

Der Matrixeinfluss bei der Kalibrierung ist nur bei den massenspektrometrischen Detektoren deutlich ausgeprägt, so dass hier die Matrixkalibrierung unerlässlich ist. Im Full-Scan-Modus können am MSD unbekannt Rückstände deutlich empfindlicher als am MS/MS identifiziert werden. Bekannterweise ist die Identifizierung mit den klassischen Detektoren nicht möglich, nur durch die Kombination von GC-Trennphasen und Detektoren kann die Aussagekraft des Nachweises verstärkt werden. Hinsichtlich des Zeitaufwandes ist nur die reine Laufzeit zu vergleichen, da die Vorbereitungszeit und die Datenauswertung (aufgrund der Software-Tools) vernachlässigbar sind. Selbst bei parallelen Messungen an den klassischen Detektoren (ECD, FPD und NPD) ist die Laufzeit um den Faktor 1,4 bis 2,0 länger.

Vorteilhafterweise kann bei den klassischen Detektoren, ebenso am MSD, von geübtem Laborpersonal ausgewertet werden, während am anspruchsvolleren MS/MS ein erfahrener Spezialist notwendig ist und die Quantifizierung über Standard-Addition empfohlen wird, um verlässliche Ergebnisse zu erhalten. Diese Studie unterstreicht die Notwendigkeit der sorgfältigen und kritischen Bewertung bei Rückstandsuntersuchungen, um korrekte Ergebnisse zu erzielen.

Literatur:

1. Amtliche Sammlung der Untersuchungsverfahren nach § 35 LMBG, Beuth-Verlag Berlin-Wien-Zürich, 1999.

Myelin Proteolipid Protein als neues Markerprotein zum Nachweis von ZNS-Kontaminationen in Fleisch und Fleischerzeugnissen

B. Sandmeier¹, C.-M. Becker², T. Dühorn³, M. Gareis³, M. Pischetsrieder¹

¹Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Universität Erlangen-Nürnberg

²Institut für Biochemie, Universität Erlangen-Nürnberg

³Bundforschungsanstalt für Ernährung und Lebensmittel, Kulmbach

Übertragbare spongiforme Enzephalopathien (TSE) wie Scrapie beim Schaf, BSE beim Rind oder auch die neue Variante der Creutzfeld-Jakob-Krankheit vCJD beim Menschen werden von pathogenen Prionen ausgelöst, und führen schrittweise zu einer vollständigen Zerstörung des Gehirns und schließlich zum Tod. Die Aufnahme solcher pathogener Prionen (Prpsc) mit

der Nahrung gilt als der Hauptübertragungsweg für TSE.

Gewebe, in denen Prpsc bei infizierten Tieren lokalisiert ist, also hauptsächlich Hirn und Rückenmark von Rindern und Schafen, sowie einige andere Gewebe werden als „spezifiziertes Risikomaterial“ (SRM) definiert. Um eine Ausbreitung der vCJD zu verhindern, ist SRM für die Herstellung von Lebensmitteln nicht zugelassen [1]. Außerdem entspricht die Verwendung von ZNS-Gewebe jeder Art für Fleischwaren nicht der allgemeinen Verkehrsauffassung. [2]

In dieser Arbeit wurde ein einfaches Verfahren zur selektiven Anreicherung des Markerproteins PLP im Probenmaterial, und eine darauf basierende hochsensitive immunochemische Nachweismethode für ZNS-Gewebe in Lebensmitteln entwickelt, um sicherzustellen, dass Fleischerzeugnisse nicht mit Risikomaterial kontaminiert sind.

Als Zielantigen dient das Proteolipid Lipophilin, oft auch als Myelin Proteolipidprotein (PLP) bezeichnet, das in großen Mengen und äußerst selektiv im ZNS enthalten ist. Es lässt sich aufgrund seiner Hydrophobizität leicht mit organischen Lösungsmitteln aus dem Probenmaterial extrahieren [3]. Der Lösungsmittel-extrakt kann nach Entfetten direkt für den Western Blot eingesetzt werden.

Mit dieser Methode können Kontaminationen von weniger als 0,03% ZNS-Gewebe in Fleisch nachgewiesen werden.

Versuche mit diversen anderen Geweben, z.B. Leber, Lunge, Niere oder Herz, die durchwegs keine positive Reaktion im Western Blot zeigten, bestätigen eine sehr hohe Selektivität des Assays. Auch in Proben von peripherem Nervengewebe konnte kein Lipophilin nachgewiesen werden. Falsch positive Ergebnisse bedingt durch andere Gewebearten sind deshalb nicht zu erwarten. Hingegen in Rückenmark und Rückenmarkshäuten, die als Risikomaterial eingestuft werden, wurde die Anwesenheit von Lipophilin eindeutig belegt.

Da Proteine des zentralen Nervensystems hochgradig konserviert sind, können mit der vorliegenden Methode Kontaminationen von Hirn- oder Rückenmarksgewebe fast aller Tierarten nachgewiesen werden.

Lagerung der Proben bei Tiefkühltemperatur hat nahezu keinen Einfluss auf die Nachweisbarkeit des Zielantigens, bei höheren Temperaturen (z.B. 5°C, Kühlschrank) nimmt die Intensität des Signals jedoch nach längerer Zeit ab.

Anhand von Erhitzungsversuchen konnte außerdem gezeigt werden, dass PLP hitzestabil ist, und auch nach 180 min bei 75°C oder 120 min bei 95°C noch nachweisbar bleibt. Aus diesem Grund ist

die vorliegende Methode auch geeignet, prozessierte Proben wie z.B. verschiedenen Wurstwaren auf ZNS-Kontaminationen zu untersuchen. Beispielsweise können in Brüh- und Rohwurst Beimischungen von weniger als 0,5% Hirn- oder Rückenmarksgewebe eindeutig nachgewiesen werden.

Literatur

1. VO (EG) Nr. 999/2001 Kapitel III
2. Deutsches Lebensmittelbuch: Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse
3. Folch J (1942) J. Biol. Chem. 146: 35

Isolierung und Charakterisierung von Polysacchariden aus *Chlorella vulgaris*

S. Stach, P. Mischnick
TU Braunschweig

Chlorella vulgaris ist eine einzellige, kugelförmige Grünalge, welche zur Klasse der *Chlorophyceae* gehört. Sie ist im Süßwasser zu Hause, wird aber auch in einem großen Glasröhrensystem in Klötze (Sachsen-Anhalt) seit 2000 produziert. Da die sprühgetrocknete Alge reich an Protein ist und alle essentiellen Aminosäuren enthält, wird sie häufig Lebensmitteln zugesetzt. Ihre Pigmente (Astaxanthin, β -Carotin) sind sehr wichtig für die Kosmetikindustrie, da sie günstig produziert werden können. Eine andere Eigenschaft ist die Fähigkeit Schwermetalle zu absorbieren. Die Bindungsstelle ist in der Zellwand lokalisiert, wo Carboxygruppen die Kationen komplexieren [1].

Ogawa et al. [2–3] isolierten bereits ein neutrales Polysaccharid, welches 3-O-Methylgalactose beinhaltet, und ein saures Trisaccharid (α -D-Glucopyranuronosyl-(1 \rightarrow 3)- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-rhamnopyranose) aus *Chlorella vulgaris* K22-Zellen. Auf Grundlage dieser Literatur haben wir Polysaccharide isoliert, indem wir ein Verfahren angewandt haben, welches Entfettung mit Toluol/Ethanol (2:1, v/v), Extraktion mit Wasser bei 85°C, Behandlung des Rückstands mit Natriumborhydrid in 4% KOH, Fällung mit Ethanol, Dialyse des Produkts, Verdauung mit Pronase E [4] und Größenausschlusschromatographie vorsieht. Zwei polymere Fraktionen wurden hierbei erhalten. Die Bausteinanalyse wurde nach der Alditolacetat-Methode [5] durchgeführt.

Die Anwesenheit von 3-O-Methylrhamnose und 3-O-Methylgalactose konnte bestätigt werden, während eine ebenfalls detektierte 2-O-Methylpentose oder ein 2-O-Methyldeoxyzucker oder eine 4-O-Methylhexose noch nicht von Ogawa et al. Beschrieben worden sind. Darüber hinaus fanden wir Aminozucker (GlcN, GalN), welche charakteristisch