durch charakteristische Isotopenverhältnisse mittels Kernresonanz-(NMR) und Massenspektroskopie (MS). Authentifizierungsstrategien, die sich verschiedener Isotope (^2H , ^{13}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{34}S und ^{87}Sr) in Verbindung mit schnellen Messverfahren bedienen, stellen mit Blick auf untereinander im Zusammenhang stehende Faktoren, wie importierte Futtermittel, Herkunft tierischer Rohstoffe und den stoffwechselbedingten Umsatz bestimmter Substanzen, eine neue analytische Herausforderung dar.

Die Analyse auf Basis von stabilen Isotopen ist ein hervorragendes Werkzeug zur Verfolgung der Herkunft und eignet sich gerade im Bereich von Futterpflanzen, da das Verhältnis $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ verlässliche Auskunft hinsichtlich des primären photosynthetischen Metabolismus gibt (O'LEARY, 1981). Die Verhältnisse der stabilen Isotope des Sauerstoffs ($^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$) und des Wasserstoffs ($^2\text{H}/^1\text{H}$) sind gute Indikatoren der vorherrschenden Umgebungsbedingungen (ZIEGLER *et al.*, 1976) und lassen unter Einbeziehung der Futterpflanzen auch Rückschlüsse über die Herkunft von tierischem Material zu.

Die beiden hauptsächlichen Techniken, welche in der Bestimmung der Isotopenverhältnisse von Naturprodukten eingesetzt werden, sind die Isotopen-Verhältnis-Massen-Spektroskopie (Isotope-Ratio-Mass-Spectrometry – IRMS) und die so genannte „Stellungsspezifische durch natürliche Isotopenverhältnisse bestimmte Kernresonanzspektroskopie – SNIF“. Mit Blick auf das Verhältnis vorliegender stabiler Wasserstoff-Isotope hat NMR gegenüber MS den deutlichen Vorteil, dass mit-

tels SNIF-NMR der Gehalt an Deuterium (^2H) genau quantifiziert werden kann, während im Falle von IRMS immer nur die Mittelwerte an ^2H in einer chemischen Verbindung angegeben werden können. Aus diesem Grunde ist SNIF-NMR auch von der EU als offizielle Methode zur Authentifizierung von Weinen akzeptiert worden (Off. J. EUR COMMUNITY, 1990). Der Einsatz dieser Methoden zur Rückverfolgbarkeit im Fleischbereich ist genauso wie im Falle von Milch dadurch erschwert, dass in der Natur physikalische und biologische Prozesse eine Verschiebung der elementaren Isotopenverhältnisse zwischen unterschiedlichen Regionen bedingen, die sich über Futter und Trinkwasser in tierischen Lebensmitteln widerspiegelt. Da Fleisch z.T. auch auf Futtermitteln aus anderen als der angestammten Region basiert, ist der Nachweis jedoch schwieriger als bei nur pflanzlichen Produkten.

Die Bestätigung bzw. der Ausschluss einer bestimmten deklarierten Herkunft anhand authentischer Vergleichsproben kann manchmal schon mit Hilfe eines Elements gelingen. So kann das im Fleisch oder Fleischerzeugnis enthaltene Wasser ein charakteristisches Sauerstoff-Isotopenverhältnis aufzeigen. Hinsichtlich der Sauerstoff-Signatur gibt es aber auch weit entfernte Regionen mit identischen Merkmalen, weshalb für Fleisch und daraus hergestellte Produkte meist eine Multi-element-Isotopenanalyse erforderlich ist.

Spezifische Spurenelement-Signaturen können gerade auch im Fleischbereich Hinweise auf die geographische Herkunft bestimmter Erzeugnisse geben, weil lebende Organismen in ihrem Gewebe Elemente anreichern, die aus ihrem Lebensraum stammen, z. B. aus Wasser, Luft und Futtermittel. Unterschiede in der Isotopenverteilung dieser Spurenelemente im tierischen Gewebe ergeben verlässliche Signaturen, die auf den geographischen Ursprung hindeuten. Als eine der am weitesten entwickelten Techniken ist in diesem Zusammenhang die Massenspektroskopie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS: Inductively-Coupled-Plasma Mass Spectrometry) zu nennen. Weil je-

des Spurenelement mindestens ein Isotop aufweist, dessen Masse bei keinem natürlichen Isotop eines anderen Elements auftritt, ist die Masse eine charakteristische Eigenschaft, was sowohl zum qualitativen als auch – unter bestimmten Voraussetzungen – zum quantitativen Nachweis genutzt werden kann.

Andere geographisch bedingte Eigenschaften von Lebensmitteln. Der geographische Ursprung eines Lebensmittels kann seine Zusammensetzung beeinflussen und mit Risiken verbunden sein, die dem entsprechenden Produkt direkt anhaften. Geographische Effekte kommen durch Unterschiede hinsichtlich der geologischen Herkunft der Böden, dem pH-Wert des Bodens, durch von Menschen beeinflusste Verunreinigungen, atmosphärische und klimatische Unterschiede sowie Wechselwirkungen zwischen den Spurenelementen zustande. Das Risiko von Zoonosen kann ebenfalls beträchtlich von einem Land zum anderen schwanken (BSE-Risiko in UK >> USA).

Aus reiner Gewinnsucht werden oftmals auch billige Rohmaterialien und Zuätze in betrügerischer Absicht in Lebensmitteln verarbeitet. GC-MS und HPLC-MS sind in dieser Hinsicht erfolgreich angewandt worden, um organische Kontaminanten (Dioxine, PCB, etc.), die aus der Umwelt und aus Futtermitteln auf verschiedene Lebensmittel übertragen wurden, zu detektieren. Diese geographisch bedingten unterschiedlichen Kontaminationen sind von der EU veröffentlicht worden (EUROPEAN COMMISSION, 2000).

Chemische Zusammensetzung von Fleisch und Fleischerzeugnissen

Die chemische Zusammensetzung von Fleisch und Fleischerzeugnissen kann nasschemisch durch Vollanalyse unter Bestimmung des Gehalts an Protein, Fett, Wasser und Mineralstoffen ermittelt werden. Da die nasschemische Methode sehr zeitaufwändig ist, verwendet man heutzutage vorzugsweise schnelle physikalische Messverfahren, die zuverlässige Ergebnisse im Zeitraum von einigen Sekunden bis Minuten ermöglichen.

Sowohl die Nah- (NIR) als auch Mittel-Infrarot- (MIR) Spektroskopie kann dazu benutzt werden, die Hauptkomponenten von Lebens- und Futtermitteln einschließlich Mineralstoffen und Vitaminen zu analysieren.

Der gesamte Infrarotbereich erstreckt sich im Wellenlängenbereich (λ) von 0,78-300 μm . Die benutzten Wellenlängenbereiche bewegen sich im Falle von NIR zwischen 0,78 und 3,0 μm (Wellenzahl ν^* 12820-3333 cm^{-1}) und bei MIR zwischen 3,0 und 30 μm (Wellenzahl ν^* 3333-333 cm^{-1}).

ISAKSSON und HILDRUM (1991) fanden, dass es anhand der NIR-Spektroskopie möglich ist, die Zusammensetzung von rohem Fleisch hinsichtlich des Gehaltes an Fett, Protein und Wasser zu ermitteln, wobei es jedoch weitaus schwieriger war, die Gehalte an Kohlenhydraten zu bestimmen. GONZALES-MARTIN *et al.* (2002) wendeten die NIR-Spektroskopie erfolgreich für die Bestimmung der Gehalte von Fe, Ca, Na und K in spanischem Schweinefleisch an, während PIRES *et al.* (2001) die Möglichkeiten der NIR-Spektroskopie zum Messen der Vitaminkonzentrationen im Geflügelfutter demonstrierten. Gemäß den Untersuchungen von COZZOLINO *et al.* (2002) ist es unter Anwendung der NIR-Reflexionsspektroskopie weiterhin möglich, Rindfleisch im Hinblick auf die während der Produktion angewendeten Fütterungssysteme zu differenzieren. ALJOWDER *et al.* (2002) hat die MIR-Spektroskopie mit Erfolg zur Unterscheidung zwischen reinem Rindfleisch und solchem mit Zusätzen von Schlachtnebenprodukten bis zu 20 % (Herz, Niere, Leber, Kutteln, etc.) in erhitztem Zustand genutzt und ist damit in der Lage, betrügerische Verfälschungen nachzuweisen.

Die niederauflösende ^1H Kernresonanzspektroskopie (LR ^1H -NMR) mit Arbeitsfrequenzen zwischen 5 und 30 MHz bietet ebenfalls die Möglichkeit, die Zusammensetzung verschiedener Rohstoffe (KIM *et al.*, 1999) im Hinblick auf Protein, Fett, Kohlenhydrate und Wasser zu untersuchen, muss jedoch in spezieller Weise

bei Fleisch und Fleischerzeugnissen noch zur Anwendung gebracht werden.

Rückverfolgbarkeit des Produktionsprozesses und der Lagerung bei Fleisch und Fleischerzeugnissen

Zur Rückverfolgbarkeit des Produktionsprozesses bei Fleisch und Fleischerzeugnissen, um letztendlich die „Geschichte des Lebensmittels“ hinsichtlich seiner Verarbeitung und Veränderungen während der Lagerung feststellen zu können, lassen sich die verschiedensten Technologien (Methoden auf DNA-Basis; Elektrophorese, einschließlich Kapillarelektrophorese; immunologische Verfahren; HPLC mit HPLC-MS; Methoden auf Lipid-Basis unter Verwendung von GC, MS, GC-MS, GC-GC-MS; IR-Spektroskopie und NMR; Elektronenmikroskopie sowie multivariate Analyse zur Charakterisierung von Lebensmitteln) zur Anwendung bringen. Bei der Rückverfolgbarkeit ist eines der hauptsächlichen Probleme die Quantifizierung des resultierenden Mischungsgrads, ausgehend von gegebenen Mischungen an Rohmaterialien. Um sich ergebende Mischungsgrade nachzuvollziehen, können so genannte 'Tracer' mit unterschiedlichen Eigenschaften eingesetzt werden. So ist es z. B. möglich, Enzymaktivitäten zu detektieren oder 'Proteomics' (Proteinmuster) zu analysieren, die Hinweise auf den Erhitzungsgrad oder die Art der Lagerung und die Lagerdauer geben. Die 'Tracer' können dabei bereits endogen vorhanden sein oder dem Rohmaterial zugefügt werden, was letztendlich die Detektion erleichtert. Was jedoch die Wahl der exogenen 'Tracer' angeht, muss genau darauf geachtet werden, dass diese keine Gefahr für die Endverbraucher darstellen und mit den gesetzlichen Bestimmungen übereinkommen. Eine Salami nach „Ungarischer Art“ enthält als fermentierte Wurst endogene 'Tracer' wie z. B. Produkte des Abbaus von Lipiden, Milchsäure oder flüchtige Substanzen, die während der Reifung entstehen.

Darüber hinaus ist es notwendig, ganzheitliche Analysemethoden zu entwickeln,

die alle in Fleisch und Fleischerzeugnissen enthaltenen Verbindungen (Metaboliten und Proteine) erfassen. Die durch ganzheitliche Verfahren wie GC-MS, LC-MS und NMR erhaltenen Metabolitenprofile der einzelnen Produkte können mit multivariaten statistischen Systemen ausgewertet werden. Mit Hilfe der Bioinformatik erhaltener Modelle können so Lebensmittel näher charakterisiert und gleichzeitig Rückschlüsse auf die Art der Verarbeitung gezogen werden.

Dieselbe Strategie kann hinsichtlich der Proteine von Fleisch und Fleischerzeugnissen angewandt und entsprechende Werkzeuge für 'Proteomics' entwickelt werden. Anders als bei der DNA ist es anhand der Proteinanalyse möglich, die „Geschichte“ eines Lebensmittels nachzuvollziehen. So kann angenommen werden, dass der Verlust der Frische mit Veränderungen in den Proteinen und der Zunahme des allergenen Potentials von Lebensmitteln (HILGER *et al.*, 2004) einhergeht.

Für die Rückverfolgbarkeit des Produktionsprozesses und der Lagerung bei Fleisch und Fleischerzeugnissen ist es erstrebenswert, die vorgesehenen analytischen Methoden 'on-line' für die Kontrollen einsetzen zu können. Dazu bedarf es, wie auch zur Überwachung auf den anderen Stufen der Lebensmittelkette, einfacher, schneller und sehr empfindlicher Verfahren. Geeignet hierzu sind Biosensoren, die grundsätzlich aus zwei Komponenten aufgebaut sind, nämlich aus dem eigentlichen Sensor, einem Biomolekül, und der Signalübertragungseinheit. Die biomolekulare Komponente ist dabei entweder ein Antigen bzw. ein Antikörper oder ein Substrat bzw. Enzym, während die Signalübertragungseinheit die Veränderung in einer oder mehreren physicochemischen Eigenschaften des Biomoleküls überträgt. Solche Biosensoren sind vor allem auch im Bereich mikrobiologischer oder virologischer Überprüfungen bei Fleisch sowie Fleischerzeugnissen von erheblicher Bedeutung und zeichnen sich weiterhin dadurch aus, dass sie transportierbare Einheiten darstellen, die einen

schnellen Einsatz an beliebigen Orten in der Lebensmittelüberwachung ermöglichen.

'Tracking' Technologien

Das elektronische Datenmanagement (Automatic Identification and Data Capture – AIDC) spielt eine wichtige Rolle in der Verbesserung der operativen Effizienz und Genauigkeit der Handhabung von Informationen, gerade auch in der Rückverfolgbarkeit bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. Europäische Projekte wie 'Cristal' (DEBECKER, 2001) schlagen den Gebrauch von EAN (European Article Numbering Association) Codes vor, um die Rückverfolgbarkeit von Daten innerhalb der Industrie zu verbessern. Für die erfolgreiche Anwendung dieser Technologie ist eine relativ saubere Umgebung notwendig, die im Bereich der Landwirtschaft nicht immer gegeben ist.

Technologien wie Radio Frequency Identification (RFID) lösen dieses Problem durch die Benutzung von Radiosignalen anstelle der Strichcodes. Die wieder verwendbaren 'tags' der RFID können mit über 98 % erfolgreich gelesen werden, sind jedoch als Produktidentifikationssysteme gegenwärtig nicht sehr weit verbreitet und im Vergleich zu den reinen Strichcodes sehr teuer. Zweidimensionale Matrixcodes bieten im Vergleich zu Strichcodes zwar sehr viel mehr Information, sind aber weitaus schlechter zu lesen und weisen eine Erfolgsquote von nur ca. 90 % auf. Im Rahmen der elektronischen Systeme zur Rückverfolgbarkeit stellt EAN heutzutage ein anerkannt universell akzeptiertes Erkennungs- und Kommunikationssystem dar, das den globalen Kommerz und die Aufzeichnung und Wiedergabe von Informationen zwischen den einzelnen Partnern einer Versorgungskette wirksam erleichtert. Diese Technologien wurden bereits in der Rückverfolgbarkeit bei Fleisch eingesetzt und stellen ein robustes System für die meisten Elemente in der Kette bei Fleisch und Fleischerzeugnissen dar.

Erstellen von Computermodellen und Risikobewertung

Das Erstellen von Computermodellen kann als wirksames Werkzeug zur Abschätzung der Kontaminations- und Übertragungswege für pathogene Keime und Lebensmittelkontaminanten dienen und des Weiteren dazu benutzt werden, die Zuverlässigkeit und Genauigkeit eines Entscheidungsbaums zu bewerten, der sich aus einer Reihe von verschiedenen Testsystemen zusammensetzt. Viele epidemiologische Parameter sind durch Modellsysteme bewertet worden, wo direkte Messungen zumeist unmöglich waren (FERGUSON *et al.*, 1997). Modelle zur Risikobewertung können dazu verwandt werden, Risiken in der Lebensmittelkette zu handhaben und politische Entscheidungen zu treffen mit Blick auf die Sicherheit in der Kette vom Lebensmittel zurück zur landwirtschaftlichen Produktion. Hinsichtlich der Formulierung von Strategien zur Kontrolle von BSE und der Politik innerhalb der Europäischen Union sowie der Kalkulation von Risiken bei Verzehr von kontaminiertem Fleisch und Fleischerzeugnissen durch Menschen, waren Arbeiten von ANDERSON *et al.* (1996) wegweisend. Jedes System zur Rückverfolgbarkeit benötigt damit verbundene Modelle zur Risikobewertung, um die möglichen Gesundheitsrisiken für Mensch und Tier einschätzen zu können. Methodologien zur Risikobewertung werden zunehmend dazu verwandt, die Risiken für die menschliche Gesundheit quantitativ abzuschätzen, welche sich aus der Kette vom Lebensmittel zur landwirtschaftlichen Erzeugung ergeben.

Schlussfolgerung

Mit Verankerung der „Rückverfolgbarkeit von Lebensmitteln und Futtermitteln“ in Artikel 18 der Verordnung (EG) Nr. 178/2002 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 28. Januar 2002 zur „Festlegung der allgemeinen Grundsätze und Anforderungen des Lebensmittelrechts, zur Errichtung der Europäischen Behörde für Lebensmittelsicherheit und zur Festlegung von Verfahren zur

Lebensmittelsicherheit“ besteht auch für den Bereich Fleisch und Fleischerzeugnisse die Notwendigkeit, entsprechende Systeme zur Rückverfolgbarkeit zu entwickeln, die es erlauben, die Sicherheit von Lebensmitteln hinsichtlich ihrer Herkunft und der Art der Verarbeitung zum Schutze des Verbrauchers zu gewährleisten. Dies kann nicht nur ein Anliegen des Gesetzgebers sein, sondern aus Gründen der Produkthaftung muss es vielmehr im ureigensten Interesse der Erzeuger von Lebensmitteln und des Handels liegen, verlässliche Verfahren zu schaffen, die das hinreichend ermöglichen. Die Europäische Union fördert als Wegbereiter aus diesem Grunde im 6. Forschungsrahmenprogramm Projekte, die sich auf verschiedenen Ebenen mit dieser Thematik befassen.

Literatur

- AL-JOWDER, O., KEMSLEY, E.K., WILSON, R.H. (2002): Detection of adulteration in cooked meat products by Mid-Infrared Spectroscopy. *J. Agr. Food Chem.* 50 (6) 1325 – 1329.
- ALTMANN, K., BINKE, R., SCHWÄGELE, F. (2004): Qualitativer Nachweis von Ziege in Fleisch- und Milcherzeugnissen – Nachweis auf Basis des nukleären single-copy Gens *beta-casein*. *Fleischwirtschaft* 84 (2) 115 – 116.
- ANDERSON, R.M., DONNELLY, C.A., FERGUSON, N.M., WOOLHOUSE, M.E.J., WATT, C.J., UDY, H.J., MAWHINNEY, S., DUNSTAN, S.P., SOUTHWOOD, T.R.E., WILESMITH, J.W., RYAN, J.B.M., HOINVILLE, C.J., HILLERTON, J.E., AUSTIN, A.R., WELLS, G.A.H. (1996): Transmission dynamics and epidemiology of BSE in British cattle, *Nature*, 382, 779 – 788.
- BINKE, R., ALTMANN, K., FISCHER, K., MÜLLER, E., SCHWÄGELE, F. (2004): Semiquantitative Bestimmung von Ziegenewebe in Fleischerzeugnissen mittels PCR: Bestimmung auf Basis der nucleären single-copy Gene *beta-Casein* und *Myostatin*. *Mitteilungsblatt BAFF*, 43 (164) 155 – 161.

- BINKE, R., ALTMANN, K., SCHWÄGELE, F. (2003a): Influencing factors for the quantification of animal species in meat by means of PCR. *Innovations in Food Technology*, 21, 130.
- BINKE, R., EICHNER, R., ZÄH, M., SCHWÄGELE, F. (2003b): Entwicklung eines leistungsfähigen Extraktionssystems zur Isolierung von Nucleinsäure aus Fleisch und Fleischerzeugnissen für die PCR. *Archiv für Lebensmittelhygiene* 54, 52 – 55.
- COWIE, W. (1968): Identification of fish species by thin slab polyacrylamide gel electrophoresis. *J. Sci. Food Agric.* 19, 226 – 229.
- COZZOLINO, D., DE MATTOS, D., MARTINS, D.V. (2002): NIR reflectance spectroscopy for predicting composition and tracing system of production of beef muscle. *Animal Sci.*, 74, 477 – 484.
- DEBECKER, G. (2001): Cristal: A standard to support E-Commerce within the European agrochemical industry. *Pesticide Outlook* 12, 118 – 120.
- EUROPEAN COMMISSION (2000): Opinion of the Scientific Committee on animal nutrition on the dioxin contamination of feeding stuffs and their contribution to the contamination of food of animal origin. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scan/outcome_en.html.
- FERGUSON, N.M., DONNELLY, C.A., WOOLHOUSE, M.E.J., ANDERSON, R.M. (1997): Genetic interpretation of heightening risk of BSE in offspring of affected dams. *Proceedings of the Royal Society London B, Biological Sciences* 264 (1387) 1445 – 1455.
- GONZALES-MARTIN, I., GONZALES-PEREZ, C., HERNANDEZ-MENDEZ, J. (2002): Mineral analysis (Fe, Zn, Ca, Na, K) of fresh iberian pork loin by near infrared reflectance spectroscopy – Determination of Fe, Na and K with a remote fibre-optic reflectance probe. *Anal. Chim. Acta* 468 (2) 293 – 301.
- HILGER, C., THILL, L., GRIGIONI, F., LEHNERS, C., FALAGIANI, P., FERRARA, A., ROMANO, C., STEVENS, W., HENTGES, F. (2004): IgE antibodies of fish allergic patients cross-react with frog parvalbumin. *Allergy* 59 (6) 653 – 661.
- HOFMANN, K. (1986): Grundlegende Probleme bei der Identifizierung der Tierart von Muskelfleisch mit Hilfe elektrophoretischer Methoden. *Fleischwirtschaft* 66 (1), 91 – 98.
- HOFMANN, K., BLÜCHEL, E. (1986): Bestimmung der Tierart von rohem Muskelfleisch anhand der Myoglobinstreifenmuster im pH-Gradienten-Gel. *Fleischwirtschaft* 66, (1), 916 – 921.
- HONIKEL, K.O., GEMPEL, G., SCHWÄGELE, F. (2002): Tierartidentifikation auf Protein-, DNA-, und Fettsäure-Basis bei Fleisch, Fleischerzeugnissen und Tiermehl. *Mitteilungsblatt BAFF* 41, 156, 125 – 133.
- ISAKSSON, T., HILDRUM, K.I. (1991): Near infrared transmittance (NIT) analysis of meat products. *Proc. of 3rd Int. Conf. on Near Infrared Spectroscopy*. Brüssel.
- KIM, S.M., CHEN, P., McCarthy, M.J., ZION, B. (1999): Fruit internal quality evaluation using on-line magnetic resonance sensors. *J. Agric. Engineering Res.* 74, 193 – 301.
- MULLIS, K.B., FALOONA, F.A. (1987): Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase catalysed chain reaction. *Meth. Enzymol.* 255, 335 – 350.
- OFFICIAL JOURNAL OF THE EUROPEAN COMMUNITY (1990): 33L-272, 3 October 1990.
- O'LEARY, M. (1981): Carbon isotope fraction in plants. *Phytochemistry* 20, 553 – 567.
- SCHWÄGELE, F. (2001): Analytik bei Fleisch. Bewertung immunologischer und gentechnischer Methoden. *Fleischwirtschaft* 81 (2), 78 – 81.
- SCHWÄGELE, F. (2003): Noch Forschungsbedarf bei PCR. *Fleischwirtschaft* 83 (9), 78 – 79.
- ZIEGLER, H., OSMOND, C.B., STICHLER, W., TRIMBORN, P. (1976): Hydrogen discrimination in higher plants: Correlations with photosynthetic pathway and environment. *Planta* 128, 85 – 92.