Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 64 (1973)

Heft: 2

Artikel: Zur Frage des Nachweises von Extrakten und Würzmitteln der Suppenindustrie mittels Aminosäure- und Dipeptid-Bestimmungen

Autor: Sulser, H. / Schenk, P. / Büchi, W.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-982291

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Zur Frage des Nachweises von Extrakten und Würzmitteln der Suppenindustrie mittels Aminosäure- und Dipeptid-Bestimmungen

H. Sulser, P. Schenk und *W. Büchi*
Forschungsinstitut und Laboratorium der Qualitätskontrolle der Knorr Nährmittel AG
Zürich und Thayngen

Extrakte aus Muskelfleisch, Hefe, Knochen und Bindegewebe und hydrolysierte Pflanzenproteine sind stickstoffhaltige Substanzen, die von der Suppenindustrie als Rohstoffe verwendet werden. Sie verleihen den Produkten einen zumeist noch wenig differenzierten Basisgeschmack, auf dem sich die fertige Rezeptur aufbauen läßt. Für Erzeugnisse spezieller Geschmacksrichtung werden auch Geflügelfleisch-, Gemüse-, Pilz- und Gewürzextrakte, Sojasaucen, Fischwürzen u. a. m. eingesetzt. Zum Teil werden diese traditionellen Rohstoffe heute durch synthetische Präparate wie Aminosäure- oder Purinribonucleotid-Gemische oder mit Aromastoffen versehene Surrogate zurückgedrängt. Abgesehen von ihrem Würzcharakter werden den erwähnten Stoffen, besonders den tierischen Extrakten, wertvolle physiologische Eigenschaften zugeschrieben. In den meisten Ländern bestehen z. B. gesetzliche Mindestmengen-Vorschriften für Rindfleischextrakt bei kochfertigen Bouillonwürfeln und Fleischsuppen. In der Schweizerischen Lebensmittelverordnung wurde das die Suppen, Saucen und deren Rohstoffe behandelnde Kapitel kürzlich revidiert (1).

Da es sich bei diesen Rohstoffen in der Regel um kompliziert zusammengesetzte Gemische handelt, muß die analytische Bestimmung anhand besonders charakteristischer Komponenten erfolgen, die als Kenngrößen benutzt werden können (z. B. Kreatinin für Rindfleischextrakt). Diese indirekte Bestimmung hat den Nachteil, daß bei illegalen Manipulationen durch Zugabe der betreffenden Komponente die Analyse des fraglichen Rohstoffes oder die Unterscheidung des echten Produktes vom verfälschten erschwert oder unmöglich gemacht wird. Im Zuge des abnehmenden Angebots einer bestimmten Ware und entsprechender Preiserhöhungen können aufwendige Fälschungsverfahren, die früher unwirtschaftlich und nicht zu befürchten waren, plötzlich attraktiv erscheinen. Die Suche nach neuen, womöglich sicheren Methoden ist daher wichtig für die rohstoffverarbeitende Industrie und die amtliche Lebensmitteluntersuchung. Gemeinsames chemisches Merkmal der hier betrachteten Extrakte und Würzstoffe ist ihr Gehalt an Proteinabbauprodukten. In dieser Uebersicht soll auf den Nutzen von Aminosäure- und Dipeptidbestimmungen hingewiesen und dargelegt werden, wo die Grenzen dieser Methode für die analytische Praxis liegen.

Kreatininhaltige, tierische Extrakte

Die Fleischbasen Kreatin, Kreatinphosphat und Kreatinin, nach Konversion mit Säure als Gesamtkreatinin bestimmt, kommen in Rindfleischextrakt in recht konstanter Konzentration (ca. 6,5—8 %) vor. Kreatinin ist zu der wichtigsten analytischen Kenngröße für Rindfleischextrakt geworden und dessen Bestimmungsmethoden wurden bis in neueste Zeit bearbeitet und verbessert. Der Wert der Kreatininbestimmung wurde aber durch die Möglichkeit, andere kreatininhaltige Substanzen zu verwenden, in den letzten Jahren, als der Fleischextrakt knapp wurde, wiederholt in Frage gestellt.

Der im Vergleich zu Rindfleischextrakt preiswerte Extrakt aus Walfleisch war insbesondere in den Nachkriegsjahren eine begehrte Handelsware für die Suppenindustrie. Heute, wo der Bestand der Wale durch übermäßige Nutzung stark dezimiert ist und einzelne Arten sogar vom Aussterben bedroht sind, wurden die Fänge durch verschiedene Schutzbestimmungen eingeschränkt, so daß die Herstellung von Walextrakt stark zurückgegangen ist. Dementsprechend werden Walextrakte heute, wenn überhaupt, nur noch in kleinem Umfange verwendet. Walextrakt wird aus dem Muskelfleisch verschiedener Vertreter der Familie der Bartenwale gewonnen. Zu den Bartenwalen gehören u. a.: Blauwal (Balaenoptera musculus), Finnwal (B.physalus), Seiwal (B.borealis) und Buckelwal (Megaptera nodosa). Die Extrakte südamerikanischer Provenienz, die aus Walen des antarktischen Fanggebietes stammen und hauptsächlich aus Seiwal und Finnwal hergestellt werden, haben einen Kreatiningehalt von ca. 4,5—5 %.

Als einziger Vertreter der Familie der Zahnwale hat der Sperm- oder Pottwal (Physeter catodon) wegen seiner Größe im modernen Walfang eine wirtschaftliche Bedeutung. Als Rohstoff für die Nahrungsmittelindustrie kommt er jedoch weniger in Frage. Er ist der Hauptlieferant des Lebertrans, das wegen seines unangenehmen Geschmackes die Qualität des Fleisches herabsetzt. Den gleichen Nachteil weisen auch die daraus hergestellten Extrakte auf. Wegen seines hohen Kreatiningehaltes (ca. 9—10 %) ist jedoch der Spermwal-Fleischextrakt als möglicher Ersatz für Rindfleischextrakt in letzter Zeit vermehrt in den Vordergrund getreten. Da auch die Desodorierungstechnik Fortschritte zu verzeichnen hat, muß damit gerechnet werden, daß Rindfleischextrakt teilweise oder gänzlich durch Spermwal-Extrakt ersetzt werden kann.

Schaffleischextrakt wird nur in kleiner Menge kommerziell hergestellt. Australische Extrakte fanden wegen ihres Hammelgeschmackes am europäischen Markt keine Abnehmer. Er spielte als Ersatz für Rindfleischextrakt bisher keine Rolle. Sein Kreatiningehalt ist dem des Rindfleischextrakts vergleichbar.

Hühner- und Geflügelfleischextrakte sind bis heute keine Handelsprodukte. Vielfach wird der eingedickte Sud, der beim Kochen der Hühner anfällt, für die Fabrikation von Hühnerbouillon weiter verwendet. Ein solcher Extrakt darf aber nicht unter den Begriff «Fleischextrakt» im üblichen Sinne gestellt werden, da Fett und gerinnbares Eiweiß nicht abgeschieden sind. Geflügelfleischextrakt enthält zwischen 4 und 6 % Kreatinin. In den meisten Ländern gelten aber für Hühnerbouillon und Geflügelsuppen keine Kreatininvorschriften.

Gehalt an Dipeptiden und Aminosäuren

Alle Extrakte aus dem Fleisch von Warmblütern enthalten die β-Alanylhistidin-Dipeptide Carnosin und Anserin, deren Vorkommen auf den Skelettmuskel der Wirbeltiere beschränkt zu sein scheint (2). Bei der üblichen Proteinhydrolyse entsteht aus Carnosin Histidin, aus Anserin 1-Methylhistidin und aus beiden Dipeptiden das ihnen gemeinsame β-Alanin. Die meisten Untersuchungen liegen über Rindfleischextrakt vor. Erste Angaben lieferten die Papierchromatographie (2a, 3, 4, 5), genauere Daten die Remissionsspektrometrie der DNP-Derivate (6), und die Ionenaustauscherchromatographie (7, 8). Auch die Gaschromatographie (9, 10, 11) und die Dünnschichtchromatographie (12) zur Trennung von Dipeptiden und β-Alanin wurde benutzt. Bei den meisten, früher im Handel befindlichen Walfleischextrakten handelte es sich um Extraktgemische aus verschiedenen Walarten mit meist nicht genau bekannten Anteilen. Sie enthalten neben Carnosin und Anserin regelmäßig Balenin (β-Alanyl-3-methylhistidin) als spezifische Komponente, die bis jetzt nur in Walfleisch nachgewiesen wurde und in Walextrakten in relativ großer Menge vorkommt (13, 14, 15). Auch zur Bestimmung von Balenin und 3-Methylhistidin sind verschiedene Methoden angewandt worden (6, 7, 8). Tabelle 1 (a und b) gibt einen Ueberblick über die in Rind- und Walfleichextrakten anzutreffenden Gehalte an Dipeptiden und Dipeptid-Aminosäuren.

Angesichts der Schwierigkeiten der quantitativen Bestimmung von Dipeptiden und der Verschiedenheit der benutzten Methoden muß die Uebereinstimmung der von verschiedenen Autoren ermittelten Werte als befriedigend bezeichnet werden. Von allen Untersuchern wurden bei Serienanalysen Streubereiche angegeben, die größer als jene für Kreatinin sind. Diese auffälligen Konzentrationsschwankungen ergeben sich zum Teil vermutlich durch die Art der Herstellung (vgl. 16), zum Teil mögen auch native Unterschiede, bedingt durch den Zustand des Muskeln, das Alter, die Rasse der Tiere usw., vorliegen.

Weit spärlicher sind Angaben über Spermwal- und Schaffleischextrakte (6, 7, 8). Beim Spermwalextrakt wurden Konzentrationen für Balenin und 3-Methylhistidin von 0 bis zu gut bestimmbaren Mengen mitgeteilt (Tabelle 1c). Eine von uns untersuchte Einzelprobe, die der Charge einer Versuchsproduktion* entstammte und als repräsentativ für Spermwalextrakte bezeichnet wurde, enthielt keine Spur von Balenin oder 3-Methylhistidin. Es wäre möglich, daß die stark unterschiedlichen Gehalte an Balenin von Extraktbeimengungen anderer Walarten herrühren, doch lassen die wenigen Daten keinen sicheren Schluß zu. Im Vergleich zu Rind- und Walfleischextrakt scheint Spermwalextrakt etwa 2—10mal mehr Anserin bzw. 1-Methylhistidin zu enthalten. Sieht man vom unsicheren Baleningehalt ab, so gleicht das Dipeptidbild des Spermwalextrakts weitgehend dem des Rindfleischextrakts. Entsprechend ist auch der β-Alaningehalt als Maß für die Gesamtdipeptide dem des Rindfleischextrakts ähnlich.

* Die Probe wurde von der Norwegian Whaling Company, die Spermwalextrakt nicht regelmäßig herstellt, zur Verfügung gestellt.

Tab. 1 Dipeptide und Dipeptidaminosäuren (Mittelwerte und Streubereich) in Rind-, Wal-, Spermwal- und Schaffleischextrakten

Komponente	Konzentration in %, bezogen auf wasserhaltige Handelsware, bestimmt mit verschiedenen Methoden und an unterschiedlicher Probenzahl									
	Papierchromatographie (nach 4, 5)**		Gaschromatographie (nach 9, 11)		Ionenaustauscherchromatographie (nach 8)**		Ionenaustauscherchromatographie (nach 7)		Remissionsspektrometrie (nach 6)	
a) *Rindfleischextrakt:*			10 Proben		5 Proben		16 Proben		Probenzahl unbek.	
Carnosin	3,1*	3,3*	—		4,8	3,9—5,0	4,5	3,6—5,3	4,3	3,6—5,7
Anserin	0,6*	0,7*	—		0,5	0,4—0,6	***	***	0,6	0,4—1,0
Gesamtdipeptide	—		5,4	4,4—6,2	—		—		—	
Histidin } nach Hydrolyse	—		—		1,6*		4,0	3,3—4,7	—	
1-Meth. hist. } nach Hydrolyse	—		—		0,5*		0,6	0,4—0,8	—	
β-Alanin } nach Hydrolyse	—		—		3,4*		2,6	2,2—3,0	—	
b) *Walfleischextrakt:*					6 Proben		6 Proben		Probenzahl unbek.	
Carnosin	—		—		3,3	3,0—3,5	5,0	4,0—5,8	3,7	3,1—4,1
Anserin	—		—		0,3	0,2—0,4	***	***	—	
Balenin	—		—		17,2	15,4—17,9	20,7	18,0—22,8	17,3	13,9—19,5
Histidin } nach Hydrolyse	—		—		1,6*		3,2	2,8—3,9	—	
1-Meth. hist. } nach Hydrolyse	—		—		0,6*		0,2	0,1—0,2	—	
3-Meth. hist. } nach Hydrolyse	—		—		12,3*		14,8	14,1—15,9	—	
β-Alanin } nach Hydrolyse	—		—		13,0*		10,0	9,0—10,8	—	
c) *Spermwalfleischextrakt:*					5 Proben				Probenzahl unbek.	
Carnosin	—		—		3,1	2,5—3,8	4,5*		3,4	3,0—3,8
Anserin	—		—		1,5	1,3—1,7	1,6*		2,6	1,8—3,0
Balenin	—		—		2,0	0,3—4,0	0*		0,7	Spuren — 5,2
Histidin } nach Hydrolyse	—		—		1,3		3,0*		—	
1-Meth. hist. } nach Hydrolyse	—		—		1,0*		1,6*		—	
3-Meth. hist. } nach Hydrolyse	—		—		3,1*		0*		—	
β-Alanin } nach Hydrolyse	—		—		6,4*		3,1*		—	
d) *Schaffleischextrakt:*					2 Proben				Probenzahl unbek.	
Carnosin	—		—		2,0; 2,4			—	2,4	2,3—2,6
Anserin	—		—		1,8; 2,1			—	1,9	1,8—2,0
Histidin } nach Hydrolyse	—		—		0,5*			—	—	
1-Meth. Hist. } nach Hydrolyse	—		—		1,7*			—	—	
β-Alanin } nach Hydrolyse	—		—		2,8*			—	—	

* Einzelbestimmungen ** Originalwerte umgerechnet auf wasserhaltige Handelsware *** vorhanden, nicht quantitativ bestimmt

So wenig wie für Spermwalextrakt lassen sich für Schaffleischextrakt spezifische Merkmale hinsichtlich der Dipeptide angeben (Tabelle 1d). Bei Geflügelextrakt ist unseres Wissens nur die qualitative Zusammensetzung untersucht worden, wobei über eine unbekannte, mit Ninhydrin positiv reagierende Substanz berichtet wurde, die in anderen Extrakten nicht anwesend war (17). Nach eigenen unveröffentlichten Untersuchungen ist bei Hühnerextrakt der Gehalt an Anserin im Vergleich zu Rindfleischextrakt auffallend hoch. Die übrigen Aminosäuren kommen in freier Form in Extrakten nur in geringen Mengen vor. In Hydrolysaten zeigt die Gesamtaminosäure-Verteilung kaum ein Merkmal, das für analytische Zwecke genutzt werden könnte.

Identifizierungs- und Unterscheidungsmöglichkeiten aufgrund der Dipeptide und Dipeptidaminosäuren

Walfleischextrakt ist dank seinem Gehalt an Balenin oder 3-Methylhistidin sowohl in Fleischextrakten wie auch in konsumfertigen Produkten eindeutig identifizierbar. Dies bedeutet einen wesentlichen Fortschritt gegenüber früheren Verfahren, die auf dem Nachweis von Glykogen (vgl. 7) oder auf der mit Pauly-Reagenz durchgeführten Farbreaktion mit Histidin und Histidinderivaten (18) beruhten und besonders bei zusammengesetzten Produkten störanfällig waren. Die Bestimmung des Walextrakts mit Hilfe des Balenins oder 3-Methylhistidins kann wegen der geringen Konzentrationsunterschiede, die in Proben verschiedener Provenienz festgestellt wurden, auch quantitativ erfolgen, wobei in kompliziert zusammengesetzten Produkten ein etwa 10—20%iger Zusatz zu Rindfleischextrakt noch deutlich erkannt werden kann. Anstelle der exakten Bestimmung am Aminosäure-Analysator eignet sich auch die spektrophotometrische Auswertung der DNP-Derivate. Mittels Dünnschichtchromatographie auf Kieselgelplatten gelingt die Auftrennung aller DNP-Derivate (6), wogegen die papierchromatographische Methode nur die Abtrennung des DNP-Carnosins von den sich ähnlich verhaltenden DNP-Anserin und DNP-Balenin erlaubt (19). Die dabei erhaltenen Verhältniszahlen ergeben für Wal- und Rindfleischextrakt noch klar getrennte Bereiche, so daß die mengenmäßige Abschätzung der Extraktanteile auch bei unvollkommener Auftrennung der DNP-Derivate noch möglich erscheint. (Tabelle 2). Diese chromatographischen Methoden versagen jedoch bei stärkehaltigen, gebundenen Suppenerzeugnissen und ergeben auch unsichere Resultate, wenn ein

Tabelle 2. Verhältniszahlen von Carosin / Anserin + Balenin bei Rind- und Walfleischextrakt

Extrakt	Aufgrund der Extinktionswerte der DNP-Derivate (nach 19)	Aufgrund direkter Dipeptid-Bestimmung (nach 7)
Rind	2,9 —17,9	2,6 —10,2
Wal	0,12— 0,24	0,34— 0,71

gegenüber Carnosin großer Ueberschuß an Aminosäuren vorliegt. Wird die Anwesenheit von Walextrakt in einem Extraktgemisch nur qualitativ festgestellt, z. B. durch Dünnschichtchromatographie (20), so gibt das β-Alanin/Kreatinin-Verhältnis annäherungsweise das Rind-/Walfleischextrakt-Verhältnis wieder (Tabelle 3).

Tabelle 3. β-Alanin/Kreatinin-Verhältnis aufgrund von Mittelwerten, bei verschiedenen Anteilen an Rind- und Walfleischextrakt (nach 7)

Rind/Wal-Anteil	β-Alanin/Kreatinin-Verhältnis
100 / 0 %	0,35
95 / 5 %	0,40
90 / 10 %	0,46
80 / 20 %	0,59
70 / 30 %	0,73
60 / 40 %	0,87
50 / 50 %	1,03
40 / 60 %	1,20
30 / 70 %	1,39
20 / 80 %	1,60
10 / 90 %	1,83
0 / 100 %	2,08

Auch aufgrund des β-Alanin- und 3-Methylhistidin-Gehaltes lassen sich die Anteile an Rind- und Walfleischextrakt abschätzen. Dabei ergibt 3-Methylhistidin, multipliziert mit dem Faktor 2/3 den ungefähren Anteil an β-Alanin, das von Walextrakt stammt. Nach Abzug vom Gesamt-β-Alanin bleibt der von Rindfleischextrakt stammende β-Alanin-Anteil. Die Genauigkeit ist bei beiden Berechnungsarten nicht sehr gut und sollte nur für eine grobe Abschätzung benützt werden.

Prüfung des Rindfleischextrakts auf Echtheit und Fremdstoffzugaben

Das heute wohl wichtigste Problem in der Extraktanalytik betrifft die Fremdstoffzugaben bzw. die Verfälschung von Rindfleischextrakt. Da artspezifische Dipeptide oder Aminosäuren fehlen, sind Unterscheidungsmerkmale weniger offensichtlich. Es können lediglich Differenzen in den Konzentrationen der Dipeptide und Dipeptidaminosäuren herangezogen werden, deren Aussagewert aber durch die naturgegebenen Schwankungen eingeschränkt wird (siehe Tabelle 1). Je nach dem zu untersuchenden Fall vermag die Analyse der Dipeptide mehr oder weniger nützliche Hilfe zu leisten, was durch die folgenden Beispiele illustriert werden soll.

Aufgrund des β-Alanin/Kreatinin-Verhältnisses kann ein Zusatz an Fremdkreatinin nur innerhalb enger Grenzen eruiert werden. Bei Zugrundelegung der zweifachen Standardabweichung (5 % Irrtumswahrscheinlichkeit) ergibt sich nach

(7) für Rinfleischextrakt ein mittlerer β-Alanin/Kreatinin-Quotient von 0,347 ± 0,054, also ein Bereich von etwa 0,3 bis 0,4. Bei einem angenommenen natürlichen Gehalt von 7 % Kreatinin und 2,8 % β-Alanin in Fleischextrakt würde der Quotient 0,4 betragen. Um diesen Wert auf 0,3 herunterzubringen, könnte bis 2,3 % Kreatinin, also etwa 30 % der ursprünglichen Menge, künstlich zugesetzt werden, ohne daß dies sicher erkennbar wäre. Abgesehen davon ist β-Alanin eine relativ leicht erhältliche und billige Aminosäure und könnte zusammen mit Kreatinin zugesetzt werden, wobei die oben angestellte Rechnung hinfällig würde. Carnosin dürfte wegen seines Preises kaum zu Fälschungszwecken Verwendung finden. Die wie oben durchgeführte Rechnung, wobei anstelle des β-Alanin/Kreatinin-Quotienten das Verhältnis Gesamtdipeptid/Kreatinin oder Carnosin/Kreatinin benutzt wird, ändert aber nichts daran, daß nur massive Kreatininzusätze erkannt werden können.

Die Fälschung mit reinem, synthetischen Kreatinin kommt allerdings für Fleischextrakte als solche weniger in Betracht, da ein Kreatininzusatz mit irgendeinem extraktähnlichen Stoff kompensiert werden müßte, damit ein natürlich erscheinender Kreatiningehalt vorgetäuscht wird. Hefeextrakte, Gelatine oder eingedickte Würzen, die als solche Füllstoffe denkbar sind, können in manchen Fällen durch spezifischen Nachweis erkannt werden, so daß mit Kreatinin vorgenommene Fälschungen auf diesem Weg aufgedeckt werden dürften (siehe nächste Abschnitte). Sehr viel schwieriger und aussichtsloser wird allerdings der Fälschungsnachweis dann, wenn der Füllstoff ein tierischer, dipeptidhaltiger Extrakt von ähnlicher chemischer Zusammensetzung wie Rindfleischextrakt ist, z. B. Spermwal- oder Schaffleischextrakt. Deren Durchschnittskonzentrationen an Dipeptiden und β-Alanin liegen so nahe beieinander, daß die darauf gegründete Nachweismethode versagt und eine Fälschung schwer erkennbar ist, wenn nicht organoleptische Befunde dafür sprechen. Das Unvermögen der Analytik, in solchen Fällen klärend einzugreifen, wird vielleicht durch den Umstand etwas gemildert, daß der Ersatz von Rindfleischextrakt durch einen anderen Warmblüterextrakt zwar eine Täuschung des Konsumenten bedeutet und nach dem Gesetz nicht erlaubt ist, aber gegenüber der Zugabe von Reinkreatinin doch als weniger gravierende Verfälschung im physiologischen Sinne zu taxieren ist.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Untersuchungen verschiedener Autoren zum Ergebnis geführt haben, daß die Dipeptide, β-Alanin und die methylierten Histidine für Rindfleischextrakt nicht die nötige Artspezifität aufweisen und nicht in genügender Konzentrationskonstanz vorkommen, um als neue analytische Standards das Kreatinin zu ersetzen. Als zusätzliche Kriterien sind sie aber bei suspekten Proben ohne Zweifel eine wertvolle Hilfe für die weitere Abklärung der Art und des Grades der Fälschung. Es versteht sich von selbst, daß beim zusammengesetzten, für den Konsum bestimmten Produkt, das zum Beispiel 5 % Fleischextrakt enthält, die Unsicherheit in der Beurteilung noch größer wird. Die Kompliziertheit des Gemisches und die «Verdünnung» des Extraktes erhöhen die Unsicherheit, die auch bei geeigneten Anreicherungs- oder Aufbereitungsverfahren nicht völlig beseitigt werden kann.

Hefeextrakt

Hefeextrakte werden oft zur Erzeugung von Brühwürfeln verwendet. Sie werden in der Regel durch Autolyse von Saccharomyces- oder Torulahefen hergestellt; nur vereinzelt kommen auch Plasmolysate in den Handel. Sie enthalten kein Kreatinin; die Konzentration an Gesamtstickstoff beträgt üblicherweise etwa 6—9 %, wobei ein im Vergleich zu Rindfleischextrakt hoher Anteil, nämlich etwa die Hälfte auf Aminosäurestickstoff entfällt (21). Dementsprechend ist die Konzentration an freien Aminosäuren im allgemeinen höher als bei Fleischextrakten Hefeextrakte unterscheiden sich von anderen Extrakten durch ihren Gehalt an Vitamin B_1, Glutathion und Guanin (22, 23, 24), die jedoch nur in schonend durch Plasmolyse gewonnenen Extrakten in größerer Menge vorkommen.

Gehalt an γ-Aminobuttersäure

Im Hinblick auf Unterscheidungsmöglichkeiten scheint an der Aminosäurezusammensetzung des Hefeextrakts nur die Gegenwart von γ-Aminobuttersäure und Glutathion bemerkenswert zu sein. Letzteres kommt jedoch nicht regelmäßig und meist nur in Spuren vor und scheidet deshalb als analytisch brauchbare Komponente aus. γ-Aminobuttersäure wurde qualitativ (24, 25) und quantitativ (22) bestimmt. In einer Reihenuntersuchung an 9 verschiedenen Hefeautolysaten (26) zeigten sich große Konzentrationsunterschiede bei der als freie Aminosäure bestimmten γ-Aminobuttersäure, nämlich ein Mittelwert von 0,35 % bei einem Streubereich von 0,04—0,95 %.

Identifizierungsmöglichkeiten aufgrund der γ-Aminobuttersäure

γ-Aminobuttersäure kann durch enzymatische Decarboxylierung der Glutaminsäure entstehen und wird in vielen Vegetabilien gefunden, z. B. in Früchten, Nüssen, Kartoffeln, Tomaten, Leguminosen, Getreide (27). Auch das Auftreten der γ-Aminobuttersäure bei Fäulnis- oder Reifungsprozessen (z. B. Käse, Silagen) ist eine Folge der mikrobiellen Glutamatdecarboxylase. In Muskelfleischextrakten konnte die Verbindung nicht nachgewiesen werden (26). Die sehr unterschiedlichen Konzentrationen an γ-Aminobuttersäure machen deutlich, daß der Nachweis dieser Verbindung in einem Produkt lediglich einen qualitativen Hinweis auf das Vorhandensein von Hefeextrakt gestattet. Dabei müssen selbstverständlich andere Zutaten, die als mögliche Träger von γ-Aminobuttersäure in Frage kommen, ausgeschlossen werden können. Bei einem Hefeextrakt, der 0,3 % γ-Aminobuttersäure enthält, dürfte in einem Produkt mit etwa 5%iger Zugabe die untere Nachweisgrenze erreicht sein.

Gelatinehaltige Rohstoffe

Die Gelatine hat neben anderen eßbaren Gelierstoffen und Dickungsmitteln ihren Platz in der Lebensmittelindustrie nicht zuletzt wegen ihrer besonderen Geschmackseigenschaften behaupten können, die man etwa als «mouthfeeling» bezeichnet hat. Sulzen bestehen zu einem wesentlichen Teil aus Gelatine. Auszüge

von sehnigen Fleischpartien, Knochen, Geflügelabfällen und dgl., denen manchmal Gemüse und Kräuter beigegeben sind, werden im englischen Sprachgebrauch als «Soup stock» bezeichnet und hauptsächlich für die Fabrikation von Dosensuppen verwendet. Vom chemischen Standpunkt aus handelt es sich meist um schlecht definierte Rohstoffe, die je nach Zusammensetzung des Ausgangsmaterials wechselnde Mengen an Gelatine aufweisen.

Gehalt an Hydroxyprolin und Identifizierungsmöglichkeiten

Gelatine enthält als spezifische Bausteine δ-Hydroxylysin und γ-Hydroxyprolin. Die Bestimmung des letzteren wurde z. B. herangezogen für die Berechnung des Bindegewebegehaltes von Fleischwaren* (31, 32, 33). In verschiedenen Reingelatinen des Handels (12 Proben) ermittelten wir durch Ionenaustauscherchromatographie (26) und durch eine spektralphotometrische Methode (34) einen durchschnittlichen Gehalt an Hydroxyprolin von 13,5 % ± 0,5 %. Der sehr konstante Hydroxyprolin-Gehalt der Gelatine erlaubt somit sowohl qualitative wie auch quantitative Rückschlüsse auf den Gelatinegehalt eines Produktes.

Hydrolysierte Pflanzenproteine

Zur Herstellung von Suppenwürzen werden pflanzliche Eiweißträger aller Art, wie Weizenkleber, Erdnuß-, Sojamehl, Hefe mit Salzsäure hydrolysiert. Durch anschließende Neutralisation mit Natriumhydroxid oder Natriumcarbonat entsteht Kochsalz, das zur Abrundung des hauptsächlich durch die freien Aminosäuren und deren Reaktionsprodukte hervorgerufenen Geschmacks beiträgt. Je nach dem verwendeten Ausgangsmaterial variiert die chemische Zusammensetzung der Würzen beträchtlich. Im Gegensatz zu Fleisch- und Hefeextrakten liegt bei den Würzhydrolysaten der weitaus größte Teil des gesamten Stickstoffs in Form von Aminosäurestickstoff vor (21).

Gehalt an Lävulinsäure und Identifizierungsmöglichkeiten

In Probenmaterial, das zur Vorbereitung für die Aminosäureanalyse durch Salzsäurehydrolyse aufgeschlossen wird, können häufig unbekannte Verbindungen gefunden werden, die keiner bekannten Aminosäure zuzuordnen sind. Eine der am regelmäßigsten und in relativ großer Menge entstehenden Verbindungen ist die stickstoff-freie, jedoch Ninhydrin-positive γ-Ketovaleriansäure (Lävulinsäure), die unter der Einwirkung von starker Mineralsäure auf Kohlenhydrate entsteht (35). Auch andere Ketosäuren reagieren mit Ninhydrin-Reagenz zu ge-

* In neuester Zeit wurde gezeigt, daß Hydroxyprolin außer als Bestandteil des Bindegewebes auch in der pflanzlichen Zellwand vorkommt (28, 29). Hydroxylysin wurde als sehr spezifische Komponente zu etwa 1 % in Kollagen gefunden und läßt sich in Gelatine-Hydrolysaten nachweisen (30).

färbten Reaktionsprodukten, die Empfindlichkeit der Reaktion ist jedoch im Vergleich zu derjenigen der Aminosäuren meist viel geringer.

Lävulinsäure fanden wir als regelmäßigen Begleiter der Aminosäuren in Suppenwürzen. Auf deren Anwesenheit wurde schon im Zusammenhang mit der Kreatininbestimmung aufmerksam gemacht, da sie bei der Jaffé-Folin'schen Farbreaktion Fleischextrakt vortäuscht (36). Sie entsteht während des technischen Abbauprozesses aus den im Ausgangsmaterial anwesenden Kohlenhydraten Glucose und Stärke. Der Nachweis von Lävulinsäure deutet daher in Suppen und Bouillonprodukten mit großer Wahrscheinlichkeit auf die Anwesenheit von Stoffen, die der üblichen Säurehydrolyse unterworfen worden sind. Leider wird es kaum gelingen, diese Methode auch für quantitative Zwecke nutzbar zu machen, weil die Konzentration an Lävulinsäure von der Art und Menge der im Ausgangsmaterial vorhandenen Kohlenhydrate und von den Hydrolysebedingungen abhängig ist.

Zusammenfassung

Extrakte aus Muskelfleisch, Hefen, bindegewebehaltigen Materialien und Würzen werden für die industrielle Suppen- und Bouillonfabrikation verwendet. Es sind dies kompliziert zusammengesetzte Stoffe, zu deren analytischer Charakterisierung oder deren Nachweis in konsumfertigen Produkten in der Regel auf die Bestimmung einer bestimmten chemischen Komponente zurückgegriffen wird. Diese muß folgenden Bedingungen genügen:

1. Möglichste Spezifität für den Stoff, in dem die betreffende Komponente als Standardsubstanz dienen soll.
2. Sie muß in komplizierten Gemischen methodisch einwandfrei nachweisbar sein.
3. Für quantitative Untersuchungen muß sie in gut bestimmbarer Menge vorliegen und Konzentrationsschwankungen in verschiedenen Proben dürfen nicht zu groß sein.
4. Sie darf wegen Fälschungsgefahr nicht zu leicht und billig erhältlich sein.

Nur selten erfüllt eine solche für Analysenzwecke benutzte Komponente alle Bedingungen auf einmal. Es kann daher notwendig werden, daß die üblicherweise benutzten Nachweismethoden in manchen Fällen durch neue Methoden zu ergänzen sind, die jene im Idealfall ersetzen können.

In dieser Uebersicht werden aufgrund eigener Untersuchungsergebnisse und solcher aus der Literatur die analytischen Möglichkeiten besprochen, die sich aus der Bestimmung von Aminosäuren und Dipeptiden für die erwähnten Rohstoffe und Produkte ergeben.

Für die Kontrolle des Fleischextraktes liefert die Bestimmung der Dipeptide bei Fälschungsverdacht einen wertvollen Beitrag zur Abklärung des Sachverhalts. Diese Methode kann aber nicht gleichwertig neben die Kreatinin-Methode gestellt werden. Der Grund hiefür liegt nicht in Unzulänglichkeiten der Bestimmungstechnik, sondern in der mangelnden Spezifität der Dipeptide für Fleischextrakt und in den zu großen Konzentrationsschwankungen bei Extrakten verschiedener Herkunft.

Aehnliche Feststellungen gelten zum Teil auch für andere zur Suppenherstellung verwendeten Rohstoffe. So geben Aminosäureanalysen lediglich einen qualitativen und nicht

in jedem Fall gesicherten Hinweis auf die Anwesenheit von Hefeextrakt und Würzhydrolysaten in Suppenpräparaten. Die Bestimmung des Hydroxyprolins erlaubt hingegen eine genaue quantitative Ermittlung des Gelatinegehaltes. In manchen Fällen wird sich das analytische Feld durch Untersuchung anderer Inhaltsstoffe, wie z. B. Nucleotide und Purinverbindungen noch erweitern lassen (vgl. 22, 37).

Résumé

L'industrie alimentaire emploie pour la fabrication des potages et bouillons des extraits de tissus musculaires, des levures, des matériaux en tissus conjonctifs et des hydrolysats de protéines. Ces produits sont au point de vue constitution d'une grande complexité. En général pour les charactériser ou les déceler dans un produit fini l'analyse d'un constituant chimique spécifique est faite.

Ce constituant doit remplir les conditions suivantes:

1. Être aussi spécifique que possible dans le produit pour lequel il doit servir de substance de base.
2. Pouvoir être décelé sans défaillance dans un mélange compliqué.
3. Être présent en quantité suffisante sans trop de variation de concentration d'un échantillon à l'autre, en vue d'analyses quantitatives.
4. Être ni trop bon marché ni trop facile à se procurer pour éviter le danger de falsification.

Il est rare q'un constituant remplisse à la fois toutes ces conditions. De ce fait, dans certains cas, de nouvelles méthodes d'analyses complémentaires deviennent nécéssaires. Elles pourraient dans le cas idéal remplacer les méthodes traditionnelles.

L'article précédent est basé sur des publications et nos recherches. Il relate des possibilités d'analyses lors de la détermination des amino-acides et des dipeptides dans les matières premières et produits finis pré-cités.

Dans le cas du contrôle de l'extrait de viande la détermination des dipeptides donne de bonnes indications lors d'un soupçon de fraude. Cette méthode ne peut cependant pas remplacer à la méthode de la créatinine. La raison n'est pas la difficulté technique de l'analyse mais le manque de spécifité des dipeptides pour l'extrait de viande et la grande variation de concentration d'extraits de differentes origines.

Des constatations analogues sont en partie valables pour d'autres matières premières dans la fabrication des potages. C'est ainsi que les analyses d'aminoacides dans les potages donnent une indication qualitative mais non une assurance sur la présence d'extraits de levure et d'hydrolysats de protéines. La détermination de l'hydroxyproline par contre permet une analyse quantitative exacte sur la teneur en gelatine. Dans certains cas le spectre de l'analyse s'élargira sur d'autres constituants tels que nucléotides et les composés de la purine (22, 37).

Summary

Extracts from meat, yeast and connective tissue materials and hydrolysed vegetable proteins are used in the industrial manufacture of soups and bouillons. These are products of complicated composition and to analyze them, a definite chemical component is usually determined. This component must fulfill the following conditions:

1. Specific for the product.
2. Analyzable in complicated mixtures.
3. Present in proper amounts in the product, for quantitative determinations the content must not vary too much within different products.
4. It should not be easy and cheap to obtain for the purpose of falsification.

Seldom will a chemical component for analytical determinations fulfill all of the conditions at once. It therefore is possible that common analytical methods need be supplemented with other new methods, which in the ideal case, meet our list of conditions.

In this review, based on our results and reports from the literature, analytical methods are discussed concerning the determination of amino acids and dipeptides in the mentioned raw materials and products thereof.

The determination of dipeptides in meat extract is very useful when suspicion of falsification exists. This method cannot however replace the traditional creatinine-method. The reason for this does not lie in the difficulties of analytical determination, but more in the lack of specifity of dipeptides in meat extract and in the relative high variation in dipeptide concentration in meat extracts of different origin.

Similar observations are true for other raw materials used in soup manufacture. Thus amino acids can only qualitatively, and not even absolutely, verify that yeast extracts and protein hydrolysates are present in soups. The determination of hydroxyproline however, does allow the quantitative determination of gelatin. In many cases, the analytical possibilities can be improved through the analysis of other components, such as nucleotides and purines (22, 37).

Literatur

1. Eidg. Lebensmittelverordnung, Aenderung v. 30. 8. 72.
2. *Parker Ch. J.:* Anal. Chem. **38**, 1359 (1966).
2.a *Tempus P.* und *Högl O.:* Mitt. Geb. Lebensm. Unters. und -Hygiene **46**, 527 (1955).
3. *Wood T.:* J. Sci. Food Agric. **7**, 196 (1956).
4. *Wood T.* und *Bender A. E.:* Biochem. J. **67**, 366 (1957).
5. *Bender A. E.* et al.: J. Sci. Food Agric. **9**, 812 (1958).
6. *Baltes W.:* Zeitschr. Lebensm. Unters. und -Forschg. **145**, 221 (1971).
7. *Sulser H.* et al: Mitt. Geb. Lebensm. Unters. und -Hygiene **58**, 157 (1967).
8. *Baltes W.:* Lebensm. Unters. und Forschg. **135**, 319 (1967).
9. *Carisano A.* und *Carrà F.:* Industrià Conserve **38**, 28 (1963).
10. *Carisano A.* und *Carrà F.:* Biochem. J. **81**, 98 (1961).
11. *Carisano A.:* J. Chromatogr. **27**, 259 (1967).
12. *van Heeswijk P. J.* et al.: J. Chromatogr. **63**, 459 (1971).
13. *Pocchiari F.* et al.: Sci. Repts. Ist. Super. Sanità **2**, 188 (1962).
14. *Carisano A.:* J. Chromatogr. **13**, 83 (1964).
15. *Voogt P.* und *de Vries B.:* Paper 4th Intern. Symp. Chromatogr. et Electrophor., Sept. 1966, Brussels.
16. *Macy R. L.* et al.: J. Food Sci. **29**, 142 (1964).
17. *Crush K. G.:* J. Sci. Food Agric. **15**, 550 (1964).
18. *Großklaus D.:* Arch. Lebensm. Hyg. **10**, 242 (1959).
19. *Baltes W.:* Z. Lebensm. Unters. und -Forschg. **136**, 69 (1968).
20. *Dennis P. O.* und *Lorkin P. A.:* J. Chem. Soc., 4968 (1965).

21. *Schenk P.* und *Scherz R.:* Mitt. Geb. Lebensm. Unters. Hygiene **56**, 1 (1965).
22. *Baltes W.:* Z. Lebensm. Unters. und -Forschg. **145**, 149 (1971).
23. *Diller H.:* Z. Lebensm. Unters. und -Forschg. **83**, 206 (1942).
24. *Diller H.* und *Dittmeyer R.:* Z. Lebensm. Unters. und -Forschg. **111**, 214 (1959).
25. *Reed L.:* J. biol. Chem. **183**, 451 (1950).
26. *Sulser H.:* unveröffentl. Resultate.
27. *Greenstein J. P.* and *Winitz M.:* Chemistry of the Amino Acids Vol. 1, New York 1961.
28. *Lamport D. T. A.:* Adv. Botan. Res. **2**, 151 (1965).
29. *Lamport D. T. A.:* A. Rev. Plant Physiol. **21**, 235 (1970).
30. *Heathcote J. G.*: Biochem. J. **42**, 305 (1948).
31. *Günther H.:* Fleischwirtsch. **4**, 505 (1969).
32. *Berger H.* et al.: Z. Lebensm. Unters. und -Forschg. **139**, 201 (1969).
33. *Mack D.:* Deutsche Lebensm.-Rundsch. **67**, 262 (1971).
34. *Stegemann H.:* Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **311**, 41 (1958).
35. *Zacharias R. M.* und *Talley E. A.:* J. Chromatogr. **7**, 51 (1962).
36. *Staub M.:* Mitt. Geb. Lebensm. Unters. und Hygiene **35**, 47 (1944).
37. *Baltes W.:* Z. Lebensm. Unters. und -Forschg. **144**, 305 (1970).