

**Überprüfung von
ausgewählten Schnellmethoden
zur
Bestimmung
von Fleischqualitätsparametern**

Sybille Christina Hohenester

Aus dem Institut für
Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl: Univ.-Prof. Dr. A. Stolle

**Überprüfung von
ausgewählten Schnellmethoden
zur Bestimmung
von Fleischqualitätsparametern**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tierärztlichen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Sybille Christina Hohenester
aus
Altötting

München, 2006

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. E. Märtlbauer
Referent: Univ.-Prof. Dr. Dr. A. Stolle
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. R. Hoffmann

Tag der Promotion: 10. Februar 2006

Meiner Familie

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ABI.	Amtsblatt
Abs.	Absatz
BEFFE	Bindegewebeseiweißfreies Fleischeiweiß
BGBI	Bundesgesetzblatt
BmVEL	Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft
BW	Biologische Wertigkeit
DGE	Deutsche Gesellschaft für Ernährung e.V.
DIN	Deutsche Industrie Norm
et al.	et altera
EU	Europäische Union
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FE	Fleischeiweiß
FIR	Fernes Infrarot
FIHG	Fleisch-Hygiene-Gesetz
FIHV	Fleisch-Hygiene-Verordnung
h	Stunde
IMF	Intramuskuläres Fett
IOF	Fraunhofer Institut für Angewandte Optik und Feinmechanik, Jena
IR	Infrarot
k. A.	keine Angaben
kJ / g	Kilojoule pro Gramm
LFGB	Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch
LMBG	Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetz
MDT	Magen-Darm-Trakt
m-PFGSE	multi-pulsed magnetic field gradient spin echo experiment
max.	maximal
MHz	Mega-Hertz
MIR	Mittleres Infrarot

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

n	Anzahl der Fälle
N	Stickstoff
NIR	Nahes Infrarot
NMR	nuclear magnetic resonance
NPN	Nicht-proteinoge-N-Verbindungen
p. m.	post mortem
RL	Richtlinie
RP	Rohprotein
sec	Sekunde
usw.	und so weiter
UV	Ultraviolett
VIS	englisch „visible“ für sichtbar
VO	Verordnung
WHO	World Health Organisation

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG	8
LITERATUR	10
1 Zusammensetzung von Fleisch	10
1.1 Allgemeine Anmerkungen zum Nahrungsmittel Fleisch	10
1.2 Rechtsvorschriften zur Bewertung von Fleisch	13
1.3 Chemische Zusammensetzung und funktionelle Eigenschaften von Fleisch	17
1.3.1 Begriffsdefinition Fleisch	17
1.3.2 Morphologische und funktionelle Grundlagen	18
1.3.3 Chemische Bestandteile	22
1.3.4 Bewertung aus ernährungsphysiologischer Sicht	32
1.3.5 Biochemische Veränderungen der Muskulatur post mortem	35
2 Fleischgewinnung	43
2.1 Schlachtung von Rindern und Schweinen	43
2.2 Zerlegung	45
3 Substantielle Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen	47
3.1 Rechtliche Voraussetzungen	47
3.2 Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik	51
MATERIAL UND METHODEN	58
4 Nasschemische Untersuchung nach § 64 LFGB	58
5 NIR-Spektroskopie	64
5.1 Einführung	64
5.2 Physikalische Grundlagen	65
5.3 Datenerstellung und Kalibration	69
5.4 Technische Voraussetzungen	70
5.5 NIR-Messverfahren und Datentransformation	71
5.6 Möglichkeiten der NIR-Spektroskopie	74
6 NMR-Spektroskopie	76
6.1 Einführung zur NMR-Spektroskopie	76
6.2 Physikalische Grundprinzipien der NMR	77
6.3 Messprinzipien	79
6.4 Quantitative NMR-Messungen	80
6.5 Apparativer Aufbau von NMR- Spektroskopen	82

7	Optisches Sensormodul	83
7.1	Entwicklung des Sensormoduls	83
7.2	Physikalische Prinzipien des Sensormoduls	83
8	Versuchsaufbau und -gestaltung	86
8.1	Material	86
8.2	Probenvorbereitung	87
8.3	Durchführung der Messungen	88
8.3.1	Optische Messungen am Sensormodul	88
8.3.2	NIR-Spektroskopie	88
8.3.3	NMR-Spektroskopie	90
8.3.4	Nasschemische Vollanalyse	91
	ERGEBNISSE	92
9	Allgemeine Erläuterungen	92
10	Statistische Auswertung	91
10.1	Optisches Sensormodul	91
10.2	NIR- und NMR-Spektroskopie	96
10.2.1	Deskriptive Statistik	96
10.2.2	Analytische Statistik	106
	DISKUSSION	116
11	Optisches Sensormodul	116
12	NIR-Spektroskopie	121
13	NMR-Spektroskopie	126
	SCHLUSSFOLGERUNGEN	130
	ZUSAMMENFASSUNG	132
	SUMMARY	134
	ANHANG	136
	LITERATURVERZEICHNIS	141
	TABELLENVERZEICHNIS	163
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	165
	DANKSAGUNG	167
	LEBENS LAUF	168

EINLEITUNG

Im Rahmen der menschlichen Ernährung liegt die sichere und hochwertige Beschaffenheit von Lebensmitteln im Interesse aller Beteiligten, sprich der Verbraucher, Nahrungsmittelproduzenten und -händler sowie der Lebensmittelüberwachung und der Ernährungswissenschaften. Dies gilt auch für Fleisch und Fleischerzeugnisse.

Neben der Notwendigkeit zur Versorgung des Körpers mit entsprechenden Nährstoffen stellen die Verbraucher erklärte Ansprüche hinsichtlich der Qualität von Lebensmitteln. Als Grundlage zur Bemessung der Qualität können dem Konsumenten jedoch meist nur Produkteigenschaften wie das Aussehen, die Konsistenz, der Geruch und Geschmack, sowie gegebenenfalls die Verarbeitungseigenschaften des jeweiligen Produktes dienen. Dem Schutz des Verbrauchers und seiner berechtigten Interessen vor gesundheitsschädlichen Beeinträchtigungen, vor Irreführungen und Übervorteilungen dienen im europäischen Rechts- und Wirtschaftsraum diverse EU-Verordnungen und Richtlinien, die den Bereich der Lebensmittelherstellung und des Lebensmittelverkehrs auf unterschiedlichen Ebenen regeln. Im nationalen Bereich stellt das am 07.09.2005 in Kraft getretene Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB) (ehemals Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetz - LMBG) das übergeordnete Regelwerk dar. Es führt die Prinzipien des umfassenden Verbraucherschutzes des LMBG weiter, und bezieht außerdem die Futtermittel als Ausgangspunkt der Kette von Lebensmitteln tierischen Ursprungs direkt in seinen Geltungsbereich mit ein. Dabei enthält es grundsätzliche Vorgaben zum Umgang mit Nahrungsmitteln, Bedarfsgegenständen und Futtermitteln in Deutschland.

Einen weiteren Schritt für mehr Verbrauchersicherheit bedeutet dabei die Methoden-Sammlung nach § 64 LFGB Absatz 2. In dieser Sammlung werden Vorschriften zu standardisierten Probennahme- und Analyseverfahren im Rahmen der Lebensmitteluntersuchung zusammengestellt, damit fachlich gleichwertige Untersuchungsergebnisse garantiert und ihnen amtlichen Status verliehen werden kann. Das Deutsche Lebensmittelbuch wiederum und seine Leitsätze führen ergänzend die anerkannten Richtlinien zur Beurteilung der Herstellung, Beschaffenheit und

Verkehrsfähigkeit von Lebensmitteln auf. Neben grundsätzlichen Begriffsbestimmungen und Beurteilungsmerkmale zu Fleisch, Fleischnebenprodukten und Fleischerzeugnissen finden sich in den Leitsätzen für Fleisch und Fleischerzeugnisse die speziellen Beurteilungsmerkmale für die einzelnen in der BRD üblichen Fleischerzeugnisse.

Um die substantielle Qualität der eingesetzten Rohmaterialien sowie ihre Mengenanteile zueinander zu beurteilen, werden bei Fleischerzeugnissen und Hackfleisch die chemischen Haupt-Parameter Wasser, Fett, Asche, Rohprotein und Bindegewebe herangezogen. Das Kernstück dieser chemischen Analytik stellt die relativ zeitintensive „klassische“ Nasschemie dar, die darüberhinaus eine umfangreiche Laborausstattung und entsprechende Erfahrung des Laborpersonals erfordert. Verlässliche kosten- und zeitsparende Schnellmethoden sind auf dem Gebiet der „Fleisch-Chemie“ noch nicht gängige Praxis. So haben zwar optische Analyseverfahren auf Basis der Nahinfrarot-(NIR)-Spektroskopie Eingang in die Qualitätssicherung der Nahrungsmittel- und Futtermittelherstellung gefunden; eine umfassende Routine-Analytik mit der Genauigkeit von nasschemischen Analysen ist jedoch noch nicht etabliert.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, ein optisches Schnell-Verfahren, welches sich noch in der Entwicklungsphase befindet, hinsichtlich seiner Eignung zur Ermittlung der prozentualen Anteile von Muskelfleisch, Fett und Bindegewebe zu prüfen. Als Referenzmethode dient die nasschemische Untersuchung gemäß den Vorgaben der amtlichen Sammlung. Daneben soll eine Aussage zur Genauigkeit von NIR-Spektroskopie und NMR-Spektroskopie im Vergleich zur nasschemischen Referenzanalytik getroffen werden, um die Eignung dieser Methoden zur Kalibration des neuartigen optischen Verfahrens zu evaluieren.

LITERATUR

1 Zusammensetzung von Fleisch

1.1 Allgemeine Anmerkungen zum Nahrungsmittel Fleisch

Der Begriff „Fleisch“ wird in der Regel als Synonym für die Skelettmuskulatur der Schlachttiere und des Wilds verwendet. Für den Verbraucher fallen auch anhaftende Sehnen, Knorpel, Fett oder sogar Haut und andere Nebenprodukte darunter (STOLLE UND REUTER, 1981). In Deutschland war dieser Begriff somit weitgehend deckungsgleich mit den Rechtsvorgaben des Fleisch-Hygiene-Gesetzes (FIHG) und seinen nachgeordneten Gesetzestexten.

In der menschlichen Ernährung trugen Fleisch und Fleischzubereitungen bereits in vorgeschichtlicher Zeit zur Versorgung mit hochwertigem tierischem Protein bei. Prähistorische Felsbilder wie beispielsweise in den Höhlen von Les Combarelles / Südfrankreich und entsprechende Knochenfunde lassen vermuten, dass die steinzeitliche Jagd vor allem auf Rind und Bison stattfand, um in den Genuss von schmackhaftem und gehaltvollem Fleisch zu kommen (SCHMIDT-LIEB, 1983). Die Domestikation von Schaf, Rind und Schwein zwischen etwa 7000 und 5000 v. Chr. wurde mit dem Ziel vorangetrieben, eine kontinuierliche Fleischversorgung sicherzustellen. Durch die Schlachtung von Tieren wurde der Verzehr von Fleisch weitgehend unabhängig vom erfolgreichen Verlauf der Jagd. Darüberhinaus fielen die mit einer Hatz verbundenen Gefahren für die Jäger fort. Die kulturelle Entwicklung des Menschen vom Jäger zum Hirten und Viehzüchter vollzog sich dabei jeweils in Abhängigkeit von den unterschiedlichen geographischen und klimatischen Voraussetzungen (LAWRIE, 1991). Die Haltung von Tieren ermöglichte die Versorgung mit tierischen Nahrungsmitteln, überdies mit Wolle, Horn und Haut. Darüber hinaus entwickelten sich erste kulinarisch ausgerichtete Verzehrsgewohnheiten. So lassen sich beispielsweise schon in der „Odyssee“ Homers Textstellen finden, in denen der Verzehr von gebratenen Würsten beschrieben wird (SALVETTI UND BÜHRER, 1988).

Neben züchterischen Anstrengungen zur Leistungsverbesserung der gehaltenen Tiere entwickelten sich in vielen Kulturvölkern über Jahrhunderte hinweg mannig-

fache Schlachtrituale und Verarbeitungstraditionen, die in ihrer Ausprägung abhängig von verschiedensten ethnischen und religiösen Einflüssen und Riten waren (SALVETTI UND BÜHRER, 1988). So gilt beispielsweise das Schwein in moslemischen Ländern als unrein, während das Rind in Indien teilweise religiöse Verehrung genießt, beides Tierarten, deren Schlachtung in Mitteleuropa der Regelfall ist.

Fleisch und Fleischerzeugnisse verschiedener Spezies blieben Teil des menschlichen Speiseplans über Jahrhunderte und Jahrtausende hinweg. Beeinflusst von mannigfaltigen klimatischen, zeitgeschichtlichen und sozialen Faktoren und Ereignissen wie Witterung, Kriegen oder Wirtschaftskrisen unterlag der mengenmäßige Anteil dabei entsprechenden Schwankungen. Qualitätsbezogene Aspekte wie hygienische, ernährungsphysiologische, gesundheitliche und technologische Gesichtspunkte traten dabei regelmäßig in den Hintergrund. Vordringlich auf die Sicherstellung der Versorgung mit tierischem Eiweiß ausgerichtete Verzehrsgewohnheiten waren in Deutschland vor allem nach dem 1. und 2. Weltkrieg logische Konsequenz der knappen Ernährungslage. Gerade in den Nachkriegsjahren war die Versorgung mit tierischen Lebensmitteln dürftig, v. a. mit Fleisch der verschiedenen Schlachttierspezies. Mit Aufschwung des deutschen Wirtschaftswunders seit 1948 und der allgemein prosperierenden Volkswirtschaft der nachfolgenden Jahrzehnte nahmen Fleisch und Fleischerzeugnisse wieder einen größeren Platz in der Ernährung ein.

Seit Erreichen von allgemeinem Wohlstand ist auch ein kontinuierlicher Rückgang des Fleischverbrauchs pro Kopf zu verzeichnen, den BRANSCHIED (1998) maßgeblich auf Saturierung, fehlende Abwechslung im Angebot, zunehmende Überernährung und geänderte Bewusstseinslage und Motivation seitens des Verbrauchers zurückführt. Daneben spielen sicherlich Presseberichte und Publikationen zu einer möglichen Gesundheitsgefährdung durch Fleischkonsum und dadurch verstärkte Vorurteile beim Konsumenten eine Rolle. Verschiedene Lebensmittel-skandale wie die „BSE- Krise“, mit Dioxin kontaminierte Futtermittel usw. haben den seit Mitte der Achtziger Jahre des letzten Jahrhunderts bestehenden Trend zu reduziertem Fleischkonsum noch verstärkt. Ethische und ökologische Betrachtungsweisen der Verbraucher fördern die Tendenz zu bewusst eingeschränktem Fleischkonsum. Trotz aller statistischen Schwankungen und Tendenzen lässt sich

gleichwohl ein konstant bleibender Anteil von Fleischkonsumenten in der deutschen Bevölkerung feststellen (WOLFRAM, 2003). Nach Daten des Deutschen Fleischer-Verbandes (DFV) lag der durchschnittliche Pro-Kopf-Verzehr in Deutschland 2003 bei 61,5 kg, davon alleine 39,7 kg Schweinefleisch (berechnet als Summe von Fleisch und Fleischerzeugnissen).

Um den berechtigten Ansprüchen der Konsumenten an hygienischer, toxikologischer und substantiell einwandfreier Qualität und hinsichtlich des Schutzes vor Übervorteilung gerecht zu werden, ist ein umfassender, beständiger und gewissenhafter Verbraucherschutz im Sinne dieser Bedürfnisse und im Eigeninteresse der Fleischwirtschaft unabdingbar. Allerdings gilt es zu bedenken, dass die „neuen“ Rechtsvorschriften der Europäischen Union (EU) einen fast ausschließlichen „Rechtsschwerpunkt“ hinsichtlich hygienischer Belange vorsehen. Der Schutz vor Übervorteilung, also die Sicherung der substantiellen Qualität, wird in den Aufgabenkreis der betrieblichen Eigenkontrollen durch den Hersteller übertragen. Dadurch werden verstärkt neuartige und schnelle, in die Routine des laufenden Herstellungsbetriebs integrierbare Verfahren zur Erreichung dieses Ziels notwendig (ELLERBROEK, 2005).

Das wissenschaftliche Anliegen dieser Arbeit war, einen Beitrag zur Bewertung der substantiellen Beschaffenheit und der Möglichkeiten ihrer Sicherstellung zu leisten. Dabei soll ein neuartiges vom Fraunhofer Institut für Angewandte Optik und Feinmechanik (IOF) / Jena entwickeltes optisches Messverfahren hinsichtlich seiner Eignung bewertet werden, ausgewählte Fleischparameter zu detektieren. Das Verfahren soll der traditionellen substantiellen Analytik in Laborumgebung gegenübergestellt und anhand dieses Vergleichs die Aussagekraft der erstellten Ergebnisse beurteilt werden.

1.2 Rechtsvorschriften zur Bewertung von Fleisch

Gesetzliche Regelungen für Fleisch und daraus hergestellte Produkte finden sich im europäischen Wirtschafts- und Rechtsraum als horizontale und vertikale Vorschriften wieder. Grundlage dieser gesamteuropäischen Regelungen stellt primär der Rahmen der Gründungs- und Grundlagenverträge (Römische Verträge) dar. Auf dieser Basis werden durch das EU-Parlament und den EU-Rat entsprechende EU-Verordnungen und EU-Richtlinien erlassen. Erstere besitzen nach Inkrafttreten als solche unmittelbar Gültigkeit in allen Mitgliedsstaaten. Richtlinien können dagegen je nach nationaler Präferenz in entsprechend variierte Ausführungs- und Verwaltungsvorschriften überführt werden. Dabei stellen die vertikale Verordnungen (VO) produktspezifische, die horizontalen Richtlinien produktübergreifende Regelwerke dar. Daneben sind weiterhin Empfehlungen, Stellungnahmen und ergänzende Entscheidungen und Beschlüsse durch die vorher genannten EU- Organe möglich (TERNES UND QUINT, 2002).

Als oberstes europäisches Regelwerk im Bezug auf Lebensmittel ist derzeit die „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“ anzusehen (ABl. Nr. L 31 S. 1). Dieses Regelwerk ist Anfang 2002 in Kraft getreten. Die endgültige Umsetzung hat zum 01.01.2005 stattgefunden. Umfassende Regelungen zur Überwachung sämtlicher mit tierischen Nahrungsmitteln verbundener Produktionsschritte trifft die „EU-Verordnung 882 / 2004 über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz“ mit Gültigkeit ab 01.01.2006. Ziel ist dabei die endgültige Vereinheitlichung und Modernisierung der Lebensmittelvorschriften im europäischen Binnenmarkt, um gleichwertige Sicherheiten und Ansprüche für Verbraucher in allen Mitgliedsländern garantieren zu können. Diese Verordnungen bedeuten in ihrer Konsequenz eine Aufhebung oder Änderung nationaler Rechtsvorschriften. Entsprechende Durchführungsverordnungen sind allerdings auf nationaler Ebene noch zu schaffen, so dass derzeit

nach Inkrafttreten des Gesetzes zur Neuordnung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts Teile der damit eigentlich aufgehobenen Rechtsvorschriften übergangsweise noch angewendet werden.

Der Schwerpunkt der neugeschaffenen Rechtsnormen wird vor allem auf die hygienischen Aspekte des Verbraucherschutzes gelegt. Diese Prinzipien finden sich in den EU-Vorschriften „VO 852 / 2004 über Lebensmittelhygiene“, „VO 853 / 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs“ und „VO 854 / 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs“. Entscheidende Neuerungen bringt weiterhin die Richtlinie „RL 2004 / 41 zur Aufhebung bestimmter Richtlinien über Lebensmittelhygiene und Hygienevorschriften für die Herstellung und das Inverkehrbringen von bestimmten, zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs“. Auf Grundlage dieser eindeutigen Vorschriften können die Ziele der Lebensmittelüberwachung im Sinne der „Codex Alimentarius Kommission“ von WHO und FAO erfüllt werden als:

- Gesundheitliche Unbedenklichkeit
- Hohe Qualität
- Bekömmlichkeit und Genusstauglichkeit
- Freier Handelsverkehr

In der Bundesrepublik Deutschland bestand bis zur endgültigen Umsetzung der RL 2004 / 41 eine Fülle flankierender Vorschriften, neben dem Lebensmittel- und Bedarfsgegenständegesetz (LMBG) als zentrales Regelwerk. Mit Wirkung vom 07.09.2005 ist das LMBG durch das Gesetz zur Neuordnung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts ersetzt worden. In Artikel 1 des Rechttextes findet sich das Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuch (LFGB), durch dessen Vorgaben ein noch größeres Maß an präventivem Verbraucherschutz erreicht werden soll als durch die bisherigen Definitionen des aufgehobenen LMBG, in denen die Prinzipien des Schutzes des Verbrauchers vor gesundheitlicher Beeinträchtigung, Täuschung und Übervorteilung im Verkehr mit Lebensmitteln verankert waren. Das rechtliche Einbeziehen der Futtermittel als erstes Glied der Lebensmittelherstel-

lungskette dient der umfassenden Lebensmittelsicherheit vom Stall bis auf den Teller (KÜNAST, 2005). In Anlehnung an das abgelöste LMBG werden im LFGB alle Prämissen bezüglich der Beschaffenheit von Lebensmitteln abgedeckt und auch erweitert. Das Regelwerk lässt sich gliedern in allgemeine Bestimmungen, Vorschriften zum Verkehr mit Lebens- und Futtermitteln, Verkehr mit kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen, gemeinsame Vorschriften für alle diese Erzeugnisse und weiterhin Vorgaben zu Überwachung, Monitoring, Einfuhr und Ausfuhr von Lebensmitteln aus der BRD. Daneben werden in den Schlussbestimmungen Vorgaben zur Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren gegeben.

Nach § 2 Absatz 2 des LFGB umfasst der Begriff Lebensmittel entsprechend den Inhalten der VO (EG) 178 / 2002 „alle Stoffe, die dazu bestimmt sind oder von denen nach vernünftigem Ermessen erwartet werden kann, dass sie in verarbeitetem, teilweise verarbeitetem oder unverarbeitetem Zustand vom Menschen aufgenommen werden“. Definitionsgemäß zählen auch alle Stoffe einschließlich Wasser, die „dem Lebensmittel bei seiner Herstellung oder Ver- oder Bearbeitung absichtlich zugesetzt werden“ als Lebensmittel. Fleisch und Fleischerzeugnisse fallen somit eindeutig unter den Definitionsbereich des LFGB. In folgender Auflistung finden sich die Paragraphen mit grundlegender Bedeutung für einen umfassenden Verbraucherschutz:

- § 5 LFGB Verbote zum Schutz der Gesundheit
 - Verbot, „LM für andere derart herzustellen oder zu behandeln, dass ihr Verzehr gesundheitsschädlich im Sinne des Art. 14 Absatz 2 Buchstabe a der VO (EG) Nr.178 / 2002 ist...“
 - Verbot, „Stoffe, die keine Lebensmittel sind und deren Verzehr gesundheitsschädlich ist, in Verkehr zu bringen.“
 - Verbot, „mit Lebensmitteln verwechselbar Produkte für andere herzustellen, zu behandeln oder in den Verkehr zu bringen.“
- § 11 LFGB Vorschriften zum Schutz vor Täuschung
 - Verbot, „Lebensmittel unter irreführender Bezeichnung, Angabe oder Aufmachung gewerbsmäßig in den Verkehr zu bringen oder für Lebensmittel

allgemein oder im Einzelfall mit irreführenden Darstellungen oder sonstigen Aussagen zu werben.“

Verbot, „ohne ausreichende Kenntlichmachung...nachgemachte Lebensmittel, Lebensmittel, die hinsichtlich ihrer Beschaffenheit von der Verkehrsauffassung abweichen und dadurch in ihrem Nähr- oder Genusswert oder ihrer Brauchbarkeit nicht unerheblich gemindert sind.“ und „Lebensmittel, die geeignet sind, den Anschein einer besseren als der tatsächlichen Beschaffenheit zu erwecken, gewerbsmäßig in Verkehr zu bringen.“

- § 15 LFGB Deutsches Lebensmittelbuch
„...eine Sammlung von Leitsätzen, in denen Herstellung, Beschaffenheit oder sonstige Merkmale von Lebensmitteln, die für die Verkehrsfähigkeit der Lebensmittel von Bedeutung sind, beschrieben werden“.
- § 16 LFGB Deutsche Lebensmittelbuch- Kommission
Die Kommission wird vom Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landschaft (BmVEL) aus „den Kreisen der Wissenschaft, der Lebensmittelüberwachung, der Verbraucherschaft und der Lebensmittelwirtschaft in zahlenmäßig gleichem Verhältnis“ berufen.
- § 64 LFGB Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren
Eine „amtliche Sammlung von Verfahren zur Probenahme und Untersuchung“ von Lebensmitteln und weiteren Erzeugnissen im Sinne dieses Gesetzes, wobei diese Verfahren „unter Mitwirkung von Fachkennern aus den Bereichen der Überwachung, der Wissenschaft und der beteiligten Wirtschaft festgelegt“ werden. Die Veröffentlichung geschieht durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), die Sammlung ist dabei „laufend auf dem neuesten Stand zu halten“.

Von besonderer Bedeutung für die im Rahmen dieser Dissertation durchgeführten Arbeiten ist die nach § 64 LFGB erstellte „Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren“, da die nach diesen Vorgaben festgelegten Methoden zur Durchführung der Referenzanalytik Anwendung finden.

1.3 Chemische Zusammensetzung und funktionelle Eigenschaften von Fleisch

1.3.1 Begriffsdefinition Fleisch

Unter „Fleisch“ wird im landläufigen Sinne meist das Muskelfleisch geschlachteter Rinder, Schweine, Schafe, Ziegen, Pferde, Kaninchen und geschlachteten Hausgeflügels verstanden. In den Verkehr gelangt Fleisch unter Angabe von Tierart, Geschlecht oder Alter, z.B. als Kalb-, Rind-, oder Geflügelfleisch (SEUSS-BAUM, 1998). In den folgenden Ausführungen wird unter dem Begriff „Fleisch“ vorrangig die Skelettmuskulatur von Schlachttierkörpern der Spezies Rind und Schwein behandelt. Als Fleisch im Sinne eines Lebensmittels gilt die tierische Muskulatur mit anhaftendem Fett- und Bindegewebe nach Ablauf der postmortalen Veränderungen (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998).

Fleisch wird in der Richtlinie 101 / 2001 / EG als die „für den menschlichen Verzehr geeignete Skelettmuskulatur von Tieren der Spezies Säugetiere und Vögel mit anhaftendem und eingelagerten Begleitgewebe (Fett-, Binde-, Nerven- und lymphatisches Gewebe sowie Gefäße) einschließlich der Kaumuskeln und des Zwerchfells“ beschrieben. Die Definitionen im Sinne dieser Richtlinie besitzen derzeit übergeordnete Gültigkeit für die nationalen Belange, da durch die Einführung des LFGB das Fleisch-Hygiene-Gesetz (FIHG) außerkraft gesetzt wurde. Darin wurde Fleisch definiert als „alle Teile“ von „als Haustiere gehaltenen Rindern, Schweinen, Schafen, Ziegen, anderen Paarhufern, Pferden, anderen Einhufern, Kaninchen,...die zum Genuss für Menschen geeignet sind, frisch oder in Form von Fleischerzeugnissen oder Fleischzubereitungen“. Diese Vorgaben decken sich mit den in den Leitsätzen für Fleisch und Fleischerzeugnisse des Deutschen Lebensmittelbuch gegebenen Definitionen. Demnach sind unter Fleisch „alle Teile von geschlachteten oder erlegten warmblütigen Tieren, die zum Genuss für Menschen bestimmt sind“ zu verstehen. Die durch die Schlachttier- und Fleischuntersuchung gemäß der derzeit noch gültigen Fleisch-Hygieneverordnung (FIHV) festgestellte „Tauglichkeit für den Genuss durch Menschen“ wird natürlich vorausgesetzt.

Die vom Bundesministerium veröffentlichten Leitsätze erstellen für die verschiedenen Bereiche der Nahrungsmittel jeweils die Kriterien, denen ein Produkt dieser Art entsprechen muss. In den Leitsätzen für Fleisch finden sich neben erläuternden Definitionen zur Art der eingesetzten Rohwaren genaue Vorgaben zur Zusammensetzung, Beschaffenheit und Bezeichnung von in Deutschland üblichen Fleischerzeugnissen. Dabei treffen die Leitsätze umfangreiche Vorgaben zur Abgrenzung von Rind-, Schweine- und Geflügelfleisch unterschiedlicher Fett- und Bindegewebskategorien („sehnen- und fettgewebsarm; grob entseht oder entfettet; sehnen- oder fettgewebereich“) und geben anhand dieser Kategorien die Ausgangsmaterialien für die einzelnen Fleischerzeugnisse vor.

Diese Vorschriften finden Anwendung bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen im Rahmen innerbetrieblicher Eigenkontrollen sowie Beprobungen und amtlichen Kontrollen in Verarbeitungsbetrieben und auf allen Handelsstufen. Die Lebensmittelüberwachung findet in diesen Leitsätzen die zur Erfüllung ihrer Kontrollfunktion konkreten Richt- und Grenzwerte, um wirkungsvolle Handhabe zur Umsetzung des Verbraucherschutzes zu erreichen (STOLLE, 2004). Ausführende Kontrollorgane stellen die Lebensmittelüberwachungs- und Veterinärämter dar, denen die hygienische und analytische Überwachung in den einzelnen Bundesländern obliegt.

1.3.2 Morphologische und funktionelle Grundlagen

Der anatomische Aufbau eines jeden tierischen Körpers lässt sich grundsätzlich gliedern in Skelett-, Muskel- und Nervensystem, deren Zusammenwirken die wichtigen Stütz-, Bewegungs- und Steuerungsfunktionen im Organismus ermöglicht. Knochen, Muskulatur mit Sehnen und Bändern und die neuronale Innervation bilden eine Einheit als Basis des funktionierenden Bewegungssystems (NICKEL ET AL., 1987). Die Muskulatur lässt sich unterteilen in die willkürliche quergestreifte Muskulatur des Bewegungsapparats, die unwillkürliche glatte Muskulatur der inneren Organe und Blutgefäße, sowie die Muskulatur des Herzens als eine Mischform aus diesen beiden (SCHWÄGELE, 2003). Jeder Skelettmuskel besteht aus einer Vielzahl einzelner Muskelfasern, wobei jede von feinem Bindegewebe, dem Endomysium, umgeben ist. Mehrere Muskelfasern werden vom so

genanntem Perimysium zu Primär- und Sekundärbündeln von etwa 2 mm Durchmesser zusammengefasst, durch die Blutgefäße, Lymph- und Nervenbahnen verlaufen. Die Gesamtheit eines Muskels ist vom straffen Bindegewebe des Epimysiums gegen das umgebende Gewebe abgegrenzt. Insertions- und Ursprungsstellen von Muskulatur werden durch die Verschmelzungen dieser endomysialen Strukturen mit den bindegewebigen Sehnenfasern gebildet. Der Anteil der Muskelfasern am Gesamtvolumen eines Muskels beträgt nach ABERLE ET AL. (2001) rund 75 - 92 %. Als intramuskuläre Fettgewebe (IMF) werden die in die Bereiche von Endomysium und Perimysium eingelagerten Fettzellen bezeichnet. Das IMF trägt wesentlich zur sensorisch erfassbaren Zartheit und insbesondere als Geschmacksträger zum Genusswert von Fleisch bei.

Unterschiedliche Gehalte an Myoglobin, dessen durchschnittlicher Gehalt bei rund 1% liegt, und an Mitochondrien erlauben eine Unterteilung von Muskelfasern in rote, intermediäre und weiße Fasertypen. Neben ihrer augenscheinlichen Muskelfarbe unterscheiden sie sich in ihrer Kontraktionsgeschwindigkeit, Ausdauer und ihrer überwiegenden Energie-Gewinnung (WICKE ET AL., 1998).

Die kleinste zelluläre Einheit des Muskels stellt die einzelne mehr- bis vielkernige Muskelzelle dar. Sie ist von zylindrischer Form; bei einem Durchmesser von zwischen 10 und 120 µm kann die Länge zwischen wenigen mm bis zu 30 cm variieren (SCHEUNERT UND TRAUTMANN, 1987; WICKE ET AL., 1998). Umgeben vom Sarkolemm, der Zellmembran, finden sich im Sarkoplasma jeder Zelle eine Vielzahl von Zellorganellen wie Mitochondrien, Lysosomen, Ribosomen und das sarkoplasmatische Retikulum, daneben auch freie Aminosäuren, verschiedene Peptide und Proteine (BELITZ ET AL., 2001). Zu letzteren zählen die Enzyme des Energiestoffwechsels und das muskelspezifische Chromoprotein Myoglobin. Glykogen und Creatinphosphat als typische Energieträger der Muskulatur sind ebenfalls im Zellraum der Muskelzelle lokalisiert.

Der überwiegende Teil des Zellinnenraums wird von parallel zur Faser verlaufenden Myofibrillen eingenommen. Diese Proteinstrukturen mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 1 - 2 µm bilden die funktionelle Basis der Muskelkontraktibilität und kommen ausschließlich in den Muskelfasern vor (ABERLE ET AL., 2001). Der Feinbau der Fibrillen lässt im polarisierten Licht eine regelmäßige Bän-

derung erkennen, wodurch mikroskopisch der Eindruck einer Querstreifung entsteht. Dieses Muster hat seinen Ursprung in der unterschiedlichen Lichtbrechung der gleichmäßig angeordneten Proteinbausteine und wird in die dunkel erscheinende A-Zone (stark lichtbrechend) und die hellere I-Zone (schwach lichtbrechend) eingeteilt. In der Mitte der I-Zone ist eine dunkle Zone erkennbar, die als Z-Scheibe bezeichnet wird. Elektronenmikroskopisch lässt sich innerhalb der A-Bande eine hellere Zone, die H-Zone und in deren Mitte die M-Linie als dunkle Einheit differenzieren. Der Bereich zwischen zwei Z-Scheiben wird als Sarkomer bezeichnet und stellt den regelmäßigen Grundbaustein der Myofibrillen dar (VOET UND VOET, 1992). Die H- und I-Banden zeigen sich im Querschnitt als ein hexagonales Gebilde aus parallel verlaufenden und dicht gepackten Filamenten. Die Filamente der H-Banden mit einem Durchmesser von rund 15 nm werden als dicke Filamente, die der I-Banden mit einem Durchmesser von etwa 7 nm als dünne Filamente bezeichnet (VOET UND VOET, 1992). Die Z-Scheiben stellen dabei die Verankerungsstruktur der I-Banden dar, die A-Bande entsteht durch Überlagerung beider Filamente (KOHLMANN UND RÖHM, 1998).

Die Myofibrillen setzen sich hauptsächlich aus vier Myofilamenten zusammen: Aktin, Myosin, Troponin (insgesamt aus drei Untereinheiten bestehend) und Tropomyosin. Daneben sind etwa zwanzig weitere Proteine in geringer Konzentration, wie Titin, Nebulin, α -Actinin, Myomesin und C-Protein bekannt, die die Filamente fixieren und damit ihre Struktur stützen (VOET UND VOET, 1992). Der Anteil der Myofilamente am Gesamteiweiß der Myofibrillen liegt nach STRYER (1991) bei etwa 70- 75 %.

Die sogenannten dicken Myosinfilamente bestehen aus etwa 150- 400 einzelnen Myosinmolekülen und bilden eine helikale Struktur mit Kopf- und Schwanzteilen. Dabei ragen die Kopfteile radiär im Winkel von etwa 90° aus dem Strang der Myosinfilamente heraus und bilden dadurch die notwendige Kontaktstelle zu den Aktinfilamenten aus. Zu einer Fibrille fixiert werden die Myosinfilamente durch die M-Linie, die frei von Kopfteilen ist. Hauptbestandteile der Myosinpeptide sind vorwiegend saure Aminosäuren wie Glutamin- und Asparaginsäure.

Aktinfilamente bestehen aus zwei helikal ineinander gewundenen Ketten aggregierter Aktinmoleküle, in die längliche Tropomyosinmoleküle eingelagert sind. Auf diesen wiederum sind globuläre Troponine zu finden. Fixierendes Maschenwerk

stellt hier die sog. Z-Scheibe dar, die insgesamt etwa 2000 Aktinfilamente bündelt. Aktin enthält viele basische Aminosäuren, v.a. Lysin und Arginin (HONIKEL, 1986).

Die Fähigkeit jeder einzelnen Muskelzelle zur Kontraktion stellt die grundlegende Voraussetzung für jegliche Form von Bewegung dar. Dieser auch als „ Filament-Gleiten“ bezeichnete Vorgang der Muskelkontraktion wird an der motorischen Endplatte durch eine transmittergesteuerte Erregungsüberleitung ausgelöst. Der durch die Impulsweitergabe bewirkte Austritt von Ca^{2+} -Ionen aus dem Membransystem des sarkoplasmatischen Retikulum führt zu einer Konformitätsänderung der Troponin-Untereinheiten. Durch die Lageveränderung am Troponin-Tropomyosin-Komplex wird die spezifische Bindungsstelle der Myosin-Köpfe an den Aktinfilamenten frei. Dadurch können die Myosin-Köpfe an Aktin binden, wobei im Kopfteil enthaltenes energiereiches Adenosin-Tri-Phosphat (ATP) gespalten wird. Das Freiwerden des Phosphatrests führt unter Mitwirkung von Mg^{2+} -Ionen zum Abknicken der Myosin-Köpfe um etwa 45° , wodurch eine zueinander gerichtete Verschiebung der Filamente um etwa 10 nm stattfindet. Zum anschließenden Lösen der Myosin-Köpfe vom Aktinfilament wird Energie in Form von ATP notwendig. Bei einer Erschöpfung der Muskel- Energiereserven kann diese Bindung nicht gelöst werden, es kommt zum Eintritt der Muskelstarre. Man spricht daher auch von der „Weichmacher-Wirkung“ des ATP (BELITZ ET AL., 2001). Aktin- und Myosinfilamente gleiten durch anhaltende Erregungsweiterleitung ineinander und verkürzen dadurch die Länge der Sarkomere, aus der schließlich die Kontraktion des gesamten Muskels auf bis zu zwei Drittel seiner ursprünglichen Länge resultiert (VOET UND VOET, 1992). Bei nachlassender Reizung des Muskels werden die Ca^{2+} -Ionen unter Energieaufwand in das sarkoplasmatische Retikulum zurückgepumpt, die Filamente kehren in ihre Ausgangsposition zurück und der Muskel relaxiert (KOOLMAN UND RÖHM, 1998).

1.3.3 Chemische Bestandteile

„Fleisch“ besteht in seiner grobgeweblichen Zusammensetzung aus drei Fraktionen, nämlich Muskel-, Fett- und Bindegewebe. Die Ausprägung und Verhältnisse der Gewebe zueinander sind abhängig von Tierart, Rasse, Fütterung, Haltung und Mastintensität, weiterhin von Lebendmasse und Alter zum Zeitpunkt der Schlachtung. Auch die individuelle genetische Veranlagung kann eine Rolle spielen (WICKE ET AL., 1998).

Die Anteile an reinem Muskelgewebe, an Fett- und Bindegewebe des Schlachtierkörpers spiegeln sich in den Gehalten des gewonnenen Fleisches an Wasser, Fett, Rohprotein und Bindegewebeisweiß wider und können analytisch als Qualitätsparameter herangezogen werden. Dabei setzt sich die Muskulatur eines frischen Schlachtierkörpers durchschnittlich aus Anteilen von rund 65 - 80 % Wasser, 16 - 20 % Protein, 1,5 - 13 % Fett, etwa 1,5 % Nicht-Proteinogenen-N-Verbindungen (NPN), 0,5 % Kohlenhydraten und 1,0 % anorganischen Substanzen zusammen (ABERLE ET AL., 2001).

- **Wasser**

Wie aus oben gemachten Ausführungen ersichtlich wird, besteht die tierische Muskulatur zu einem großen Teil aus Wasser. Rund 75 % der Muskelmasse können als durchschnittlicher Wassergehalt bei frisch gewonnenen Fleisch angesetzt werden. In der Muskulatur findet sich dieses Wasser unterschiedlich gebunden. Durch den Dipolcharakter des Wassermoleküls sind etwa 4 - 5 % des Gesamtwassers fest mit den polaren Seitenketten von Aminosäuren assoziiert und werden als gebundenes Wasser bezeichnet. Der Großteil des Muskelwassers, etwa 80 % - 90 %, lagert sich an diese Schicht in Form einer Hydrathülle an und wird so immobilisiert. Wenige Prozent des Gesamtwassers werden nur über schwache kapillare Kräfte im Muskelgewebe fixiert und treten als freies Wasser in Erscheinung (ABERLE ET AL., 2001; SCHWEDT, 2005). Wasser ist ein polares Lösungsmittel und dient im lebenden Organismus einer Vielzahl von Transportvorgängen, chemischen Umsetzungen und Reaktionen. Der Wasser- und Fettgehalt von Muskelfleisch stehen unabhängig von der Tierspezies stets in einer engen Relation

zueinander, ein geringer Fettgehalt bedingt einen prozentual höheren Wasseranteil der Muskulatur und umgekehrt (ARNETH, 2001).

- **Protein**

Grundlegende Bestandteile des Muskelproteins stellen mit durchschnittlich 50 - 55 % die kontraktilen Proteine Aktin, Myosin, Troponin, Tropomyosin und weitere fibrillen-assoziierte Proteine dar. Daneben finden sich im Muskel sarkoplasmatische Proteine mit einem Anteil von rund 30 %, zu deren etwa 50 Vertretern neben Myoglobin und Hämoglobin verschiedene glykolytische Enzyme und Albumine zu zählen sind. Etwa 10 % des Muskelproteins setzen sich aus unlöslichen Proteinfractionen, nämlich Kollagen, Elastin und mitochondrialen Proteinen zusammen (BELITZ ET AL., 2001; ABERLE ET AL., 2001). Der durchschnittliche Gehalt an Eiweiß pro 100 g Frischfleisch bewegt sich in Abhängigkeit von Tierart, Rasse, Fütterung, Ausmästungsgrad und Teilstück bei rund 18 - 20 g (SEUSS-BAUM, 1998), so enthält Hammelbrust beispielsweise 12 g Protein, reines Muskelfleisch vom Rind etwa 22 g Protein (SOUCI ET AL., 2000). Für Fleischerzeugnisse gilt, dass der jeweilige Proteingehalt von den verwendeten Ausgangsmaterialien und ihrem Verhältnis zueinander abhängig ist.

Grundbausteine aller Proteine und Polypeptide stellen die 20 proteinogenen Aminosäuren oder α - Aminocarbonsäuren dar, die durch Peptidbindungen unter Abspaltung von Wasser zur linearen Primärstruktur der einzelnen Proteine verknüpft werden. Durch schwache Wechselwirkungskräfte zwischen den einzelnen Aminosäuren (beispielsweise Wasserstoffbrückenbindungen) bilden sich in den Polypeptidketten Helix- oder Faltblattstrukturen als Sekundärstrukturen aus. Charakteristisch für alle Proteine ist die Ausbildung einer dreidimensionalen Tertiärstruktur, die ebenfalls auf innermolekularen Wechselwirkungen beruht oder durch Disulfidbrücken fixiert wird. Die Zusammenlagerungen mehrerer Polypeptid-Untereinheiten unter Einbeziehung verschiedener Polypeptidketten, Metallionen oder anderer Molekülgruppen kann eine komplexe Quartärstruktur entstehen lassen. Die Struktur der verknüpften Aminosäuren, ihre charakteristischen Seitenketten und die räumliche Gestaltung sind ursächlich für ihr biochemisches Verhalten und ihre Funktion verantwortlich (BELITZ ET AL., 2001).

Ein Protein von besonderem Einfluss auf das Erscheinungsbild von Fleisch ist dabei das Myoglobin. Dieses Chromoprotein mit einem sauerstoffbindenden Eisen-II-haltigen Häm als Zentralatom stellt die Grundlage der muskeleigenen Farbe dar. Frisches unbehandeltes Fleisch zeigt in Abhängigkeit von der Spezies Farbtöne von rosa bis rot verschiedener Intensität. Dieser Farbton ist zum Einen abhängig von Ausgangsgehalts an Myoglobin und weiterhin von der Oxidationsstufe des Myoglobins.

So enthält beispielsweise Rindfleisch in Vergleich zu Schweinefleisch einen höheren Anteil an Myoglobin, nämlich bis zu 20 mg / g statt etwa 4 mg / g, was Rindfleisch ein tiefer rotes Erscheinungsbild verleiht (POTTHAST, 1986; HONIKEL, 1998). Auch die Muskulatur von Schlachttieren, die bei ausreichend Bewegungsfreiheit gehalten wurden, stellt sich nach POTTHAST (1986) durch ihren belastungsbedingt erhöhten Myoglobingehalt dunkler dar. Daneben kann die Fleischfarbe und -helligkeit innerhalb einzelner Muskelpartien eines Schlachttieres schwanken, was nach HONIKEL (1998) auf ihre unterschiedlich starke Beanspruchung und damit unterschiedlichen Sauerstoffbedarf zu Lebzeiten zurückzuführen ist. Je nach Ausblutungsgrad ist am roten Farbbild der Muskulatur zu einem geringfügigen Teil auch Hämoglobin (bis zu 5 %) beteiligt (POTTHAST, 1986).

In Abhängigkeit von der Oxidationsstufe des zentralen Häm-Moleküls stellt sich die Farbe unterschiedlich dunkel- bis hellrot oder rosa dar. Sauerstoffbindendes Oxy-myoglobin (MbO_2) ist durchdringend hell-rot, während Myoglobin ohne Sauerstoff blasser erscheint (HONIKEL, 1998). Bei niedrigem Sauerstoffpartialdruck entsteht Metmyoglobin (Eisen-III-Häm), das der Muskulatur eine bräunliche Farbe verleiht. Oxy-myoglobin, Myoglobin und Metmyoglobin besitzen im sichtbaren Licht einheitlich bei 525 nm ihren Extinktionskoeffizienten, der eine Berechnung der gesamten Myoglobinkonzentration eines Muskels erlaubt. Erhitzung oder ein überstürzter Abfall des pH-Werts führen zu Proteindenaturierungen, von denen auch Myoglobin betroffen ist. Folge davon ist eine veränderte Lichtbrechung und -absorption der Muskulatur, so dass der Farbeindruck eines Farbverlusts hin zum Bräunlich-Grauen beziehungsweise hin zum Blassen entsteht (POTTHAST, 1986). Die Farbe von Fleisch stellt vor allem aus Sicht des Verbrauchers ein wichtiges Kriterium zur Beurteilung der Qualität dar. Mit erwartungsgemäß ansprechender

Farbe werden oftmals Frische, Schmackhaftigkeit und Zartheit durch den Verkäufer assoziiert, obwohl nach POTTHAST (1986) nicht zwingend von einer direkten Beziehung zwischen Fleischfarbe und diesen Merkmalen auszugehen ist.

Bindegewebe stellt nach WICKE ET AL. (1998) ein heterogenes und ubiquitär verbreitetes Gewebe im tierischen Organismus dar. Im Fleischprotein finden sich Kollagen und Elastin mit einem Anteil von insgesamt rund 20 - 25 %, davon beträgt Elastin nur wenige Prozent. Beide Proteine dienen der Stabilisierung von Zellen, Geweben und Organen. Bindegewebszellen fungieren daneben auch als Fett- und Wasserspeicher. Typisch für ihre Zellstruktur ist ein hoher Gehalt an amorpher Grundsubstanz, in die Kollagenfasern eingelagert sind. Das amorphe Material setzt sich vor allem aus Proteoglykanen, Glykoproteinen und interstitieller Flüssigkeit zusammen. Die Kollagenfasern setzen sich aus Kollagenfibrillen zusammen, die wiederum aus der Zusammenlagerung von drei α - Proteinketten zu einer Tripelhelix entstehen. Durch Kombination von über 19 in ihrem biochemischen Aufbau unterschiedlichen α - Proteinketten existieren rund 12 verschiedene Typen von Kollagen. In der Skelettmuskulatur der Schlachttiere finden sich davon insgesamt fünf verschiedene Kollagentypen, nämlich Kollagen I – V. Elastin findet sich zu geringen Anteilen an die Kollagenfasern assoziiert, daneben vorrangig in elastischen Geweben wie Sehnen und im Nackenband (ABERLE ET AL., 2001).

Signifikant für Kollagen ist das Vorkommen der nichtproteinogenen Aminosäure 4-Hydroxyprolin. Diese Aminosäure kommt nur dort in bedeutenden und konstanten Mengen vor und kann daher zur Bestimmung des bindegewebigen Proteinanteils in Fleisch und Fleischwaren herangezogen werden (BELITZ ET AL., 2001). Der Gehalt an Kollagen korreliert direkt mit dem sensorischen Eindruck von Fleisch, da hohe Bindegewebsanteile seine Zartheit verringern und den Eindruck von Zähigkeit entstehen lassen. Mit Zunahme des Schlachalters werden darüber hinaus kovalente Querverbindungen zwischen den einzelnen Kollagenfasern ausgebildet, die durch ihre fehlende Löslichkeit zu einer weiteren Verfestigung der Fleischstruktur beitragen (BELITZ ET AL., 2001; ABERLE ET AL., 2001).

- **Fett**

Fettgewebe kann als ein modifiziertes lockeres Bindegewebe aufgefasst werden (WICKE ET AL., 1998). Zwischen feinen bindegewebigen Fasern sind Fettzellen eingelagert, die in Abhängigkeit vom allgemeinen Ernährungszustand des Tieres aus einer unterschiedlichen Menge und Zusammensetzung an Lipiden bestehen. So erhält z. B. der in der Brühwurstherstellung gewünschte „kernige“ Speck seine Beschaffenheit durch die generell festere Konsistenz des Fettes und durch die zwischen die subkutanen Fettschichten eingelagerte Bindegewebszüge.

Je nach Lokalisation im Organismus erfüllt Fettgewebe neben einer mechanischen Polsterfunktion vornehmlich die Aufgabe der Speicherung energiereicher Lipidverbindungen und die der Wärmeregulation. Subkutanes Fett und Fett der Körperhöhlen dient als Depot zur Energiespeicherung und macht bis zu 80 % des gesamten Körperfettgehalts aus. Gerade die hohe Energiedichte von 37 kJ pro Gramm reines Fett prädestiniert es als Speicherform. Daneben treten Fettzellen in unterschiedlicher Ausprägung zwischen den einzelnen Muskeln und im Muskel selbst auf. Der Anteil des sichtbaren Fettes beträgt hier rund 7 %, der des intramuskulären Fett (IMF) liegt in magerem Fleisch bei etwa 2 % (SEUSS-BAUM, 1998). Das IMF zeigt sich als Marmorierung des Fleisches und trägt als Geschmacksträger zum sensorischen Genußwert bei. Der durchschnittliche Fettgehalt der Muskulatur unterliegt tierartlichen, rasse- und fütterungsbedingten Schwankungen, daneben beeinflussen ihn der Ausmästungsgrad des Schlachttieres und die Art des ausgewählten Teilstücks.

In tierischen Geweben enthaltenes Fett setzt sich aus verschiedenen chemischen Lipidfraktionen zusammen. Neben dem Hauptanteil der als Neutralfette bezeichneten Triacyl-Glyceride finden sich als Fettbegleitstoffe Phospholipide (Lecithin und Cholesterol) sowie verschiedene Mono- und Diacylglyceride. Die polaren Phospholipide sind typische Membranlipide, die am Aufbau aller tierischen Zellmembranen beteiligt sind (BELITZ ET AL., 2001; KOOLMAN UND RÖHM, 1998). Triacyl-Glycerole liefern neben Energie auch ein spezifisches Muster an Fettsäuren (FS), die im Körper weiter metabolisiert werden. Neben verschiedenen ungesättigten FS, wie Palmitin- und Stearinsäure, finden sich im Fleischfett einfach ungesättigte FS wie Ölsäure, und mehrfach ungesättigte essentielle FS (Arachidon-, Linol- und Linolensäure). Der Anteil an essentiellen FS ist allerdings

im Vergleich zu pflanzlichen Ölen und Fetten deutlich niedriger anzusetzen. So enthalten 100 g Leinsamenöl rund 88,7 g Linolsäure und 54 g Linolensäure, 100 g Schweineschmalz mit einem Gesamtfettgehalt von 100 g durchschnittlich 9,1 g Linolsäure sowie 1,0 g Linolensäure (SOUCI ET AL., 2000). In Schweinefleisch sind nach HONIKEL (1995) zwischen 50 und 62 mg Cholesterol / 100 g enthalten, in Rindfleisch etwa 50 bis 65 mg / 100 g. Vor allem in Abhängigkeit vom Teilstück sind unterschiedliche Gehalte an Cholesterol zu finden, die darüber hinaus in geringer Beziehung zum Gesamtfettgehalt stehen.

Die Zusammensetzung des FS-Musters hat Auswirkungen auf die Konsistenz des Fettgewebes. Durch hohe Anteile an ungesättigten FS erscheint das Fett weicher, hat einen niedrigeren Schmelzpunkt und ist außerdem anfälliger für oxidativen Verderb (WICKE ET AL., 1998; SEUSS-BAUM, 1998). So sind Öle von Seefischen aufgrund ihres größeren Anteils an mehrfach-ungesättigten Omega-3-Fettsäuren empfindlicher gegenüber Oxidationsprozessen als dies bei Fleisch der Fall ist (BELITZ ET AL., 2001). Daneben diskutieren Ernährungswissenschaftler in den letzten Jahren in zunehmendem Maße die Bedeutung der konjugierten Linolsäuren („conjugated linoleic acids“ = CLA). Diese speziellen FS lassen sich vor allem in Milchfett und Fleischlipiden von Wiederkäuern finden. In Abhängigkeit von Fütterung, Jahreszeit und Tierrasse entstehen diese Isomere der Linolsäure als Zwischenprodukte der Pansenflora und lassen sich mit einem Anteil von bis zu 1,08% im IMF von Rindern nachweisen. Im Tiermodell und in Zellkulturen konnten neben antidiabetogenen Effekten eine krebshemmende und immunmodulierende Wirkung der CLA nachgewiesen werden, so dass der Aufnahme von CLA durch Verzehr von Fleisch eine gesundheitsförderliche Wirkung zugesprochen wird (JAHREIS, 2004).

Wie im ersten Absatz dargestellt, sind in Abhängigkeit vom ausgewählten Teilstück eines Schlachtkörpers deutliche Variationen des Fett- und Wassergehalts zwischen den einzelnen Muskelpartien festzustellen. Zur Verdeutlichung finden sich in **Tabelle 1** die Gehalte an Protein, Fett und Wasser / 100 g ausgewählter Teilstücke von Rind und Schwein. Der gesamte Kaloriengehalt errechnet sich aus den Brennwerten von 17 kJ pro g Protein und 37 kJ pro g Fett. Kohlenhydrate sind

in Fleisch nur in Spuren enthalten und können daher vernachlässigt werden (SOUCI ET AL., 2000).

Material	Protein	Fett	Wasser	Energiegehalt in kJ / 100 g
Rindfleisch				
Hüfte	21,5 g	2,35 g	74,2 g	452
Brustkern	18,6 g	14,0 g	66,4 g	834
Subkutanes Fett	1,5 g	94,0 g	4,0 g	3570
Leber	19,5 g	3,38 g	70,3 g	547
Schwein				
Oberschale	22,2 g	1,9 g	74,8 g	448
Halsgrat	18,3 g	13,8 g	67,0 g	822
Subkutanes Fett	2,9 g	88,7 g	7,7 g	3331
Schweinezunge	16,0 g	10,3 g	72,8 g	653

Tabelle 1: Gehalte an Protein, Fett und Wasser / 100g in ausgewählten Teilstücken (SOUCI ET AL., 2000)

• NPN

Zur Stoffgruppe der originären Nicht-Proteinogenen-N-Verbindungen (NPN) werden neben freien Aminosäuren, die in frischem Muskelfleisch in geringen Mengen von etwa 0,1 bis 0,3 % zu finden sind, verschiedene stickstoffhaltige Biomoleküle gezählt. (BELITZ ET AL., 2001; ABERLE ET AL., 2001). Zu ihnen zählen Nucleotide wie Adenosin-Tri-Phosphat (ATP), Adenosin-Di-Phosphat (ADP), Inosin-Mono-Phosphat (IMP) und Harnstoff als Metabolit des Purinstoffwechsels, außerdem Carnitin, Cholin, Creatin und Creatin-Phosphat sowie Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid (NAD) und Nicotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (NADP) als Coenzyme der Atmungskette (BELITZ ET AL., 2001; ABERLE ET AL., 2001; KOOLMAN UND RÖHM, 1998).

Cholin und Carnitin stellen quartäre Ammoniumverbindungen dar, deren Anteile nach BELITZ ET AL. (2001) in frischem Fleisch zwischen 0,02 und 0,06 % bzw.

0,05 und 0,2 % betragen. Cholin als Baustein von Lecithin und wichtiges biogenes Amin gilt als essentieller Metabolit mit einem täglichen Bedarf von 0,5 g (N.N., 1999). Carnitin stellt einen wichtigen Co-Faktor des Fettstoffwechsels dar (KOOLMAN UND RÖHM, 1998).

Purine als Abbauprodukte der Nucleotide und Nucleinsäuren werden im humanen Stoffwechsel über Harnstoff zu Harnsäure verstoffwechselt (SEUSS-BAUM, 1998). Infolge von primären oder sekundären Purin-Stoffwechsel-Störungen kann es zu einer Hyperurikämie kommen, als deren Folge das Krankheitsbild der sogenannten „Gicht“ entsteht (N.N., 1999). Purine finden sich nach SEUSS-BAUM (1998) in Fleisch mit einem durchschnittlichen Gehalt von 150mg / 100g und in Innereien mit bis zu 920 mg / 100 g. Daher sollten diese stark purinhaltigen Gewebe von anfälligen Personen gemieden werden.

- **Kohlenhydrate**

Fleisch enthält eine nur sehr geringe Menge an Glykogen, dem tierischen Reservkohlenhydrat. Nach SEUSS-BAUM (1998) liegen die prozentualen Gehalte im Muskelfleisch bei 0,3 - 0,5 %. Höhere Anteile von etwa 5 % bis zu 10 % lassen sich lediglich in Lebergewebe nachweisen (SOUCI ET AL., 2000). Intermediäre Metaboliten und Endprodukte des Kohlenhydratzellstoffwechsels wie Laktat, Citrat, Acetacetat und andere Säuren sind analytisch nur in sehr geringen Mengen von unter 1 % nachzuweisen, Laktat nimmt davon den Großteil von etwa 0,8 % ein (ABERLE ET AL., 2001; BELITZ ET AL., 2001).

Der niedrige Ausgangsglykogengehalt der Muskulatur erfährt während der postmortalen Vorgänge einen Abbau zu Laktat (HONIKEL, 1998), so dass Fleisch keine Rolle als Kohlenhydratquelle spielt. Der rechtliche erlaubte Zusatz von Zuckerstoffen bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen erklärt die in derartigen Produkten höheren Kohlenhydratgehalte im Vergleich zu unbehandeltem Fleisch (SEUSS-BAUM, 1998).

- **Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente**

Alle drei Komponenten gehören zur Gruppe lebensnotwendiger Nahrungsbestandteile, da sie vom Körper nicht selbst synthetisiert werden können.

Vitamine lassen sich nach ESCHENBRUCH (1994) unterteilen in lipidlösliche (A, D, E, K) und wasserlösliche Vitamine (B- Vitamine, C, H, Pantothensäure, Folsäu-

re). Nach SEUSS-BAUM (1998) sind die zum Vitamin-B-Komplex gehörenden Vitamine B1, B2, B6 und B12 sowie Niacin, Pantothersäure und Folsäure in Fleisch in ernährungsphysiologisch hinreichenden Mengen vorhanden, gerade Schweinefleisch weist einen hohen Gehalt an Vitamin B1 (bis zu 900 µg / 100g) auf. Alle Lebensmittel tierischen Ursprungs sind bedeutende Lieferanten von Vitamin B12, dass durch pflanzliche Nahrung nicht in ausreichenden Mengen aufgenommen werden kann. In Abhängigkeit vom ausgewählten Teilstück sind z. B. bei Rind zwischen 1,0 µg / 100 g (Rinderfilet) und 65 µg / 100g (Rinderleber) enthalten (SOUCI ET AL., 2000), wobei alle Werte natürlichen Schwankungen unterliegen. Vitamin C ist in Fleisch nicht in nennenswerten Mengen vorhanden, lediglich in Lebergewebe sind etwas höhere Gehalte festzustellen. Diese bewegen sich bei rund 23 mg / 100 g bei Schweineleber und 32 mg / 100 g in Rinderleber (SEUSS-BAUM, 1998;SOUCI ET AL., 2000). Die in Fleischerzeugnissen höheren Werte an Ascorbinsäure sind durch den technologisch günstigen Zusatz von Ascorbinsäure und Ascorbaten als Pökelfarbstoff bedingt (WEBER, 2004).

Zu den fettlöslichen Vitaminen zählen die Vitamine A, D, E und K. Von diesen Vertretern sind in Muskelfleisch keine ernährungsphysiologisch bedeutsamen Mengen zu finden. Lediglich der hohe Gehalt an Retinol, der direkt bioverfügbaren Form von Vit. A, in Lebergewebe leistet mit einem Anteil von etwa 18 - 36 mg / 100 g einen bedeutenderen Beitrag zur menschlichen Versorgung (SEUSS-BAUM, 1998; SOUCI ET AL. 2000).

Mineralstoffe sind anorganische mikronutritive Elemente der menschlichen Ernährung, die zur Osmoregulation und als Bausteine verschiedener Gewebe notwendig sind. Zu ihnen zählen rund 22 Stoffe, darunter Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Chlorid, Schwefel (Sulfat) und Phosphor (Phosphat). Letztere werden als Hauptmengenanteil bezeichnet, da sie alle durch einen Mindestgehalt von jeweils 50 mg / kg Körpergewicht spezifiziert sind (SCHWEDT, 2005). Als Bestandteile von Hormonen, Enzymen und verschiedener Chromoproteine sind die Spurenelemente von Bedeutung, die aufgrund ihres Anteils von unter 50 mg / kg Körpergewicht als Minorelemente bezeichnet werden. Als essentiell für den Menschen gelten derArsen, Cobalt, Kupfer, Chrom, Fluor, Eisen, Iod, Mangan, Molybdän, Nickel, Selen, Silicium, Vanadium und Zink (SCHWEDT, 2005). Über die Bedarfswerte der Minorelemente lassen sich bislang keine allgemein anerkannten Aus-

sagen treffen (SCHOLZ, 1990). Aus diesem Grund soll auf den Gehalt an Spurenelementen in Fleisch nicht weiter eingegangen werden.

In Fleisch und Innereien sind nach SEUSS-BAUM (1998) ausreichende Mengen der für die menschliche Ernährung notwendigen Mineralstoffe enthalten. Die Gehalte von Natrium und Calcium sind mit durchschnittlich 50 - 80 mg / 100 g bzw. rund 10 mg / 100 g in Fleisch niedriger als beispielsweise in Milchprodukten, Getreiden und bestimmten Gemüsesorten (ROGOWSKI, 1981). Unbehandeltes Fleisch stellt somit ein relativ natriumarmes Lebensmittel dar. Ein deutlich erhöhter Natriumgehalt von bis 2 g / 100 g und mehr entsteht in Fleischerzeugnissen durch die Zugabe von Kochsalz und Pökelfstoffen während des Herstellungsprozesses.

Besonders in Hinblick auf die Eisenversorgung stellt Fleisch eine wichtige Quelle von myoglobin- und ferner hämoglobingebundenem Eisen dar. Das proteingebundene Eisen zeichnet sich gegenüber pflanzlichem Eisen durch eine deutlich höhere Bioverfügbarkeit aus. Dies beruht zum einen darauf, dass es als gut bioverfügbare Eisen-(II)-Verbindung vorliegt und weiterhin aufgrund seiner Proteinstruktur über einen spezifischen Rezeptor im Bürstensaum des Darms direkt aufgenommen werden kann. Daneben enthält Fleisch keine resorptionshemmenden Begleitstoffe, wie sie sich als Phytate oder Tannine in Gemüse und Getreide finden lassen (NIELSEN, 2001). Die hohe Bioverfügbarkeit von Eisen in Fleisch macht es damit zur wichtigsten Eisenquelle in der menschlichen Ernährung (ARNETH, 2004).

Einen allgemeinen Überblick über die durchschnittlichen Gehalte an Natrium, Kalium, Calcium und Eisen gibt **Tabelle 2**.

Material	Natrium	Kalium	Calcium	Eisen
Rind, Muskelfleisch	66 mg	358 mg	5,7 mg	2,1 mg
Rinderleber	116 mg	330 mg	6,1 mg	6,9 mg
Frankfurter Würstchen	1151 mg	154 mg	8,0 mg	1,8 mg
Salami	2084 mg	224 mg	35 mg	k. A.

Tabelle 2: Natrium-, Kalium-, Calcium- und Eisengehalte von Fleisch und Fleischerzeugnissen pro 100g (SOUCI ET AL., 2000); k. A. = keine Angaben

1.3.4 Bewertung aus ernährungsphysiologischer Sicht

Ernährung bedeutet die „Zufuhr und Aufnahme der zur Erhaltung des Lebens notwendigen“ Stoffe (N.N., 1998). KARG UND GEDRICH (2004) sehen in ihr ein zentrales Element menschlichen Lebens. Aufgenommen werden mit den jeweiligen Nahrungsmitteln vor allem Wasser und feste Makronährstoffe in Form von Protein, Fett, Kohlenhydraten, daneben Vitamine, Mineralstoffe und Spurenelemente als sogenannte Mikronährstoffe. Die Bedarfszahlen eines Menschen bezüglich seiner Versorgung mit Protein, Fett und Kohlenhydraten richten sich dabei nach Alter, Stoffwechsellage, körperlicher Aktivität und dem generell individuellen Grundumsatz (KOOLMAN UND RÖHM, 1998). Alle Nahrungsmittel tierischen Ursprungs stellen bezüglich einer modernen ausgewogenen Mischkost eine bedeutende Proteinquelle dar. So empfiehlt beispielsweise die Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE) eine Zufuhr von täglich 0,8 g Protein / kg Körpermasse zur bedarfsgerechten Versorgung eines gesunden Erwachsenen (DGE, 2005).

Lebensmittel werden nicht nur nach ihrem energetischen Gehalt beurteilt, von besonderer Bedeutung ist die biologische Verfügbarkeit, d. h. das Ausmaß und die Geschwindigkeit, mit der ein Nährstoff nach Aufnahme für seine normalen physiologischen Funktionen im Organismus verfügbar ist. Neben der Relation der Hauptnährstoffe zueinander ist die Nährstoffdichte als Verhältnis von Mikrostoffen zum

Energiegehalt ein weiteres Bewertungskriterium für Nahrungsmittel. Für die menschliche Ernährung spielen Fleisch und Fleischerzeugnisse durch das in ihnen enthaltene Aminosäurenmuster eine ernährungsphysiologisch wichtige Rolle (BIESALSKI UND GRIMM, 2004). Aminosäuren stellen die Grundbausteine zur körpereigenen Proteinbiosynthese dar und sind Ausgangsstoffe für vielfältige stickstoffhaltige Verbindungen wie Strukturproteine, Enzyme, Hormone, Antikörper, Neurotransmitter und Stoffwechsel-Intermediate (KOOLMAN UND RÜHM, 1998). Von den zwanzig Aminosäuren des körpereigenen Eiweiß kann der menschliche Organismus nur elf selbst bilden, d. h. die übrigen neun müssen als essentielle Aminosäuren mit der Nahrung in ausreichendem Maß aufgenommen werden, da ansonsten Mangelkrankungen drohen. In Stoffwechselsituationen, bei denen der metabolische Bedarf die endogene Syntheseleistung übersteigt, können auch nichtessentielle Aminosäuren unentbehrlich werden (BIESALSKI UND GRIMM, 2004).

Protein aus Fleisch zeichnet sich durch seinen hohen Gehalt an allen essentiellen Aminosäuren und ihrem ausgewogenen Verhältnis zueinander aus. Als Kenngröße für den Wert bestimmter Proteinstrukturen in der menschlichen Ernährung existiert der Begriff der „ biologischen Wertigkeit“ (BW). Ursprünglich wurde damit ausgedrückt, welche Menge eines zu prüfenden Lebensmittels für den Aufbau von 100 g Körperprotein benötigt wird. Als Referenzstandard dient Vollei- Eiweiß. Die biologische Wertigkeit eines Lebensmittels richtet sich dabei immer nach dem geringsten Mengenanteil einer essentiellen Aminosäure. Durch ihr spezifisches Aminosäurenmuster ist die biologische Wertigkeit von Fleisch und Fleischerzeugnissen im Vergleich mit pflanzlichen Nahrungsmitteln hoch anzusetzen (ARNETH, 2004). Zur Verdeutlichung findet sich in nachfolgender **Tabelle 3** eine orientierende Gegenüberstellung der biologischen Wertigkeit von Fleisch, Vollmilch und ausgewählten pflanzlichen Lebensmitteln.

Ei	Rindfleisch	Schweinefleisch	Vollmilch	Roggen; Reis	Erbsen	Blumenkohl
100	91	76	86	83	30	10

Tabelle 3: Biologische Wertigkeit von ausgewählten Lebensmitteln (modifiziert nach SEUSS-BAUM, 1998; ELMADFA UND LEITZMANN, 1998)

Hinsichtlich einer möglichen Gesundheitsgefährdung durch Fleisch und Fleischerzeugnisse werden immer wieder der Gesamtfettgehalt, der Cholesterolgehalt und das Fettsäure-Muster tierischer Lebensmittel diskutiert (ARNETH, 2004). Nach Aussage des Ernährungsberichts der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) 2004 liegen sowohl der Fettanteil an der Gesamt-Energiezufuhr als auch der Anteil gesättigter Fettsäuren in der Nahrung zu hoch. Daneben überschreitet die tägliche Aufnahme an Cholesterin gerade bei über 50-Jährigen oft deutlich die empfohlene Tagesmenge. Zur Verminderung des Risikos von Herz- Kreislauf- Erkrankungen wird daher von der DGE empfohlen, vermehrt auf fettarme Fleisch- und Milchprodukte zu achten und den Konsum von Butter und Eiern einzuschränken (DGE, 2004).

Wie sich aus den Ausführungen zur chemischen Zusammensetzung von Fleisch ersehen lässt, weist Fleisch je nach Tierart, ausgewähltem Teilstück oder Gewebe unterschiedliche Fettgehalte auf. Durch Bevorzugung entsprechend magerer Fleischstücke und Fleischerzeugnisse lässt sich die Fettaufnahme durch den Konsumenten durchaus steuern. Bei vernünftigen und ausgewogenen Konsum von Fleisch und Fleischerzeugnissen sollte dieser Verzehr daher nicht alleinig als Ursache für Hypercholesterolemie, Übergewicht, Arteriosklerose und anderer Herz-Kreislaufkrankungen verantwortlich gemacht werden.

1.3.5 Biochemische Veränderungen der Muskulatur post mortem

Energiestoffwechsel und pH-Wert

Das Nucleotid Adenosin-Tri-Phosphat (ATP) stellt den zentralen Energieträger für unterschiedlichste zelluläre Prozesse wie Muskelkontraktion, Transportvorgänge und Biosynthesen dar. Durch eine enzymgesteuerte Hydrolyse dieser Triphosphat-Einheit wird Energie von 30,5 kJ / mol freigesetzt, die direkt in energieverbrauchende Reaktionen eingebracht werden kann. Die dabei ablaufenden energieliefernden Reaktionen „ATP → Adenosin-Di-Phosphat (ADP) und Orthophosphat (P_i)“ oder „ATP → Adenosin-Mono-Phosphat (AMP) und Pyrophosphat (PP_i)“ sind umkehrbar. Dies erlaubt eine Regeneration des hydrolytischen Prozesses, sobald durch aerobe Oxidation von Molekülen Energie gewonnen wird (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998; KOOLMAN UND RÖHM, 1998). Dabei stellt ATP jedoch kein Speichermolekül der Zellen dar, sondern wird ständig in hohen Raten umgesetzt. Überschüssige Energie wird im Muskel in Form von Glykogen gespeichert und in Depofett umgewandelt, das sich in den Körperhöhlen und subkutan einlagert.

Muskelzellen gewinnen ihre Energie im lebenden Organismus durch die aerobe Oxidation von Biomolekülen, nämlich Proteinen, Fetten und Kohlenhydraten. Nach Degradation der Nährstoffe zu einzelnen Aminosäuren, Monosacchariden, Glycerol und singulären Fettsäuren erfolgt der weitere Abbau zu intermediären Metaboliten, die unter Gewinnung von ATP in Acetyl-Coenzym A decarboxyliert und dieses anschließend im Citratzyklus vollständig weiter oxidiert wird. Unter Vorhandensein von Sauerstoff übertragen die Reduktionsäquivalente NAD^+ (Niacin-Adenin-Dinucleotid) und FAD (Flavin-Adenin-Dinucleotid) Elektronen; durch die abschließende Phosphorylierung kann ATP gebildet werden. Dabei entstehen unter Sauerstoffverbrauch etwa 36 ATP-Moleküle / Molekül Glucose. Voraussetzung für eine ausreichende Energieversorgung der Zelle mit ATP stellt somit das Vorhandensein von Sauerstoff dar (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998; VOET UND VOET, 1992). Eine Besonderheit im Energiestoffwechsel der Muskelzelle stellt das Creatinphosphat (CP) dar. Dieses energiereiche Molekül entsteht bei hohen ATP-Gehalten enzymgesteuert aus Creatin unter Abgabe einer randständigen Phosphorylgruppe des ATP. Die Reaktion ist bei hohem Energieverbrauch um-

kehrbar, somit kann CP als Speicherform von Energie aufgefasst werden. Die Konzentration an ATP beträgt nach HONIKEL UND SCHWÄGELE (1998) im ruhenden Muskel rund 4 mM / g, die von CP rund 25 mM / g.

Bei der Schlachtung von Tieren kommt der gesamte Blutkreislauf zum Erliegen, der in einem Sauerstoffmangel aller Körpergewebe resultiert. In den Muskelzellen entfällt damit die Möglichkeit zur Generierung von ATP durch oxidative Phosphorylierung, als Energiespeicher werden daher Glykogen und CP herangezogen. Nach Erschöpfung des CP-Potentials steht schließlich nur noch der Weg der anaeroben Glykolyse zur Energieaufrechterhaltung offen, bei der 3 mol ATP, Laktat und Wasserstoffionen entstehen (BINKE, 2004). Während dieser Abbauvorgänge entsteht aus den Adeninnucleotiden über Inosin-5-monophosphat und Inosin das Hypoxanthin (BINKE, 2004), dem Bedeutung bei der Aromabildung durch Fleischreifung zugesprochen wird (PRÄNDL ET AL., 1988). Das im anaeroben Stoffwechsel anfallende Laktat führt zu einem Abfall des pH-Werts der Muskulatur, da ein Transport des Laktats in die Leber und die dort in vivo stattfindende Resynthese zu Glucose aufgrund des sistierenden Kreislaufs nicht mehr erfolgen kann. Dieser Vorgang lässt nach etwa 24 h den pH-Wert des Muskels von etwa 7,0 bis 7,2 im lebenden Tier auf Endwerte von 5,8 bei Schweinen bis 5,4 bei Rindern sinken (BINKE, 2004).

Der Abfall und Endwert des pH-Wertes der Muskulatur werden nach PETERS UND SIELAFF (1996) beeinflusst vom Ausgangsglykogengehalt des Gewebes vor der Schlachtung, von Schlachtkörper- und Umgebungstemperatur, physiologischen Stoffwechsel-Varianten, Ausblutungsgrad und dem Gehalt von Fett- und Bindegewebe im Muskelfleisch. Durch Elektrostimulation lässt sich vor allem bei Rinderschlachtkörpern das Absinken des pH-Wertes schon während der Stimulation um 0,3 bis 0,6 pH-Wert-Einheiten absenken (DAVEY UND GILBERT, 1976). Verwendet werden bei Rinderschlachttierkörpern unterschiedliche Verfahren der Stimulierung, die mit Hoch- oder Niedervoltspannung während des Entblutevorgangs einen beschleunigten pH-Wert-Abfall einleiten. Bei Schweineschlachtkörpern führt der Einsatz von Elektrostimulation zu Qualitätsabweichungen in Form von PSE-Fleisch und wird daher nicht kommerziell angewendet (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998; DEISS-HEMMETER, 2005).

Rigor mortis

Als direkte Folge des ATP-Mangels in der Muskelzelle kommt es zur Bildung eines Aktomyosin-Komplexes, bei dem sich die Aktin- und Myosinfilamente irreversibel ineinander schieben. Der Grund liegt in der nicht mehr vorhandenen „Weichmacher-Funktion“ des ATP, verstärkt durch den ausbleibenden Rücktransport der Ca^{2+} -Ionen ins Sarkoplasmatische Retikulum (BINKE, 2004).

Es tritt dann der Zustand der Totenstarre, der „Rigor mortis“ ein, der ab einer ATP-Konzentration von $1 \mu\text{mol} / \text{g}$ Gewebe und einem pH-Wert von 5,9 und niedriger zu beobachten ist (BINKE, 2004). HONIKEL UND SCHWÄGELE (1998) gehen von einer Reduktion des vorhandenen ATP im Gewebe um 75 - 80 % aus, um einen Aktomyosin-Komplexes entstehen zu lassen. Erkennbar ist der Rigor mortis durch die deutliche Verringerung der Dehnbarkeit der Muskulatur. Er tritt in Abhängigkeit von Tierart, Teilstück, Muskelzustand und Lagertemperatur zwischen 1 und 30 h p. m. ein (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998). Bei Rinderschlachttierkörpern ist nach durchschnittlich 10 - 24 h, bei Schweineschlachttierkörpern nach durchschnittlich 4 - 18 h und bei Geflügelkarkassen nach etwa 2 - 4 h der Eintritt des Rigor zu beobachten. Dieser bleibt erhalten bis im Laufe der Fleischreifung proteolytische Muskelzellenzyme die fibrillären Strukturen aufbrechen (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998).

Nach der Schlachtung können durch ungünstige Temperaturführung der Kühlung Kontraktionsvorgänge der Muskulatur ausgelöst werden, die zu Muskelverkürzungen in Form von so genanntem „cold shortening“, „rigor shortening“ oder Taurigor führen. Die Ursache dieser Kälteverkürzung ist in einem zu schnellen Abkühlen des schlachtfrischen Fleisches zu sehen, bei dem nach ABERLE ET AL. (2001) eine Temperatur unterhalb von $+ 15^{\circ}\text{C}$ bis $+ 16^{\circ}\text{C}$ vor Eintritt des Rigor mortis erreicht wird. Als Folge der niedrigen Temperatur resultiert ein verlangsamter Rücktransport von Ca^{2+} -Ionen ins Sarkoplasmatische Retikulum. Der entstandene hohe Calcium-Spiegel führt zur Kontraktion der Filamente, die sich schließlich so stark ineinander schieben, dass die Z-Linie der Sarkomere durchbrochen wird und die Myosinfilamente an die Aktinfilamente des benachbarten Sarkomers binden (BINKE, 2004). Diese Kontraktion führt zur Verfestigung der Muskulatur und ist Ursache erhöhter Tropfsaftverluste. Nach HONIKEL UND SCHWÄGELE (1998) und

ABERLE ET AL. (2001) treten Längenverkürzungen der Muskulatur von bis zu 50 % bis 60 % der Ausgangslänge auf. „Cold shortening“ ist vor allem in der roten Muskulatur von Rind, Schaf und Wildtieren zu beobachten, da bei diesen Tieren der Abbau der Glykogenreserven p. m. relativ langsam verläuft und daher bei Eintritt des kritischen Temperaturbereichs noch nicht abgeschlossen ist.

Als wirksame Maßnahme zur Vermeidung von Kälteverkürzung wird oft die Elektrostimulation der Schlachttierkörper während der Entblutephase eingesetzt. Durch gesteuertes Anlegen von Hoch- oder Niedervolt- Spannung am Schlachttierkörper werden in der Muskulatur Kontraktionen hervorgerufen, die eine beschleunigte Glykogenolyse und damit einen schnelleren Eintritt des Rigor mortis herbeiführen (BINKE, 2004; ABERLE ET AL., 2001). Es existieren verschiedene Verfahren, bei denen Spannungspulse oder Wechselstrom mit einer Spannung zwischen 20 und 3000 Volt für die Dauer von etwa 30 s bis 60 s angelegt werden (BINKE, 2003). Weitere positive Effekte der Elektrostimulation werden in einer Zunahme der Zartheit, in verbesserter Haltbarkeit und ausgeprägterem Aroma des Fleisches gesehen (ABERLE ET AL., 2001; MIKAMI ET AL., 1993). Ein dem „cold shortening“ ähnlicher Mechanismus führt beim „rigor shortening“ ebenfalls zur Muskelverkürzung. Bei Temperaturen über + 20°C kann ebenfalls eine Deaktivierung der sarkoplasmatischen Calcium-Transportmechanismen eintreten, die durch gleichzeitig bestehendem ATP-Mangel und niedrigen pH-Wert begünstigt wird (HONIKEL, 1998 A).

Der sogenannte Taurigor stellt eine verstärkte Muskelkontraktion dar, die beim Auftauen zu schnell tiefgekühlten Fleisches zu beobachten ist. Durch Einfrieren noch schlachtwarmer Teilstücke werden die glykolytischen postmortalen Veränderungen unterbrochen, die üblicherweise zum Rigor mortis führen. Beim Gefrieren treten indes durch Kristallbildung der flüssigen Zellbestandteile Beschädigungen der Zellmembranen auf, die während des Auftauens zur Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen führen und dadurch eine Muskelkontraktion hervorrufen. Diese Form der Muskelverkürzung kann ab Temperaturen von - 1°C auftreten und einen Tropfsaftverlust von bis zu 8 - 12 % innerhalb weniger Stunden verursachen. Die Zähigkeit des aufgetauten Fleisches wird als extrem eingestuft (HONIKEL, 1998 A).

Abweichende Fleischqualitäten

- PSE-Fleisch

Das sogenannte PSE-Syndrom (engl. pale, soft, exsudative = blass, weich, wässrig) stellt eine Abweichung der Fleischqualität dar, die vermehrt bei Schweinen mit genetischer Disposition zur Stressempfindlichkeit zu finden ist. Bei Rindern tritt PSE-Fleisch nur vereinzelt auf. Die Selektion auf hohe Futtermittelverwertung und geringen Fettansatz hat bei entsprechenden Schweinen nach HONIKEL UND SCHWÄGELE (1998) zu einer hohen Sensibilität gegenüber ungewohnter Belastung geführt, wie sie gerade im Rahmen von Transport, Aufstallung und Betäubung beim Schlachtprozess auftritt. Als Folge der Stressempfindlichkeit entsteht bei disponierten Tieren eine Entgleisung des Muskelstoffwechsels mit Steigerung glykolytischer Abbauvorgänge. Neben der Degradation der ATP- und Creatinphosphatvorräte kommt es unter verstärkter Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen zu einem Anstieg der Körpertemperatur auf Bereiche von + 40°C bis zu + 42,5°C (BINKE, 2004). Diese Vorgänge führen zu einer beschleunigten und verfrüht einsetzenden anaeroben Glykolyse, die innerhalb von 45 min einen Abfall des pH-Werts in der Muskulatur auf Endwerte von 5,5 und niedriger nach sich zieht. Die starke Säuerung durch anfallendes Laktat bei gleichzeitig erhöhter Temperatur lässt die löslichen sarkoplasmatischen Proteine denaturieren und führt zur Beschädigung von Zellmembranen und -strukturen. Diese Vorgänge haben einen vermehrten Austritt von Zellwasser und damit eine verminderte Wasserbindung wie auch die weiche bis mürbe Konsistenz von PSE-Fleisch zur Folge. Daneben ist durch die glykolytischen Prozesse ein frühzeitiger Eintritt des Rigor mortis bei betroffenen Schlachttierkörpern zu beobachten. Auch der entstehende typische helle Farbton bei PSE-Fleischigkeit hat seine Ursache in der anormalen Säuerung. Durch die Präzipitation der sarkoplasmatischen Proteine auf den Muskelfibrillen entsteht eine veränderte Lichtstreuung und -reflektion, die den Eindruck von Blässe erzeugt (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998).

Stressempfindliche Schweine können mittlerweile anhand ihres Genotyps (Halothan- Gen und Rendement Napole (RN-)-Gen positive Träger) erkannt und züchterisch selektiert werden (BINKE, 2004). Die Prädisposition zur Entwicklung von Hyperthermie wird dabei autosomal rezessiv vererbt, Träger und Konkurrenten zeigen unterschiedlich stark ausgeprägte Formen der PSE- Fleischigkeit. Das RN- Gen stellt vor allem in bestimmten Zuchtlinien der Hampshire-Rasse einen uner-

wünschten genetischen Faktor dar, der zu so genanntem „acid meat“ führt (WARRIS, 2000). Nach einem anfangs normal verlaufenden pH-Abfall kommt es 24 Stunden p. m. zu einer erheblichen Säuerung des Fleisches, bei der pH-Werte von deutlich unter 5,5 eintreten. Als Ursache ist hier ein genetisch fixierter deutlich erhöhter Ausgangs-Glykogengehalt der Muskulatur anzusehen (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998). Grundsätzlich kann das Auftreten des PSE-Syndroms durch einen tiergerechten und schonenden Umgang bei Transport und Betäubung, durch schnelles Entbluten und rasche Kühlung unter + 35°C innerhalb von 90 min vermindert werden (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998).

- DFD- und DCB-Fleisch

Die abschlägige Beschaffenheit von DFD-Fleisch (engl. dry, firm, dark = trocken, fest, dunkel) als leimiges, trockenes, auffallend dunkles und fade schmeckendes Fleisch entsteht nach WARRIS (2000) durch eine mangelhafte Fleischsäuerung, mit hohen End-pH-Werten von über 6,2. Hauptsächlich bei Rindern, insbesondere bei Bullen in guter Mastkondition, kann es durch die Umstände des Transports und der Aufstallung vor der Schlachtung zu Erschöpfungszuständen kommen, die in einem fast vollständigen prämortalem Verbrauch der Glykogen-Muskelreserven resultieren (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998). Infolgedessen tritt p. m. eine nur ungenügende Säuerung durch anaerobe Glykolyse mehr ein, der pH-Wert des Muskels sinkt verzögert und nur noch geringfügig ab (BINKE, 2004). Die resultierenden pH-Wert von über 6,0 bis 6,2 führen zu den abweichenden Eigenschaften des DFD-Fleischs. Zum einen entsteht dadurch die charakteristische dunkle Farbe, da bei diesen pH-Werten die Sauerstoffbindung des Myoglobins stärker ausgebildet ist. Daneben bildet sich durch die stärkere Quellung der Muskelfibrillen eine gute Wasserbindungsfähigkeit aus, die auch die feste Beschaffenheit der DFD-Muskulatur bedingt. Die hohe Wasserbindungsfähigkeit in Kombination mit den erhöhten pH-Werten bewirken die deutlich reduzierte Haltbarkeit von DFD-Fleisch (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998).

DCB-Fleischigkeit (engl. dark cutting beef) kann als eine Variante der DFD-Fleischigkeit angesehen werden. Bei dieser Qualitätsabweichung weisen einzelne Muskelpartien im Anschnitt eine dunkleres Erscheinungsbild auf. Vor allem in der Muskulatur der Hintergliedmaßen ist das Auftreten von DCB-Fleisch häufiger bei

Jungbullen zu beobachten, die langandauernden Überlastungen vor der Schlachtung ausgesetzt waren (HONIKEL UND SCHWÄGELE, 1998).

1.3.5.1 Fleischreifung

Die Fleischreifung, umgangssprachlich auch als „Abhängen“ bezeichnet, trägt ursächlich zur Zartheit und Aromabildung des Fleisches nach der Schlachtung bei. Bereits kurz nach dem Schlachten setzen verschiedene Vorgänge ein, die als Beginn der Reifung anzusehen sind (HONIKEL, 2004).

HONIKEL (2004) gliedert die Reifung dabei in zwei Teilabschnitte. In der ersten Phase, die in der englischen Literatur als „conditioning-phase“ bezeichnet wird, laufen alle die Vorgänge der muskelzellinternen Energie-Erschöpfung ab, deren Resultat das Erreichen des End-pH-Wertes und der Eintritt des Rigor mortis darstellt. Dieser Rigor wird als Zustand der höchsten Zähigkeit angesehen. In der „conditioning-phase“ kann es durch falsche Temperaturführung der Kühlung zum „cold shortening“ und „rigor shortening“ kommen. In der zweiten Phase der Reifung, auch als „ageing“ bezeichnet, trägt eine Vielzahl an Proteasen zur zunehmenden Zartheit des Fleisches bei (HONIKEL, 2004). Kathepsine, Calpaine und weitere als „multicalytic proteinases“ (MCP) bezeichnete Proteinase werden als zelleigene Cysteinproteinase für den proteolytischen Abbau myofibrillärer Proteine verantwortlich gemacht, der die Zartheit des Fleisches entwickelt. Ihre Aktivität erhalten die Calpaine durch den ansteigenden Ca^{2+} -Spiegel der Muskelzelle post mortem. Es wird im allgemeinen davon ausgegangen, dass diese Calpaine vorrangig die Strukturen der Z-Linien abbauen, daneben auch die cytoskelettalen Stützproteinen Titin und Desmin. Die Gruppe der Kathepsine umfasst lysosomale Enzyme, deren pH-Optimum im Bereich des End-pH-Werts der Muskulatur von etwa 5,5 liegt. Durch die bei abfallendem pH-Wert zunehmende Durchlässigkeit der lysosomalen Membranen werden die Kathepsine freigesetzt und spalten als Proteasen spezifisch die Aminosäurenketten der Fleischproteine, Kathepsin-D im Bereich der Asparaginsäure, Kathepsin-L, -B und -D bei Cystein (HONIKEL, 2004). Kennzeichnend für die einzelnen Schlachttierspezies sind Unterschiede hinsichtlich der Konzentration der einzelnen Kathepsine in der Muskulatur. Dabei

weisen die einzelnen Kathepsine unterschiedlich hohe enzymatische Aktivitäten auf, womit sich die besonderen spezifischen Reifezeit der einzelnen Spezies erklären lassen. So enthält rasch , d. h. innerhalb von rund 36 Stunden reifendes Geflügelfleisch vorwiegend hochaktives Kathepsin-D und -L. In der Muskulatur von Rind- und Schwein sind dagegen vorwiegend Kathepsin-B und -D enthalten, die eine geringere enzymatische Aktivität besitzen. Die B- und D-Kathepsine in Schweinefleisch weisen zudem eine doppelt so hohe Aktivität wie die in Rindfleisch auf. Aus diesen Sachverhalten lassen sich die, gerade im Vergleich zu Geflügel, längeren Reifezeiten von mindestens 60 Stunden bei Schweinefleisch und von mindestens 14 Tagen bei Rindfleisch erklären (HONIKEL, 1996). Welchen Beitrag die Proteasen im Einzelnen zur Reifung des Fleisches leisten, ist in Fachkreisen noch umstritten. TATSUMI UND TAKAHASHI (2003) halten die Freisetzung von Calcium für die eigentliche Ursache der Reifungsvorgänge. Mit Sicherheit ist festzustellen, dass bei den üblichen Kühltemperaturen $\leq + 7^{\circ}\text{C}$ keine nennenswerte Spaltung der Aktin- und Myosinfilamente stattfindet (HONIKEL, 2004; ABERLE ET AL., 2001). Die Zunahme der Zartheit scheint somit vor allem im Abbau der cytoskelettalen Proteinstrukturen der Muskelzellen begründet zu sein.

Die Zartheit oder Zähigkeit von Fleisch korreliert darüber hinaus direkt mit dem Gehalt an Bindegewebe und seiner Struktur. Hohe Gehalte an Kollagen und die mit zunehmendem Schlachtalter verstärkte Quervernetzung des Kollagens bedingen eine als zäh empfundene Konsistenz des Fleisches. Durch die extrazelluläre Lage des Stützgewebes kann nach HONIKEL (2004) ein Abbau der Kollagenstrukturen durch Proteasen zudem erst nach einem Zeitraum von 10 - 14 Tagen erwartet werden und sollte daher bei der Wahl der Reifedauer berücksichtigt werden.

2 Fleischgewinnung

2.1 Schlachtung von Rindern und Schweinen

Der Schlachtvorgang bei Rindern und Schweinen lässt sich mit Hinblick auf die wichtigsten Arbeitsschritte grundsätzlich gliedern in Betäubung, Entbluten, Enthäuten beziehungsweise Brühen und Enthaaren, Ausweiden und Spalten der Tierkörper. In nachfolgenden Ausführungen zur Schlachtung und Zerlegung soll lediglich eine schematische Darstellung der Abläufe gegeben werden. Für eine ausführliche Darstellung der einzelnen Arbeitsabläufe und Schlachttechnologien wird auf die im Literaturverzeichnis aufgeführten Literaturangaben verwiesen.

Anschließend an den Transport zur entsprechenden Schlachtstätte und ggf. Aufstallung werden die Tiere nach Erteilung der Schlachterlaubnis der Betäubung zugeführt, bei der nach Vorgabe der Tierschutz-Schlachtverordnung (TierSchIV) die für die jeweilige Spezies übliche Betäubung erfolgt. Schweine werden meist durch elektrische Durchströmung oder Kohlendioxid-Exposition betäubt, bei Hauschlachtungen sind auch Bolzenschuss oder als Nottötung der Kugelschuss erlaubt. Bei Rindern ist in Deutschland als Betäubungsverfahren der Bolzenschuss, Elektrobetäubung und im Fall der Nottötung auch der Kugelschuss zulässig. Bei beiden Spezies folgt dem Betäuben der sofortige Blutentzug, bei dem das Entbluten im Liegen oder bei Rindern zumeist im Hängen vonstatten geht.

Nach dem Entbluten werden die Schweineschlachtkörper gebrüht und enthaart, anschließend die Augen, Klauen und Ohrausschnitte entfernt. Nach einem Abflammen der Restborsten folgt ein Wasch- und Poliervorgang, an den sich die Eviszeration und Herrichtung des Schlachtkörpers anschließt. Im ersten Eviszerationsschritt werden nach Bauchschnitt zunächst das Magen-Darmpaket sowie die Geschlechtsorgane vollständig entnommen, anschließend wird durch Aufspalten des Brustbeins die Brusthöhle eröffnet und das Geschlinge entfernt. Als nächstes erfolgt die Spaltung der Schlachtkörper in zwei Hälften, Tiere unter 25 kg sind von dieser Spaltung ausgenommen. In der Rinderschlachtung folgt auf das Absetzen der unteren Gliedmassen und des Kopfes zunächst der Hautabzug. Nach Ent-

nahme des Magen-Darmpakets, des Geschlechtapparates und der Organe der Brusthöhlen erfolgt hier ebenfalls die Längsspaltung der Schlachtkörper, ausgenommen sind Tiere unter 12 Monaten.

Bei der Schlachtung beider Spezies schließt sich an die Spaltung der Schlachttierkörper die amtliche Fleischuntersuchung nach den Vorgaben der Fleischhygiene-Verordnung (FIHV) an. Nach Abschluss des gesamten Schlachtprozesses werden die Hälften der Rinder- und Schweineschlachtkörper einer Klassifizierung unterworfen und anschließend der Kühlung zugeführt. Je nach angestrebten Schlachtzahlen existieren unterschiedliche Schlachtsysteme, die von Einzeltierschlachtung bis hin zum industriellen Fließbandschlachten mit einem hohen Grad an Automation und Standardisierung reichen (PRÄNDL ET AL., 1988).

Zur Verdeutlichung der Abläufe in der Schlachtung dient das Fließbandschema der folgenden **Abbildung 1**

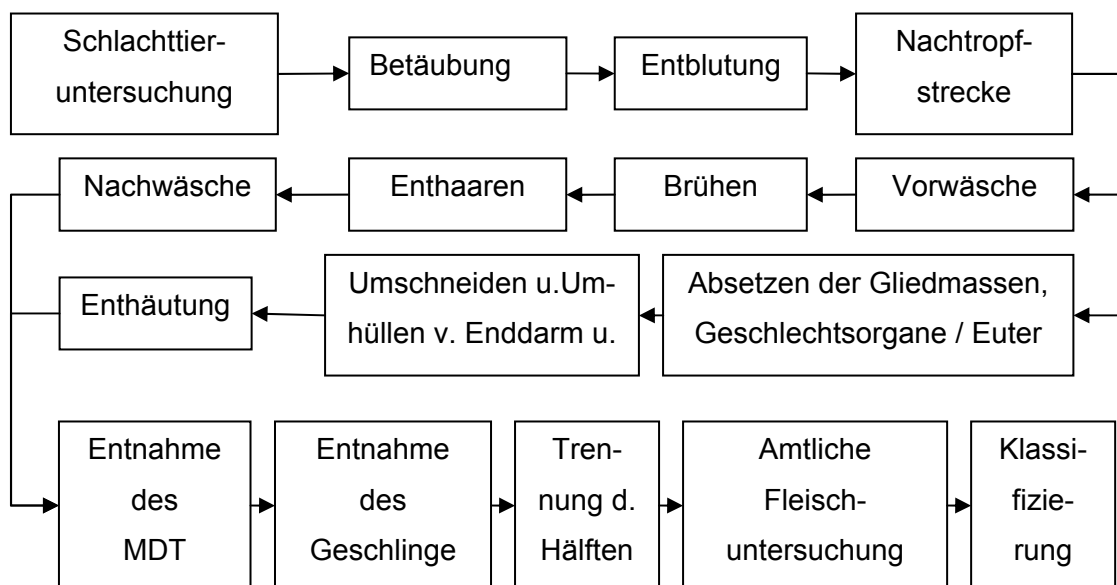


Abbildung 1: Schema der Rinder- und Schweineschlachtung, modifiziert nach SEIDLER (1996); MDT = Magen-Darm-Trakt

2.2 Zerlegung

Im Anschluss an die Schlachtung, Fleischuntersuchung, Klassifizierung und vollständige Durchkühlung auf die erforderliche Innentemperatur von + 7°C erfolgt meist die weitere Zerlegung der Schlachttierhälften. Üblicherweise werden die Schlachttierhälften zunächst in Viertel und anschließend in kleinere Teilstücke zerlegt. Teilweise wird die Abviertelung der Rinderschlachtkörper bereits vor Einschub in die Kühlräume oder vor einem möglichen Transport vorgenommen, um ein schnelleres Durchkühlen der Schlachtkörper zu erreichen. Als nächster Schritt folgt die weitere Zerteilung der Schlachtkörperteile in Fleischstücke, wobei die Knochenanteile in der Regel entfernt werden. Dabei bestimmen neben den anatomischen Voraussetzungen der Schlachttierspezies, Vermarktungsformen und Verwendungszweck auch traditionell-handwerkliche Ausprägungen die teilweise stark variierende Schnitfführung in der Zerlegung (PRÄNDL ET AL., 1988). So existieren in Deutschland verschiedene Empfehlungen zur Schnitfführung, die höchste Qualität in der Zerlegung garantieren sollen. Dazu zählt beispielsweise die „DFV-Schnitfführung“, die die Vorgaben des Deutschen Fleischer Verbandes repräsentiert (FUCHS UND FUCHS, 1989).

Grundsätzlich kann bei der Zerlegung in Grob- und Feinzerlegung unterschieden werden, deren Normierung im deutschsprachigen Raum zu einem unterschiedlichen Grad vollzogen wurde (PRÄNDL ET AL., 1988). Primäres Augenmerk wird in der Zerlegung auf eine möglichst wirtschaftliche Verwertung des Schlachtkörpers in verkaufsfähiges Frischfleisch und in Verarbeitungsfleisch gelegt, letzteres wird zur Herstellung von Fleischwaren weiter verwendet. Die Darstellung der grundlegenden Technologie, einschließlich Ausgangsmaterialien, Zutaten und Verarbeitungsschritten bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen verschiedenster Art ist im Rahmen dieser Arbeit nicht ursächlich von Bedeutung und soll daher nicht weiter erläutert werden.

Grundsätzlich erfordert die Herstellung von Roh-, Koch- und Brühwürsten sowie von Erzeugnissen aus gewolftem oder zerkleinertem Fleisch (Hacksteak, Hackfleisch, Hamburger etc.) eine entsprechend zweckdienliche Zusammensetzung der

Ausgangsmaterialien, um die produktspezifischen Rezepturen unter Beachtung der technologischen Anforderungen und der Vorgaben der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse erstellen zu können. Zur rezepturoptimierten Spezifikation von Verarbeitungsfleisch hat sich in Deutschland die Standardisierung nach „GEHA“-Prinzipien bewährt. Nach diesen Vorgaben standardisierte Mischungen von Verarbeitungsfleisch zeichnen sich durch bestimmte konstante Verhältnisse von Fett und Magerfleisch aus, die es erlauben, diese Mischungen ohne weitere Veredelungsprozesse unverzüglich weiter zu verarbeiten. Die GEHA-Standardisierung unterscheidet dabei anhand des Verhältnis von Magerfleisch zu Fett unterschiedliche Standards aus Rindfleisch, Schweinefleisch und Mischungen daraus. Für Rind existieren beispielsweise Standard R1 bis R12 mit abgestuften Magerfleisch- / Fett- Relationen zwischen 90 / 10 und 50 / 50. Für Schweinefleisch werden ebenfalls 12 Standards S1 bis S12 mit ähnlichen Magerfleisch- / Fett- Abstufungen unterschieden (HACK ET AL., 1976).

3 Substantielle Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen

3.1 Rechtliche Voraussetzungen

Nach HILSE (1996) und ARNETH ET AL. (2004) ist die Grundlage für die Schaffung des ersten deutschen Lebensmittelgesetzes 1879 darin zu suchen, dass zu diesen Zeiten Irreführung und Täuschung übliche Verfahrensweisen im Verkehr mit Lebensmitteln aller Art waren. Die Verfälschung von Lebensmitteln blühte in einem solchen Ausmaß, dass eigens Zeitschriften aufgelegt wurden, um die Urheber aufgedeckter Vergehen namentlich bekannt zu machen.

Auch heutzutage machen gelegentlich noch Gerüchte von Sägespänen und ähnlichen „Zusatzstoffen“ in Lebensmitteln in Kreisen argwöhnischer Verbraucher die Runde. Die Gesetzgebung des § 5 und § 11 LFGB verbieten solche Praktiken der Gesundheitsgefährdung oder Irreführung und Täuschung bei der Herstellung und beim Inverkehrbringen von Lebensmitteln eindeutig. Ob dennoch eine gewisse Dunkelziffer an verfälschten oder geschönten Lebensmitteln den Weg auf den Tisch des Verbrauchers findet, steht zur Frage. Der Jahresbericht 2004 des Bayerischen Landesuntersuchungsamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL Bayern) vermeldet für untersuchte Fleischerzeugnisse und Wurstwaren folgende Beanstandungsquoten (beanstandet nach §§ 8, 17 des ehemaligen LMBG):

- Fleischerzeugnisse warmblütiger Tiere: bei 1.462 untersuchten Proben 40,5 % Beanstandungen wegen irreführender Bezeichnung oder Verstoß gegen Kennzeichnungsvorschriften; Produkt war nachgemacht, wertgemindert oder geschönt
- Wurstwaren: bei 2.999 untersuchten Proben 21,2 % Beanstandungen wegen irreführender Bezeichnung oder Verstoß gegen Kennzeichnungsvorschriften; Produkt war nachgemacht, wertgemindert oder geschönt

Im Rahmen der amtlichen Lebensmittelkontrolle und betrieblicher Eigenkontrollen muss die einwandfreie Beschaffenheit von Fleisch und Fleischerzeugnissen un-

eingeschränkt sichergestellt werden. Dabei stehen vor allem die hygienische und substantielle Qualität der Rohwaren und Erzeugnisse im Fokus der Beprobungen. Zahlreiche Überlegungen und Ansätze haben dazu geführt, die Vorgaben zu den Ausgangsmaterialien und Makrobestandteilen von gewerblich hergestellten Fleischerzeugnissen so detailliert zu gestalten, dass eine Verfälschung oder Streckung durch minderwertige Materialien anhand ausgesuchter Parameter und dazugehöriger Grenzwerte festzustellen ist.

So finden sich erste Ansätze zur Reglementierung der Zusammensetzung von Fleischerzeugnissen bereits 1937 in der Verordnung über Wurstwaren. Die ursprünglich wertorientierte Absicht, Fleischwaren primär aus Fleisch und nur geringen Mengen an Zusatzstoffen herstellen zu lassen, konnte allerdings wegen der knappen Versorgungslage der Kriegsjahre nicht konsequent durchgesetzt werden. So durften verschiedene Gemüsesorten und Getreidederivate ab 1943/44 den Fleischwaren wieder zugesetzt werden (HILSE, 1996). Staatliche Reglementierungen hoben diese Erlaubnis 1959 auf, traditionelle Rezepturen mit althergebrachtem Zusatz anderer Grundnahrungsmittel wie Mehl oder Gemüse durften solche Materialien indes weiterhin verwenden. Dem Grundsatz der Erstellung von Qualitätsnormen wurde schon 1956 durch die „Richtlinien für die Qualität von Fleischerzeugnissen und deren Kenntlichmachung“ durch Interessenverbände der Fleischwirtschaft und Lebensmittelkunde Rechnung getragen. Mangelnde Vereinheitlichungen der Richtlinien auf Bundesebene führten jedoch zu einer Vielzahl regional ungleicher Bewertungskriterien, die für Hersteller und Verbraucher eine ernsthafte Wettbewerbsverzerrung mit sich brachte. Dieses Ungleichgewicht wurde schließlich in Anlehnung an schweizerisches und österreichisches Lebensmittelrecht mit dem „Gesetz zur Neuordnung und Bereinigung des Rechts im Verkehr mit Lebensmitteln, Tabakerzeugnissen, kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfsgegenständen“ vom August 1972 bereinigt (DEUTSCHES LEBENSMITTELBUCH, 2003). Auf Grundlage des § 33 dieses über 30 Jahre gültigen Lebensmittel- und Bedarfsgegenstände-Gesetz (LMBG), jetzt ersetzt durch § 64 LFGB, wurden und werden in den Leitsätzen für Fleisch und Fleischerzeugnisse die Verkehrsbezeichnung, qualitative Normen und ihre Ausgangsmaterialien von der Deutschen Lebensmittelkommission festgesetzt. Ihr Beitrag zum Schutz des Verbrauchers kann aus oben angeführten Gründen durchaus betont werden.

Als Kritikpunkt an ihrem Status werden allerdings durch die Lebensmittelproduzenten immer wieder die verzögerte Anpassungsfähigkeit an nachfragegesteuerte Markttendenzen genannt, die zu Fehlgutachten führe und einer größerer Produktvielfalt entgegenstehe (MADLUNG, 2001).

Die einheitlichen Bemessungsgrundlagen für qualitative und quantitative Zusammensetzung von Fleischerzeugnissen wurden auf Grundlage der Arbeiten von Kotter festgelegt (HILSE, 1996). Der von Kotter unterbreitete Vorschlag zur Einführung der rechnerischen Größe und eines Mindestgehalts an Bindegewebeeisweiß-freiem Fleischeisweiß - BEFFE - in Fleischerzeugnissen erlaubt die Festsetzung der Mindestmengen an wertbestimmenden schieeren Muskelfleisch, die von den Herstellern nicht unterschritten werden dürfen. Nach Definition der Lebensmittel-leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse wird der BEFFE-Gehalt aus folgenden Herleitungen berechnet:

- Leitsatz 1.72
BEFFE = Gesamteisweiß – (Fremdeisweiß + fremde NPN + Bindegewebeisweiß)
- Leitsatz 1.7
Gesamteisweiß = Summe aller Stickstoffverbindungen
- Leitsatz 1.74
Bindegewebeisweiß = aus Bindegewebe stammende Eisweißstoffe
(chemisch repräsentiert durch Hydroxyprolin x 8)
- Leitsatz 1.71
Fleischeisweiß (FE) = Gesamteisweiß – (Fremdeisweiß + fremde NPN)
- Leitsatz 1.75
Fremdeisweiß = Eisweiß, das nicht aus Schlachttierteilen stammt
(Ei, Milch- oder Sojaproteine, sonstige Hydrolysate, Harnstoff)

Weiterhin treffen die Vorgaben der Leitsätze eine Unterscheidung zwischen **Organischen Nichtfett (ONF)** und **Rohprotein (RP)**. Dabei werden folgende Formeln verwendet:

Rohproteingehalt % (RP) = Stickstoffgehalt % x 6,25

Organisches Nichtfett % (ONF) = 100 – (Wasser + Fett +Asche)

Entspricht der analytisch ermittelte Rohproteingehalt den errechneten Werten des ONF ist, so wird nach Leitsatz 1.7 der entsprechend kongruente Wert als Gesamteiweiß angenommen. Lassen sich zwischen dem Rohproteingehalt und dem ONF Differenzen erkennen, so wird der niedrigere der Werte als das Gesamteiweiß angenommen und fließt entsprechend in die Berechnung des BEFFE ein. Diese Vorgehensweise soll den möglichen Zusatz von Kohlenhydraten oder von bestimmten stickstoffhaltigen Substanzen, wie sie in unbehandeltem Fleisch nicht enthalten sind, berücksichtigen. Ergeben sich Relationen mit $ONF > RP$, muß ein Zusatz von nicht originären Eiweißverbindungen vermutet werden, deren enthaltener Stickstoff direkt in die Berechnung des Eiweißgehaltes einfließen würde. Zur Vermeidung von falsch hohen Fleischiweiß-Gehalten wird daher bei $ONF > RP$ der RP-Gehalt als Gesamteiweiß verwendet.

Zur Beurteilung der verschiedenen Fleischerzeugnisse gemäß den Leitsätzen wird neben dem prozentualen Mindestgehalt an BEFFE auch das Verhältnis aus $BEFFE / FE$ herangezogen. Für eine den Vorgaben der Leitsätze gemäß „Lyoner“ müssen entsprechende Brühwurst nach Leitsatz 2.222.1 beispielsweise einen Mindestgehalt an BEFFE von 8 % und an $BEFFE / FE$ von 75 % enthalten (DEUTSCHES LEBENSMITTELBUCH, 2005).

Betont werden soll nochmals, dass der BEFFE- Gehalt in Fleisch und Fleischerzeugnissen auf Grundlage aller chemischen Analysewege berechnet wird und somit nur ein indirektes Bestimmungsmaß der substantiellen Qualität darstellt. Ausgehend von den entsprechenden Berechnungsgrundlagen ist verständlich, dass Fehler und Ungenauigkeiten in den vorgelagerten Analyse-Schritten auch zu einer Verzerrung des erhaltenen BEFFE- Ergebnisses führen. Schwierigkeiten bereitet auch die genaue Abgrenzung derjenigen NPN-Substanzen, die nicht originär aus dem Fleisch stammen sondern widerrechtlich zugesetzt wurden, um einen ausreichenden Gehalt an BEFFE vorzutäuschen. Fleischeigene freie Aminosäuren, Peptide und andere Stickstoffverbindungen finden sich in Fleisch und Fleischerzeugnissen in unterschiedlichen Konzentrationen, die zudem von der Herstellungspraxis oder Reifung des einzelnen Produkts abhängig sind. Die Diffe-

renzierung zwischen fleischeigenen und zur Vortäuschung höherer Muskelfleischgehalte eingesetzten NPN-Verbindungen gelingt deshalb nur mit Schwierigkeit (ARNETH, 1998), worin auch das Nicht-Vorhandensein von verbindlichen Richt- oder Grenzwerten zu suchen ist.

Darüberhinaus ist auch der Zusatz von fleischfremden, aus Milch, Ei oder pflanzlichen Extrakten stammenden Fremdeiweißstoffen nur durch immunologische oder molekulargenetische Verfahren nachzuweisen (SCHWÄGELE, 1999). Insofern ist ersichtlich, dass auch die klassische nasschemische Untersuchung derzeit noch keine absolute analytische Sicherheit bezüglich der substantiellen Zusammensetzung von Fleisch und Fleischerzeugnissen bieten. In Studien von ARNETH (1997) wurde daher versucht, über die HPLC-Extraktion (engl. high pressure liquid chromatography) der spezifisch in den Myosin- und Aktinfilamenten der Muskulatur vorkommenden Aminosäure 3-Methylhistidin eine neue Bewertungsgrundlage zu schaffen. 3-Methylhistidin ist in rohem Rind- und Schweinefleisch in Konzentrationen von durchschnittlich 750 µg / g enthalten. Durch Schwankungen des Ausgangsmaterials und Einfluss der Produktionstechnologie scheinen aber gerade in Fleischerzeugnissen die Gehalte so stark zu variieren, dass eine Grenzwertfindung und routinemäßige Verwendung des Nachweises bisher nicht ausgearbeitet wurde (ARNETH, 1997).

3.2 Schnellmethoden in der Lebensmittelanalytik

Der Duden setzt das Adjektiv „schnell“ mit „behände, rasch“ und „tatkräftig“ gleich (N. N., 2000). Als „Methode“ definiert die DIN 58937 „das auf bestimmten, nämlich biologischen, chemischen und physikalischen Prinzipien sowie auf mathematischen Theorien beruhende Analyseverfahren zur Bestimmung von Bestandteilen und Größen in Untersuchungsmaterialien“.

Die sogenannten „Schnellmethoden“ lassen sich dabei nach MATISSEK (2004) einteilen durch den Charakter ihrer Aussage in:

- quantitative und semiquantitative Bestimmungen
- Screening: Nachweis soll als Ja- oder Nein- Aussage geführt oder versucht werden
- Grenzwertbestimmungen
- Methoden der Prozesskontrolle

In Bezug auf die Lebensmittelanalytik sind allerdings bisher noch keine allgemeingültige Definitionen des Begriffs „Schnellmethode“ erstellt worden (MATISSEK, 2004). Primär muss zunächst die Frage gestellt werden, worauf der Schwerpunkt einer „schnellen“ Analyse gelegt werden soll. Eine Schnellmethode kann innerhalb kurzer Zeit oder/und mit hoher Geschwindigkeit zu einem Analysenergebnis führen, „schnell“ kann aber auch mit „sofort“ assoziiert werden. Betrachtet man allein den Faktor Zeit, so kann als Bezugsgröße der Zeitgewinn im Vergleich zur Dauer der herkömmlichen Methode gelten. Andererseits ist auch die Festsetzung eines bestimmten Zeitrahmens möglich, innerhalb dessen ein Ergebnis gefunden werden muss, um die Methode als Schnellanalytik gelten zu lassen (BAUMGART, 2000).

MATISSEK (2004) erstellt für Schnellmethoden in Gegenüberstellung zu den „klassischen“, oft aufwendigen Analyseverfahren, eine Klassifikation als Substitutions- oder Organisations-Typ. Substituierende Schnellmethoden zeichnen sich dabei durch Austausch oder Umgehung derjenigen Arbeitsschritte eines Verfahrens aus, die einen Zeitaufwand bestimmten Umfangs erfordern. Durch diese Vorgehensweise wird das angestrebte Resultat innerhalb eines kürzeren Zeitraums erhalten. So genannte Organisations-Methoden erreichen das raschere Vorliegen verwertbarer Ergebnisse durch die Beschleunigung im Prinzip beibehaltener Arbeitsschritte. HONIKEL (1999) sieht überdies die Unterscheidung von Schätzmethoden innerhalb der Gruppe von Schnellmethoden als notwendig an. Dabei stellen Schätzmethoden indirekte Verfahren dar, bei denen über eine statistisch belegbare Wechselbeziehung zwischen Inhaltsstoffen und bestimmten Messgrößen

des Untersuchungsmaterials Schätzformeln erarbeitet werden. Mit diesen mathematischen Modellen wird die Konzentration einer Substanz errechnet und nicht mehr direkt bestimmt. Zu den Schätzmethoden muss nach dieser Definition auch die NIR-Spektroskopie gezählt werden.

Eine klassische Messmethode, wie sie beispielsweise nach den Vorschriften der Amtlichen Sammlung zur Bestimmung von Wasser, Fett, Asche, Rohprotein und Bindegewebseiweiß durchgeführt wird, gründet auf abgestimmte Probenvorbereitung, geeigneten Probenaufschluss und Abtrennung des jeweiligen Zielanalyten aus der Gesamtheit der Substanzen heraus. Dadurch wird die methodische Bestimmung des gewünschten Faktors ohne Beeinflussung durch weitere Inhaltsstoffe des Probenmaterials möglich (HONIKEL, 1999). Der hohe Aufwand an Zeit, Personal und Materialeinsatz, mit denen viele dieser herkömmlichen Verfahren verknüpft sind, beeinflusst maßgeblich die Erarbeitung und Etablierung von Schnellmethoden in der Lebensmittelüberwachung (RISTIC UND FREUDENREICH, 2000).

Zum Einsatz kommen Schnellmethoden in wachsendem Maße auch in der Produktion von Fleischerzeugnissen. Hier gilt es, Ansprüche an Qualität und Sicherheit der Produkte mit den ökonomischen Prämissen zu vereinigen. Aus produktionstechnischer Sicht hat die möglichst sofortige Analyse wertbestimmender Parameter, wie beispielsweise der Fett- und Proteingehalt des Verarbeitungsfleischs, hohen Stellenwert. Weitreichende und rationelle Kontroll- und Steuerungsmöglichkeiten der Produktionslinien sollen die Fehlerquote senken und somit die Wirtschaftlichkeit der gesamten Herstellung steigern. Für diese Qualitätssicherung empfehlen sich Schnellmethoden geradezu, die während des laufenden Produktionsprozess eine zuverlässige und zerstörungsfreie Analyse der eingesetzten Materialien ermöglichen. Der Einsatz im laufenden Herstellungsverfahren erfordert eine möglichst sofortige Analyse, d. h. eigentlich ein Ergebnis in Echt-Zeit. Bei großem Margendurchsatz kann die Analyse bestimmter Parameter gewisse Schwankungsbreiten tolerieren, im Vordergrund steht bei ausreichender Aussage-sicherheit die Schnelligkeit, Unkompliziertheit und Wirtschaftlichkeit der Messungen (ARNETH, 1999). In der Lebensmittelüberwachung zählen die Präzision und gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu den primären Voraussetzungen, die

eine Schnellmethode für ihre Anwendung erfüllen muss. Durch Automatisierung des Analyseverfahrens oder einzelner Verfahrensschritte sollen die Ergebnisse schnell und mit geringerem Aufwand erhalten werden. Die Genauigkeit der Aussagen muss dabei mindestens vergleichbar oder äquivalent zu den Ergebnissen klassischer Methoden bleiben (MATISSEK, 2004).

Im Bereich der substantiellen Analytik von Fleisch dient die nasschemische Untersuchung nach § 64 LFGB als anerkannte amtliche Bezugsmethode. Der mit einer Vollanalyse verbundene hohe Aufwand hat daher zur Entwicklung von Schnellmethoden im Bereich der innerbetrieblichen Qualitätskontrolle geführt, die vorrangig als Substitutions-Methode einzuordnen sind. Dabei werden einzelne oder auch mehrere Parameter der nasschemischen Analyse mithilfe einer bestimmten Schnellmethode bestimmt. In folgender **Tabelle 4** finden sich beispielhaft ausgewählte zur Bestimmung von Wasser, Fett und Rohprotein eingesetzte Schnellverfahren.

Parameter	Schnellmethode (Substitutionstyp)
Wassergehalt / Trockensubstanz	Gravimetrische Bestimmung nach Trocknung mit Mikrowellen- oder IR-Strahlung; NIR- und NMR-Spektroskopie
Fett	Volumetrie; Densitometrie; Röntgenanalyse; NIR- und NMR-Spektroskopie
Protein	NIR-Spektroskopie

Tabelle 4: Schnellmethoden der substantiellen Fleischanalytik (MATISSEK, 2004; ARNETH 1999)

Grundlage der Schnellanalytik für den Wasser- und Fettgehalt in Fleisch und Fleischerzeugnissen stellt das unabhängig von der Tierart enge und in den Verhältnissen relativ konstante Verhältnis von Wasser, Fett, Eiweiß und Mineralstoffen in Fleisch dar. Gerade in rohem Fleisch ist dieses Verhältnis von Wasser zu Fett

derart gegensinnig verknüpft, dass nach ARNETH ET AL. (2004) zur Berechnung der Gehalte folgende Gleichung verwendet werden kann:

$$\% \text{ Wasser}_{\text{Fleisch}} = 77 - \% \text{ Fett}_{\text{Fleisch}} \times 0,77$$

In Schnellverfahren kann daher allein durch Bestimmung eines dieser Parameter der entsprechende gegensinnige Parameter geschätzt werden. Auf die Prinzipien der NIR-Spektroskopie und NMR- Spektroskopie soll nachfolgend genauer eingegangen werden, sonstige Methoden zur Bestimmung von Wasser- und/oder Fettgehalt werden kurz erläutert.

- **Wassergehalt**

- Trocknung durch Mikrowellenstrahlen

Das ausgewogene homogenisierte Probengut wird bei diesem Verfahren mit Mikrowellenstrahlung getrocknet, ohne dass ein Verkohlen des Materials eintreten kann. Nach wenigen Minuten kann durch Differenzwägung des Trocknungsverlusts der Feuchtegehalt berechnet werden. Geräte dieser Art sind seit über 20 Jahren in Verwendung (KOLAR, 1978). Nach ARNETH (1999) erlaubt beispielsweise das automatische CUTLAB 96 System neben der Bestimmung von Wasser auch den des Fettgehalts in nur rund einer Viertelstunde einschließlich Einwiegen. Zur Bestimmung des Fettgehalts erfolgt nach der Mikrowellentrocknung eine Extraktion mit Dichlormethan.

- Trocknung durch Infrarot-Strahlung

Nach Einwaage des Materials in eine Quarzschale mit Filterboden, die mit einer Oberschaligen Waage verbunden ist, wird in rund 15 min mittels einer Infrarot-Lampe die vollständige Trocknung erreicht. Der Trocknungsverlust in % wird direkt über eine Skala abgelesen und in den Wassergehalt umgerechnet. Moderne Geräte ermöglichen weiterhin die Fettbestimmung durch eine Extraktion aus der Trockensubstanz und eine daran anschließende automatisierte Veraschung (ARNETH, 1996).

- **Fett**

- Volumetrie

TIELMANN (1992) verwendet zur Ermittlung des Fettgehaltes ein Verfahren, das durch Unterschiedsmessungen der Dichte die Berechnung des Fettgehalt ermöglicht. Dazu wird eine Menge von etwa 3 bis 5 kg zerkleinertem Fleisch im Hochvakuum-Beutel zunächst gewogen, um die exakte Masse zu erfassen, und anschließend in ein Wasserbecken gegeben. Aus dem Auftrieb der Masse unter Wasser lässt sich ihr Volumen bestimmen. Die Dichte des Materials als Quotient seiner Masse und seines Volumen erlaubt schließlich, den Fettgehalt auf Basis geeichter Standardwerte zu errechnen. Die Methode ist nach ARNETH (1996) hauptsächlich zu betrieblichen Prozesskontrollen in kleinen Betrieben geeignet, die keine Möglichkeiten genauerer und damit aufwendiger apparativer oder kostenintensiver Analytik verwirklichen können.

- Densitometrie – HACH-System

Bei dieser Methode wird die homogenisierte Probe mit Schwefelsäure aufgeschlossen und anschließend die lipophile Phase durch Zugabe von Pentadecan gelöst (ARNETH, 1995). Die Pentadecan-Fett-Phase scheidet sich auf der Oberfläche der Lösung ab und steigt durch weitere Zugabe von Schwefelsäure in ein geeichtes Steigröhrchen, wonach anhand der Höhe der Säule der Fettgehalt berechnet werden kann. Im Rahmen dieses Systems kann durch eine zusätzliche nasse Veraschung und photometrische Bestimmung des gebildeten Ammoniaks relativ zuverlässig der Stickstoffgehalt berechnet werden. Diese innerhalb von 15 bis 20 min durchführbare Bestimmung wird von ARNETH (1999) als ausreichend genau für die Prozesskontrolle in Betrieben beschrieben.

- Röntgenanalyse - Anyl Ray-System

Auf Basis von Röntgenstrahlung wird eine Probenmenge von etwa 7 kg in einem Behälter auf den Anteil an Fettgewebe untersucht. Die Methode unterscheidet anhand der geringen Mineralstoffgehalte Fett von Muskelfleisch und errechnet innerhalb von Sekunden daraus den Gehalt an Fett. Das Verfahren kann nur bei Fleisch ohne Zusatz von Kochsalz angewendet werden und empfiehlt sich daher

für die Kontrolle von Verarbeitungsfleisch im Produktionsprozess (ARNETH, 1996).

Neben den angeführten, mit relativ geringem technischen Aufwand zu bewerkstelligen Schnellverfahren werden für verschiedene Lebensmittel diverse Schnellanalyse-Geräte auf dem Markt angeboten, die nach Art einer Organisationsmethode entscheidende Aufbereitungs- und Analyseschritte einer nasschemischen Untersuchung automatisieren und dadurch verkürzen können (MATISSEK, 2004). Voll- und halbautomatisierte Kjehldahl-Apparaturen wie auch Fettbestimmungssysteme verschiedener Hersteller von Laborgeräten kommen bei der Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen zum Einsatz. Daneben kann auch die Analysezeit des 4-Hydroxyprolin-Gehalts durch einen beschleunigten Aufschluss verkürzt werden. Analysengeräte wie das Segmented-Flow-Analysen-System (SFAS) der Firma B.E.S.T. Lab Instrumentation Pty Ltd./Australien nutzen beispielsweise die Mikrowellenerhitzung, um Probenmaterial deutlich schneller aufzuschließen und vermögen dadurch die Hydroxyprolin-Bestimmung auf etwa 3 h Analysezeit verkürzen (FREUDENREICH, 1999).

MATERIAL UND METHODEN

4 Nasschemische Untersuchung nach § 64 LFGB

Alle Methoden der nasschemischen Untersuchung finden sich in der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsmethoden nach § 64 LFGB. Aufgelistet sind sie dabei unter ihrem spezifischen Kennbuchstaben - L - und unter der erzeugnisbezogenen Warengruppe. Innerhalb dieser Gruppe erfolgt die weitere Kennzeichnung durch eine nach dem jeweiligen Veröffentlichungsdatum geordnete fortlaufende Nummer. In allen Arbeitsanleitungen sind genaue Angaben zu Zweck und Anwendungsbereich der Methoden, weiterhin Begriffsbestimmungen und Kurzbeschreibungen zu Chemikalien, Geräten und Hilfsmitteln, zur Probenentnahme, Durchführung, Auswertung und der Zuverlässigkeit der Methode aufgeführt.

Eine Untersuchung im Rahmen einer chemischen Vollanalyse umfasst bei Fleisch und Fleischerzeugnissen grundsätzlich die quantitative Bestimmung von Wasser, Asche, Fett und Rohprotein. Diese Hauptbestandteile von Fleisch werden in der Summe ihrer Einzelwerte als 100 % gesetzt, dabei werden Abweichungen von $\pm 0,5$ % toleriert. Um den Anteil des Proteins aus Bindegewebe zu ermitteln, wird außerdem die Bestimmung von 4-Hydroxyprolin durchgeführt. Dabei sind alle Untersuchungen gemäß der Amtlichen Methodensammlung als Doppelbestimmungen durchzuführen.

1. Probenvorbereitung zur chemischen Untersuchung, Vorschrift LFGB L 60.00 - 1 (Stand 09/1980)

Die exakte Untersuchung von Lebensmitteln erfordert eine entsprechende Vorbereitung des Probenmaterials. Fleisch und Fleischerzeugnisse werden, sofern vorhanden, von umgebenden Hüllen befreit und ausgetretene Flüssigkeit, Gallerte oder Fett dem Probenmaterial vor der Zerkleinerung wieder zugefügt. Etwa 100 - 300 g Probenmaterial werden von Hand in Stücke mit etwa 1 cm Kantenlänge vorgeschnitten und anschließend in einem „zweckmäßigen“ Zerkleinerungsgerät sorgfältig zerkleinert und gleichmäßig vermischt. Nach § 64 sind solche Geräte „zweckmäßig“, die hochtourig laufen und mit horizontal angeordneten Messern eine gleichmäßige Ver-

teilung des Probenmaterials ermöglichen, ohne dass eine Erwärmung des Guts eintritt. Anschließend wird das Homogenisat in ein dicht schließendes Probengefäß überführt, das so beschaffen sein sollte, dass weder Materialverlust und Austrocknung noch eine nachteilige Beeinflussung des Probenmaterials eintreten können. Die Lagerung erfolgt bis zur weiteren Behandlung gekühlt, um Verderb zu verhindern. Bei Flüssigkeitsabsatz und Entmischung ist vor der Probenanalyse eine erneute Durchmischung des Probenmaterials erforderlich.

2. Bestimmung des Wasser-Gehalts, Vorschrift LFGB L 60.00 - 3 (Stand 07/2004)

Die Ermittlung des Wassergehalts erfolgt indirekt über die Bestimmung des Trockenmasse-Gehalts. Dazu wird eine Menge von 4 - 5 g Homogenisat auf 1 mg genau zusammen mit etwa 30 - 35 g Seesand in eine Nickelschale gemäß DIN 12336 eingewogen, mit einem Glasstab gründlich verrieben und anschließend bei + 103°C ± 2°C im Trockenschrank getrocknet. Der Seesand dient dazu, durch Vergrößerung der Oberfläche den Einschluss von Restfeuchte zu verhindern. Bei Erreichen der Massenkonstanz nach etwa 4 h Trocknungszeit wird die Schale für 1 h zum Auskühlen in einen Exsikkator-Topf gegeben und anschließend ausgewogen. Das Ergebnis wird auf eine Stelle nach dem Komma gerundet. Die Berechnung der Trockenmasse geschieht nach folgender Formel:

$$\text{Trockenmasse } \omega = \frac{(m - a) \times 100}{m}$$

m = Probeneinwaage in Gramm

a = durch die Trocknung erfolgte Massenabnahme in Gramm

Die Differenz aus 100 minus dem ermittelten Trockenmassegehalt entspricht dem Wassergehalt in % der Probe.

Die Wiederholbarkeit der Methode liegt bei $r = 0,5 \text{ g} / 100 \text{ g}$, die Vergleichbarkeit bei $R = 1 \text{ g} / 100 \text{ g}$ ($s_r = 0,18 / 100 \text{ g}$; $s_R = 0,35 \text{ g} / 100 \text{ g}$).

3. Bestimmung des Asche-Gehalts, Vorschrift LFGB L 60.00 - 4 (Stand 09/1980)

Unter der Asche wird der bei einer vollständigen Verbrennung verbleibende Rückstand verstanden. Das Prinzip der Asche-Bestimmung stellt eine Veraschung im Muffelofen bei + 600°C dar. Eine Probenmenge von etwa 5 g wird in einen vorge-

glühten Quarztiegel eingewogen und mit 1,0 ml Magnesiumacetat- Lösung verrührt. Anschließend wird der Tiegel bei + 103°C ± 2°C für 1 h vorgetrocknet und anschließend über dem Bunsenbrenner vorverascht. Bei hohen Fettgehalten des Homogenisats (> 60 % Fett) empfiehlt sich, das nach der Vortrocknung flüssige Fett mit einem zum Docht gedrehten aschefreien Filterpapier abrauchen zu lassen. Die vollständige Veraschung erfolgt bei + 600°C für 4 h. Nach Abschluss der Veraschung und Abkühlen des Tiegels im Exsikkator erfolgt entsprechend seine Wägung, um die Differenz zwischen Einwaage und Ascherest zu ermitteln. Zur Berechnung des Aschegehalts kommt folgende Formel zur Anwendung:

$$\text{Aschegehalt } w = \frac{(m_2 - m_3 - m_1) \times 100}{m_0}$$

m_1 = Masse des Quarztiegels in Gramm

m_2 = Masse der Quarztiegels einschließlich der Asche in Gramm

m_3 = Masse der Asche aus 1ml Magnesiumacetat-Lösung in Gramm

m_0 = Probeneinwaage in Gramm

Das Ergebnis wird auf eine Stelle nach dem Komma gerundet.

Die Wiederholbarkeit der Methode liegt bei $r = 0,1 \text{ g} / 100 \text{ g}$, die Vergleichbarkeit bei $R = 0,15 \text{ g} / 100 \text{ g}$ ($s_r = \pm 0,035 \text{ g} / 100 \text{ g}$; $s_R = \pm 0,053 \text{ g} / 100 \text{ g}$).

4. Bestimmung des Gesamt-Fettgehalts, Vorschrift LFGB L 60.00 - 6 (Stand 09/1980)

Von der Probe werden je nach zu erwartendem Fettgehalt bis zu 10 g in einem Erlenmeyerkolben mit 4N-Salzsäure unter Kochen aufgeschlossen. An diese Extraktion schließt sich die Filtration des Aufschlusses durch zwei Faltenfilter und ein heißes Auswaschen des Aufschlussgefäßes an, um alles Fett quantitativ in den Filter überführen zu können. Nach Trocknung des Filtrerrückstands erfolgt die Fettextraktion nach Soxhlet. Dazu wird ein Glaskolben mit Glaskügelchen vorgetrocknet, gewogen und mit dem polaren Extraktionsmittel Petroleumbenzin (Siedepunkt + 40 bis + 60°C) in rund 1,5-facher Menge des Nennvolumens der Soxhlet-Destille befüllt. Nach Verbringen des Filters mit anhaftendem Fett in eine Extraktionshülle und Zusammensetzen der Soxhlet-Destille erfolgt die Extraktion durch Heissverdampfung des Petroleumbenzins. Nach Verdampfen des Lösungsmittels kondensiert dieses in der Soxh-

let-Apparatur an wassergekühlte Wendeln kondensiert und fließt in den Destillationsraum, indem sich der Filter befindet. Das rückfließende Petroleumbenzin löst dabei das im Filter befindliche Fett und überführt es in den Glaskolben. Nach Ablauf der vorgeschriebenen Extraktionszeit von 4 h wird das Lösungsmittel abgezogen und der Glaskolben zur Entfernung von Lösungsmittelresten eine Stunde bei $+ 103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ in den Trockenschrank gegeben. Nach Abkühlung im Exsikkator erfolgt die Differenzwägung des Glaskolbens. Der Gesamtfettgehalt errechnet sich nach folgender Formel:

$$\text{Fettgehalt } w = \frac{(m_2 - m_1) \times 100}{m_0}$$

m_1 = Masse des leeren Kolbens einschließlich Glasperlen im Gramm

m_2 = Masse des Kolbens einschließlich Fett nach Destillation in Gramm

m_0 = Einwaage in Gramm

Das Ergebnis wird auf eine Stelle nach dem Komma gerundet.

Die Wiederholbarkeit der Methode liegt bei $r = 0,5 \text{ g} / 100 \text{ g}$, die Vergleichbarkeit bei $R = 0,7 \text{ g} / 100 \text{ g}$ ($s_r = \pm 0,18 \text{ g} / 100 \text{ g}$; $s_R = \pm 0,25 \text{ g} / 100 \text{ g}$).

5. Bestimmung des Rohprotein-Gehalts nach Vorschrift LFGB L 06.00 - 7 (Stand 12/1989)

Die Ermittlung des Rohprotein-Gehalts erfolgt nach dem Kjeldahl-Verfahren, bei dem alle vorhandenen Stickstoffverbindungen mit Schwefelsäure in Ammoniumsulfat überführt werden, durch Wasserdampfdestillation in Borat aufgefangen und anschließend mit Salzsäure gegentitriert werden. Dazu wird zunächst eine Probenmenge von 0,5 - 2 g mit Hilfe von stickstofffreiem Papier in den Kjeldahl-Kolben eingewogen und anschließend mit Katalysator, konzentrierter Schwefelsäure und Natriumhydroxid versetzt. Unter Hitzeeinwirkung in einem Aufschlussblock wird der organisch gebundene Stickstoff in Ammoniumsulfat überführt. Nach Abkühlen des klaren Aufschlusses wird dieser vorsichtig verdünnt. In einer automatischen Wasserdampfdestille erfolgt anschließend durch Zugabe von Natronlauge die Freisetzung von Ammoniak, der in gesättigter Borsäure-Lösung aufgefangen wird. Die mit Indikator versetzte Lösung wird mit 0,1 N-Salzsäure bis zum Farbumschlag titriert und der Ge-

samt-Stickstoffgehalt anhand der verbrauchten Menge an Salzsäure berechnet. Dies geschieht nach folgender Formel:

$$\text{Gesamt-Stickstoffgehalt } w = \frac{a \times 0,0014007 \times 100}{m}$$

a = Verbrauch an 0,1 N Salzsäure im Millilitern

m = Einwaage in Gramm

Über den ermittelten Gesamt-Stickstoffgehalt des Ausgangsmaterials ergibt sich der Rohproteingehalt durch Multiplikation mit dem Faktor 6,25. Zugrunde liegt diesem Faktor der durchschnittliche Stickstoff-Gehalt von 16 % in Muskelprotein.

Das Ergebnis wird auf zwei Stellen nach dem Komma gerundet.

Die Wiederholbarkeit der Methode liegt in Abhängigkeit vom untersuchten Ausgangsmaterial bei $r = 0,480 \text{ g} - 0,174 \text{ g} / 100 \text{ g}$; die Vergleichbarkeit bei $R = 0,677 \text{ g} - 0,380 \text{ g} / 100 \text{ g}$.

6. Bestimmung des Hydroxyprolinegehaltes, Vorschrift LFGB L 06.00 - 8 (Stand 09/1980)

Der prozentuale Gehalt an Bindegewebe wird hier über die Ermittlung des Gehalts an 4-Hydroxyprolin ermittelt. Zunächst wird eine Probenmenge von etwa 4 g auf stickstofffreiem Papier eingewogen, in einem Schraubglas mit 6 N-Salzsäure versetzt und bei + 110°C für 8 h hydrolysiert. Nach Abkühlen der Aufschlusslösung wird diese durch den Zusatz von Wasser auf ein definiertes Volumen von 250 ml verdünnt. Um störendes Fett abzutrennen wird anschließend Petroleumbenzin zugegeben und die entstehende Fett-Lösungsmittel-Phase wieder abgesaugt. Das Schraubglas wird gut umgeschüttelt und die Aufschlusslösung durch ein Faltenfilter gegeben. Ein Äquivalent des Filtrats wird weiter verdünnt und durch Zusatz von Chloramin T die Oxidation der Aminosäure Hydroxyprolin eingeleitet. Mit 4-Dimethylaminobenzaldehyd als Farbreagenz bildet das Oxidationsprodukt anschließend einen Farbkomplex, der bei einer Wellenlänge von 558 nm im Spektralphotometer vermessen wird. Anhand standardisierter Vergleichslösungen, deren Konzentration an 4-Hydroxyprolin bekannt ist, kann eine Eichgerade erstellt werden, aus denen sich die spezifischen Konzentrationen der Probenlösungen an Hydroxyprolin ableiten lassen. Die Ausgangsgehalte an Bindegewebe errechnen sich schließlich mit Hilfe nachstehender Formel:

$$\text{Hydroxyprolingehalt } w = \frac{12,5 \times X}{mV}$$

X = Hydroxyprolinkonzentration in $\mu\text{g} / \text{ml}$ des verdünnten Hydrolysats aus der Eichgeraden

m = Einwaage in Gramm

V = Volumen des Hydrolysats nach der zweiten Verdünnung

Der Berechnung zugrunde liegt der konstante Gehalt der Aminosäure 4-Hydroxyprolin in Bindegewebeseiweiß. Dieser beträgt 12,4 % bis 12,5 % , so dass der ermittelte Hydroxyprolingehalt mit dem Faktor 8 multipliziert werden muss.

Das Ergebnis wird auf zwei Stellen nach dem Komma gerundet.

Die Wiederholbarkeit der Methode liegt bei $r = 0,014 \text{ g} / 100 \text{ g}$, die Vergleichbarkeit bei $R = 0,05 \text{ g} / 100 \text{ g}$ ($s_r = \pm 0,0048 \text{ g} / 100 \text{ g}$; $s_R = \pm 0,015325 \text{ g} / 100 \text{ g}$).

5 NIR-Spektroskopie

5.1 Einführung

Die Bezeichnung „Spektroskopie“ stellt einen Sammelbegriff für physikalische Verfahren dar, die sich mit der Erforschung und Darstellung der von Atomen, Molekülen und ihren Verbänden absorbierten oder emittierten elektromagnetischen Strahlung beschäftigen (N.N., 2000 B). Die elektromagnetische Strahlung erstreckt sich dabei je nach angewandter Methode in unterschiedlichen Frequenz- und Wellenlängenbereichen. Einen Überblick über den Spektralbereich elektromagnetischer Strahlung gibt **Abbildung 2**.

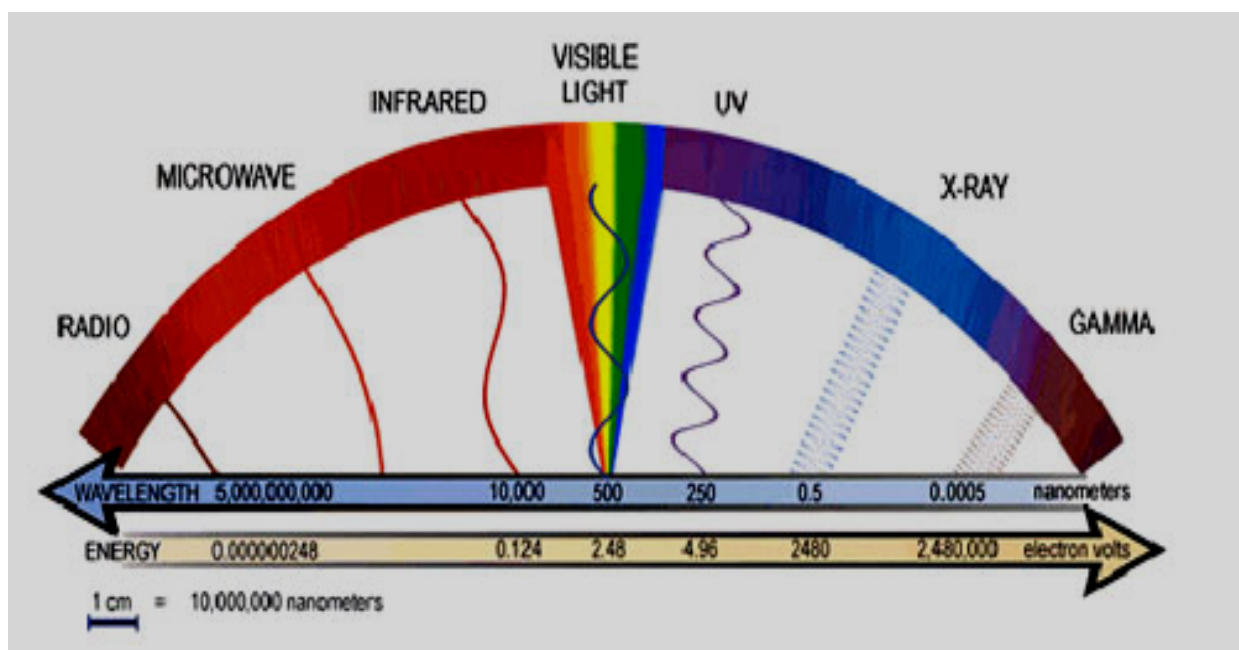


Abbildung 2: Wellenlängen und Energiegehalte elektromagnetischer Strahlung nach CHRISTENSEN (2004)

Bei Anwendung von Methoden der Spektroskopie wird heute mit einem großen Teil des elektromagnetischen Spektrums gearbeitet. Diese reichen von den Radiowellen bis zur Gammastrahlung. Ziel dabei ist es, aus der spezifischen Veränderung einwirkender Spektren Rückschlüsse auf die Probe zu ziehen. Dies findet in der Grundlagenforschung oft zur Bestätigung theoretischer Atom- und Molekülmodelle statt,

daneben vor allem als praxisrelevante Bestimmung der qualitativen und quantitativen Zusammensetzung von Stoffen (N.N., 2000 B).

Die grundlegenden physikalischen Prinzipien der NIR-Analytik wurden bereits vor über 100 Jahren entdeckt, erste kommerzielle IR-Geräte waren bereits in den 40er Jahren des vergangenen Jahrhunderts erhältlich (McCLURE, 1994). Mit Fortgang der technischen Entwicklung entstand ein immer größeres Anwendungsgebiet der NIR-Spektroskopie, das von der Chemie, Pharmazie, über die Futter- und Lebensmittelherstellung bis hin zur Medizin reicht. Eingesetzt werden kann die NIR-Spektroskopie dabei zur Analyse der Zusammensetzung, Struktur, zur Gehaltsbestimmung und vielen weiteren Anwendungsbereichen wie beispielsweise Verlaufskontrollen von Polymerisationen oder Bioprozessen (STUART, 2004; McCLURE, 1994).

5.2 Physikalische Grundlagen

Als Infrarot-(IR)-Strahlung wird generell das elektromagnetische Spektrum zwischen sichtbarem Licht und dem Mikrowellenbereich bezeichnet. Die Wellenlänge λ beträgt dabei zwischen 10^{-4} und 10^{-6} m (STUART, 2004; SCHWEDT, 1996). Unterschieden werden im Infrarotbereich drei Spektralbereiche, das Nahe Infrarot (NIR), Mittlere Infrarot (MIR) und Ferne Infrarot (FIR). In der analytischen Anwendung werden vorrangig Wellenlängen des NIR- und MIR-Spektrums verwendet (GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001). **Tabelle 5** gibt Auskunft über die Unterteilung der Strahlung in verschiedene Wellenlängenbereiche.

INFRAROT-BEREICH	Wellenlänge λ (nm)
NIR	ca. 700 nm - 2500 nm
MIR	ca. 2500 nm - 5×10^4 nm
FIR	ca. 5×10^4 nm - 5×10^6 nm

Tabelle 5: Wellenlängen des Infrarot-Bereichs (HAAS, 1998; GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001)

Wie jede elektromagnetische Strahlung ist auch die Infrarot-Strahlung physikalisch als eine transversale duale Wellenbewegung aufzufassen, bei der elektrische und magnetische Felder im rechten Winkel zueinander oszillieren (STUART, 2004; SCHWEDT, 1996). Aufgrund der Erkenntnis, dass elektromagnetische Strahlung, egal welcher Wellenlänge, im Vakuum dieselbe Geschwindigkeit von $c = 2,997925 \times 10^8 \text{ m / s}$ aufweist, wird mit dem Planckschen Wirkungsquantum $E = h \times \nu$ die Beziehung zwischen Frequenz ν und Energie (E) des Lichtquants beschrieben. Dabei beträgt die Plancksche Konstante $h = 6.626 \times 10^{-34} \text{ Joule}$ (STUART, 2004). Gemäß der Planckschen Formel steigt die Energie eines Strahlungsphotons dabei proportional zur jeweiligen Frequenz der Strahlung. Charakterisiert wird elektromagnetische Strahlung prinzipiell über folgende Größen:

- Frequenz $\nu = \text{Anzahl der Schwingungen / Sekunde}$ (Einheit Hertz = 1 / sec)
- Wellenzahl (reziproker Wert der Wellenlänge in cm^{-1}) $\bar{\nu} = \frac{1}{\lambda}$

Je höher die Frequenz, desto größer wird die Energie der Wellen. Trifft diese Energie in Form der elektromagnetischen Strahlung auf ein Molekül, so treten nach Vorstellung der Quantenmechanik Absorption, Reflektion, Beugung, Brechung und / oder Transmission als Umgestaltung dieser Strahlung auf (HAAS, 1998; GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001). Die Art und der Grad dieser Interaktionen sind dabei ursächlich von den funktionellen Gruppen des Moleküls und der spezifischen Wellenlänge der Strahlung abhängig. Voraussetzung für eine Absorption von elektromagnetischer Strahlung ist dabei nach quantenmechanischen Vorstellungen, dass die Frequenz ν einen charakteristischen Energiebetrag E aufweist. Dieser muss spezifisch der Differenz zwischen dem energetischen Grundzustand und dem Anregungszustand des Moleküls entsprechen (HAAS, 1998; STUART, 2004; GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001).

Voraussetzung für die Anregbarkeit chemischer Verbindungen durch IR-Strahlung ist eine „infrarot-aktive“ Molekülstruktur. Nur in Verbindungen mit einer ausreichend starken Polarisierung der Elektronenverteilung innerhalb des Moleküls ist eine Anregung möglich. Je stärker der permanente Dipolmoment in einer Verbindung ausge-

prägt ist, desto intensiver stellt sich die entstehende Absorptionsbande dar. Zu den Verbindungen mit entsprechenden Voraussetzungen zählen ein- und mehrfach gebundene Kombinationen aus H-, N- oder C-Atomen. Werden solche Verbindungen mit elektromagnetischen Wellen des IR-Spektrums bestrahlt, entstehen durch Absorption der Lichtquanten Schwingungen zwischen den einzelnen Atomen (STUART, 2004).

Die Absorption erzeugt zwei Arten von Schwingungen im Molekül, so genannte Valenz- oder Streckschwingungen und Deformations- oder Biegungsschwingungen. Alle diese Schwingungsformen werden als Normalschwingungen bezeichnet (KROH, 1995; SCHWEDT, 1996; STUART, 2004). Dabei sind Valenzschwingungen als Abstandsänderung der Atombindung in Bindungsrichtung, also als Modifikation der Bindungslänge zu verstehen („stretching“). Bei Biegungsschwingungen kommt es zu einer Änderung des Bindungswinkels („bending“). Die Streckschwingungen von Atombindung können innerhalb eines Moleküls asymmetrisch oder symmetrisch zueinander verlaufen, Biegungsschwingungen stellen sich als vielseitige Scherenschwingungen („rocking“, „twisting“ oder „wagging“) oder Drehbewegungen des gesamten Fragments dar (SCHWEDT, 1996; STUART, 2004). Oberhalb einer Anregungswellenlänge von 1500 cm^{-1} treten vorrangig Valenzschwingungen auf, darunter vor allem Deformationsschwingungen (SCHWEDT, 1996). Zur Anregung von Valenzschwingungen muss daher mehr Energie eingestrahlt werden als zur Auslösung von Deformationsschwingungen. Bei ersteren hat die Bindungsstärke großen Einfluss auf das Schwingungsverhalten. In Abhängigkeit von der Molekülstruktur steigt die notwendige Anregungsenergie bei hohen Bindungsstärken und kleinen Atommassen an. Die Anzahl der Atome und ihre Bindungswinkel ergeben für jedes Molekül eine maximale Anzahl an unterschiedlichen Schwingungsfreiheiten. Die Eigenschwingungen jedes einzelnen Atoms würden ansonsten aufgrund gleicher Ausrichtung im dreidimensionalen Raum zu einer Aufhebung der Molekülschwingung oder zu einer Rotation des Moleküls führen (STUART, 2004).

Bei Anregung durch NIR-Strahlung treten zusätzlich zur spezifischen Normalschwingung der Bindungen unterschiedliche Oberschwingungen und Kombinationsschwingungen auf. Dies trifft für MIR- und FIR-Strahlung nicht zu. Die sogenannten Übertöne der Oberschwingungen treten parallel zur Grundschwingung auf und stellen im-

mer ein Mehrfaches bis Vielfaches der Absorptionsbande aus der Grundschwingung dar. Kombinationsschwingungen erklären sich aus der Überlagerung zweier unterschiedlicher Anregungswellenlängen; die entstehende Absorption erscheint als die Summe der einzeln zu erwartenden Absorptionsbanden (STUART, 2004).

Die Intensität der aus Oberschwingungen entstehenden Absorptionsbanden ist meist um den Faktor 10 -1000 geringer als die der Grundschwingungen. Daneben entstehen Verschiebungen der Absorptionsbanden durch Überlappung der Wellenlängen von Überton- und Kombinationsschwingungen und Grundschwingungen. In komplexen Molekülen entstehen durch identische Anregungswellenlängen benachbarter Verbindungen Kopplungseffekte. Im NIR- Spektralbereich geschieht dies vor allem durch die Absorptionsbanden polarer Wasserstoff-Verbindungen wie CH-, OH- und NH-Gruppen. Die daraus resultierenden Verbreiterungen und Überlappungen der erhaltenen Absorptionsbanden lassen sich dennoch mittels umfassender Kalibration bestimmten Verbindungen oder funktionellen Gruppen zugeordnet (STUART, 2004; KROH, 1995). In **Tabelle 6** finden sich beispielhaft wichtige Grundschwingungen von Fleischbestandteilen und die entsprechenden Anregungswellenlängen

Bestandteil	Chemische Gruppe	Wellenlänge
Wasser	O - H- stretching	3600- 3200 nm
Fette und Protein	C - H- Bindung	3000- 2700 nm
Fette	C = O- Esterbindung	1745 nm
Fettsäuren	C = O- Säurebindung	1725 nm
Wasser	O - H-bending	1640 nm
Protein	C = O- Bindung	1650 nm
Protein	N = H- Amidbindung	1550 nm
Fette	C - O-Bindung	1400- 900 nm, komplexe Bänder

Tabelle 6: Wichtige funktionelle Gruppen von Fleischbestandteilen, Grundschwingungen und Anregungswellenlängen (GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001)

5.3 Datenerstellung und Kalibration

Ausgehend vom einfachsten Fall, bei dem ein Molekül nur aus zwei Atomen besteht, wird nachvollziehbar, dass sich bei mehratomigen Molekülen, Substanzen und komplexen Stoffgemischen eine Reihe von Absorptionsspektren ergibt, deren Zuordnung zu einzelnen Strukturelementen aufgrund undeutlicher Breiten und Überlagerungen erschwert ist. Weitreichende Bandenüberlagerungen der Oberschwingungen von Wasser und Fett im Mehrkomponentensystem Fleisch verhindern eine Auswertung über die simple Erfassung der primären Absorptionswerte. Gerade der hohe Wasseranteil in Fleisch und Fleischerzeugnissen führt zu einem dominierenden Absorptionsspeak des Wassers, der die Erkennung des Peaks von Fett erschwert (FREUDENREICH ET AL., 1996; BÜNING-PFAUE, 2004). Durch mathematische Ableitungen der erhaltenen Grundspektren als ihre zweite oder dritte Funktion müssen die einzelnen Spektren dann differenziert und zugeordnet werden (FREUDENREICH UND WAGNER, 1996).

Auswertegrundlage der NIR-Analytik stellt immer eine umfangreiche und zeitaufwendige Kalibration über empirische Eichmethoden dar, um aus den spektroskopischen Daten die entsprechenden quantitativen Informationen zu den Analyten zu erhalten. Die Exaktheit und Genauigkeit der NIR-Analytik bewegt sich dabei immer im Zielbereich der jeweils angewandten Referenzmethode. Darüber hinaus ist sie streng an den in der Kalibrierung abgegriffenen Konzentrationsbereich der Analyten gebunden und muss regelmäßig auf ihre Exaktheit überprüft werden. Für die Kalibrierung werden als statistische mathematische Auswerteverfahren verschiedene multivariate Regressionsmethoden herangezogen (STUART, 2004; BÜNING-PFAUE, 2004). Auf Basis des Datensatzes aus NIR-Messungen und aus validierten Referenzanalysen erfolgt mittels einer Faktorenanalyse die Reduktion der erhaltenen Spektren auf die aussagekräftigen Variationen. Anhand dieser Musterfindung innerhalb der Datenmatrix kann durch Anwendung multivariater Ansätze die notwendige Algorithmengrundlage geschaffen werden, um die Konzentration der Zielanalyten aus den Spektren ableiten zu können. Fest etabliert sind im Bereich der NIR-Spektroskopie lineare statistische Modelle wie die Multiple Linear Regression (MLP), die Principal Component Regression (PCR), Partial Least Squares Regression (PLS) oder das Verfahren der

Modified Partial Least Squares (MPLS). Daneben kommen auch Artificial Neural Networks (ANN) als leistungsfähige nichtlineare Modelle zur Anwendung, die eine Vielzahl von Variablen aus den Datensätzen berücksichtigen (STUART, 2004; McCLURE, 1994). All diese statistischen Auswerteverfahren stellen die notwendigen Handwerkzeuge dar, um die Umsetzung der Absorptionsspektren in quantitative Aussagen durchführen zu können.

Nach Erstellung des entsprechenden Kalibrationsmodells erfolgt die notwendige Validierung der NIR-Methode. Hier wird durch Gegenüberstellung von NIR-Werten und anschließend ermittelten Referenzwerten die Vorrausagesicherheit der NIR-Spektroskopie bewertet. Über mathematische Regressionsberechnungen wie der Standard Error of Calibration (SEC), Standard Error of Cross Validation (SECV), Squared Coefficient of Correlation (RSQ_k), Standard Error of Prediction (SEP) und daraus abgeleiteten statistischen Kenngrößen wird die Güte und Leistungsfähigkeit sowie die möglichen systemischen Fehler der Methode evaluiert (BÜNING-PFAUE, 2004; McCLURE, 1994).

5.4 Technische Voraussetzungen

NIR-Spektroskopie stellt eine vielseitige Technik dar, bei der eine Vielzahl an unterschiedlichen Substanzen und Materialien untersucht werden können. Die NIR-Spektroskopie kommt zur Anwendung beispielsweise in folgenden Bereichen der Lebens-, Futter- und Arzneimittelproduktion (KROH; 1995; RADTKE, 1999):

- Agrarsektor
Bestimmung von Protein, Fett und Feuchte in Getreide und Futtermitteln
- Backwaren-Herstellung
Bestimmung von Protein (Gluten), Feuchte, Stärke, Rohfaser in Getreide
- Milchwirtschaft
Bestimmung von Laktose, Trockenmasse, Fett und Protein in Milch und Milchprodukten
- Pharmazeutische Industrie, Medizin
Analyse von Feuchte und Restfeuchte in Pulvern, Granulaten, Kapseln;
On-Line-Monitoring von Granulations- oder Coatingverfahren

In der Regel besitzen alle kommerziellen NIR-Spektrometer eine ähnliche Bauweise. Die Basiskomponenten stellen dabei immer eine Strahlungsquelle, ein Spektralapparat, der Probenraum mit Probengefäß, der Detektor und eine angeschlossene Auswerteeinheit dar.

Zur Erzeugung elektromagnetischer Strahlung über den Bereich von 780 - 2500 nm dienen unterschiedliche Lampen als Lichtquelle. Meist werden Wolfram-Halogenlampen oder Tungsten-Halogenlampen als Lichtquelle eingesetzt. Daran schließt sich der Spektralapparat an, in dem das polychromatische Licht in die einzelnen Spektren aufgespalten wird. Der dazu verwendete sogenannte Monochromator kann je nach Messtechnik aus verschiedenen optischen Filtern oder Gittern aufgebaut sein. IR-Spektrometer der ersten Generation arbeiteten mit Prismen aus beispielsweise Natrium-Chlorid, in denen die erzeugten Wellenlängen des Spektralbereichs nacheinander einzeln durchgescannt wurden. Die heute verwendeten Gittermonochromatoren erlauben es, mit einer Lichtquelle die Wellenlängen des gesamten Spektrums in einem Scan zu durchlaufen (STUART, 2004). Ein optisches System, bestehend aus Linsen und Spiegeln oder Faserkabeln, leitet die Strahlung dann in den Probenraum auf das Untersuchungsmaterial. Hier wird die für die jeweilige Probe charakteristische Wellenlänge teils absorbiert, reflektiert oder transmittiert. Die Intensität des Strahlungsverlustes wird über einen entsprechend sensitiven Detektor erfasst. Je nach Messtechnik werden verschiedene Halbleiter-Materialien als Detektor und unterschiedliche räumliche Geometrien der Detektoren eingesetzt. Die Rohspektren werden dann über Verstärker und Datenkonverter an ein leistungsstarkes Computersystem weitergegeben, das die Datentransformation von Spektren in die quantitative Angaben zum Zielanalyten ausführt.

5.5 NIR-Messverfahren und Datentransformation

Wie in obigen Ausführungen erläutert wird, treten beim Auftreffen elektromagnetischer Strahlung auf Substanzen optische Wechselwirkungen in Form von Absorption, Reflektion, Beugung, Brechung und Transmission auf. In Abhängigkeit von der Beschaffenheit des Probenmaterials (Flüssigkeit oder Feststoff) werden die NIR-spektroskopischen Messungen von Lebensmitteln als Reflektions- oder Transmissionsverfahren durchgeführt. Im Wellenlängenbereich von 1200 bis 2500 nm treten

starke Absorptionen durch Wasser auf, so dass hier meist Reflektionsmessungen durchgeführt werden. Der Wellenlängenbereich von 700 bis 1200 nm empfiehlt sich dagegen für Transmissionsmessungen. Der Strahlendurchtritt erreicht hier in Abhängigkeit von der Schichtdicke und Packungsdichte des Materials Intensitäten, die für eine Berechnung der Analyten ausreichend sind (WOLD, 2000).

Bei den verschiedenen Methoden der Reflektionsmessungen finden sich die Detektoren im Probenraum so angeordnet, dass die reflektierte Strahlung, die sogenannte Remission, erfasst wird. Die Informationen zur Probe sollen hier allein über die reflektierte Strahlung gewonnen werden. Bei den Messverfahren werden durch verschiedene geometrische Anordnungen von Strahlungsquelle, Probe und Detektor neben diffuser Reflektion, Spiegelreflektion und Transflexion die so genannte Attenuated Total Reflectance (abgeschwächte totale Reflektion) bestimmt (STUART, 2004; McCLURE, 1994). Dabei bleibt das Messen weitgehend auf die oberflächlichen Strukturen beschränkt und ist daher auf Probenmaterialien ausgerichtet, die einen hohen Grad an Homogenität besitzen, da nur so ein repräsentatives Ergebnis erhalten werden kann (STUART, 2004; GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001; BÜNING-PFAUE, 2004).

Angesichts der komplexen Verhältnisse des Materials kommen bei der Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen maßgeblich die NIR-Transmissionsmessung zum Einsatz. Dabei trifft das nach direkter Durchstrahlung des Probenmaterials um den absorbierten Anteil reduzierte Licht auf einen direkt darunter befindlichen Detektor. Die Transmissions-Spektroskopie stellt die älteste und meist auch unkomplizierteste Methode der NIR-Spektroskopie dar (STUART, 2004).

Für die Bestimmung von Wasser, Fett, Protein und Bindegewebe in Fleisch und Fleischerzeugnissen sind die bei Anregungswellenlängen von 850 nm bis 1050 nm entstehenden Absorptionsspektren von Bedeutung. Kommerziell erhältliche NIR-Transmissionsgeräte für Fleisch und Fleischerzeugnisse arbeiten in der Regel mit einem Wellenlängenbereich von 850 bis 1050 nm, wobei der Bereich zumeist in Abständen von 2 nm gescannt wird (BERG UND KOLAR, 1991; FOSS, 2005). Die in der Transmission erfassten Absorptionsspektren entstehen aus den entsprechenden Oberton- und Kombinationsschwingungen der relevanten chemischen Gruppen von Wasser, Fett, Protein und Bindegewebe. Für die einzelnen Parameter sind die Peaks

ihrer Absorptionsbanden (**Tabelle 7**) bei folgenden Wellenlängen anzusetzen (FREUDENREICH ET AL., 1996):

Wasser	Fett	Protein	Bindegewebe
960 - 1010 nm	930 nm	875, 1025 nm	908 nm

Tabelle 7: NIR-Absorptionspeaks von Wasser, Fett, Protein und Bindegewebe nach FREUDENREICH ET AL. (1996)

Die graphische Darstellung der IR-Spektren erfolgt in der Regel als Auftragen der Absorption als $\log 1 / \text{Remission}$ beziehungsweise der Transmission als $\log 1 / \text{Transmission}$ in Richtung der zunehmenden Wellenzahl (nm) als Abszisse. Diese Übertragung wird vom Gesetz nach Beer-Lambert hergeleitet, das dadurch den funktionalen Zusammenhang zwischen der Transmission und den Konzentrationen der jeweiligen Analyten erlaubt:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot d = \log I_0 - \log I = \log(I_0 / I)$$

mit A = Absorption

ε = molarer Extinktionskoeffizient in $\frac{1}{\text{mol} \cdot \text{cm}}$

c = Konzentration in mol / l

d = Schichtdicke in cm

I_0 = Intensität des eingestrahnten Lichts

I = Intensität des Lichts nach Probendurchgang

Wird die Transmission T als umgekehrt proportional zur Absorption definiert, ergibt sich:

$$T = I / I_0 \text{ bzw. } A = -\log(I / I_0) = -\log T$$

Über diese nahezu linearen Näherungen können anhand referierender Transmissionsstandards die Konzentrationen der Zielanalyten gemäß folgender Formel errechnet werden (STUART, 2004).

$$T = \frac{T_{\text{Probe}}}{T_{\text{Standard}}}$$

Der molare Extinktionskoeffizient ε , auch Absorptionskoeffizient, stellt eine von der jeweiligen Stoffkonzentration abhängige Materialkonstante in Lösungen dar. Dieser Koeffizient kann bei Fleisch und Fleischerzeugnissen aufgrund ihrer komplexen Zusammensetzung nicht als Berechnungsgrundlage herangezogen werden. Als Referenz müssen daher immer gerätespezifische Transmissionsstandards zum Einsatz kommen, um die Auswertung entsprechender Transmissionsmessungen möglich zu machen. (STUART, 2004).

5.6 Möglichkeiten der NIR-Spektroskopie

NIR-Spektroskopie findet im Bereich der industriellen Herstellung von Fleisch und Fleischerzeugnissen zunehmend Anwendung, um durch schnelle und kostengünstige Analysen die umfangreiche und genaue Kontrolle von chemischen Parametern in eingesetzten Rohmaterialien und in entstehenden Produkten zu ermöglichen (BÜNING-PFAUE, 2004). Im Einzelnen beruht dies auf folgenden Vorteilen des Verfahrens (BÜNING-PFAUE, 2004; FREUDENREICH, 1999; McCLURE, 1994):

- Schnelligkeit: Ergebnis-Erstellung innerhalb von rund 30 bis 60 sec
- Einfache Handhabung: kein Chemikalieneinsatz; meist robuste mechanische Geräteausstattung; keine spezielle Ausbildung der Anwender notwendig
- Vereinfachte Probenvorbereitung: Homogenisierung ausreichend
- Zerstörungsfreie Analyse: Material steht für weitere Analysen zur Verfügung
- Multianalyse-Fähigkeit: Analyse mehrerer Bestandteile durch einen einzelnen Scan möglich

Immer ist bei der Anwendung der NIR-Spektroskopie zu berücksichtigen, dass es sich um ein indirektes chemometrisches Verfahren handelt, welches auf Basis einer entsprechenden Kalibrationsentwicklung arbeitet. Dabei bleiben die Leistungsfähig-

keit der Methode und die Qualität der Ergebnisse an die der eingesetzten Referenzanalytik und an die Konzentrationen der Analyten in der Kalibration gekoppelt. Zusätzlich ist die Kalibrierung stets geräte- und produktspezifisch, was die Vergleichbarkeit der Ergebnisse zwischen verschiedenen Geräten und zwischen den analysierten Produktgruppen erschwert (BÜNING-PFAUE, 2003).

Weiterhin kann sich die Temperaturabhängigkeit der Wasserbestimmung als nachteilig darstellen. Fleisch und Fleischerzeugnisse gehören zu Gruppe der Lebensmittel mit einem in ihrer Zusammensetzung vorherrschenden Anteil an Wasser. Die Signalbanden gebundenen und freien Wassers stellen sich durch Überlagerung sehr breit dar. Durch Temperaturerhöhung im Probengut steigt der Anteil des freien Wassers an, was eine Veränderung der Signalbanden bewirkt. FREUDENREICH (1999) hat durch Messungen an Fleischproben mit unterschiedlichen Temperaturen des Materials Schwankungen des ermittelten Wassergehalts von $\pm 1,3$ % und des Fettgehalts von $- 0,3$ bis $+ 2,3$ % beobachten können. Durch Einhalten des konstanten Temperaturbereichs der jeweils zugrundeliegenden Kalibration, der gerätespezifisch meist bei $+ 17^{\circ}\text{C}$ bis $+ 23^{\circ}\text{C}$ liegt, kann einer Verzerrung der Ergebnisse jedoch begegnet werden (BÜNING-PFAUE, 2004; FREUDENREICH, 1999).

6 NMR-Spektroskopie

6.1 Einführung zur NMR-Spektroskopie

Die als nuclear magnetic resonance - NMR - bezeichnete magnetische Kernresonanz, auch Kernspinresonanz, wurde 1946 fast zeitgleich von zwei Arbeitsgruppen um F. Bloch und E.M. Purcell nachgewiesen und hat seitdem fundamental zur Strukturaufklärung von Molekülen und zur Analyse verschiedenster Stoffe in Festkörperphysik, Chemie, Biochemie und Biologie beigetragen (HAAS, 1988; FRIEBOLIN, 1999). Die Fortschritte im Bereich der Gerätetechnologie, der physikalischen Verfahren und der rechnergestützten Auswertemöglichkeiten haben seitdem zu bedeutenden Erweiterungen der Anwendungsgebiete und Verfahren geführt. So ermöglicht der Ausbau der NMR-Methoden beispielsweise die Verwendung unterschiedlich starker Magnetfelder (niedrig auflösende oder hoch auflösende NMR-Spektroskopie), variabler Impulsfrequenzen und spezialisierter mathematischer Auswertemodelle, um hoch sensitive spektroskopische Untersuchungen durchführen zu können (FRIEBOLIN, 1999; ROGER RUAN UND CHEN, 2001). Als Beispiel für eine erweiterte NMR-Methode kann das Magnetic Resonance Imaging-Verfahren (MRI) angeführt werden. Hier wird die zweidimensionale Darstellung der unterschiedlichen Verteilung von Fett und Wasser in Muskulatur dazu genutzt, die Zusammensetzung und Qualität von Schlachtierkörpern oder von ausgewählten Teilstücken zu bewerten (DAVENEL ET AL., 1999).

In zunehmenden Maß findet die NMR-Spektroskopie auch Verbreitung als Schnellanalytik im Bereich der Lebensmitteluntersuchung. Im Gegensatz zur klassischen chemischen Strukturanalyse stellen hier die Quantifizierung bekannter Zielanalyten oder die Authentizitäts- und Qualitätsprüfung eines Lebensmittels im Vordergrund der Anwendung. Authentizitäts- und Qualitätsprüfungen werden dabei durch die hochauflösende NMR-Spektroskopie möglich, die mit deutlich höheren Feldstärken des Magnetfeldes eine verfeinerte Darstellung der Spektren erreicht. Als Vorteil der NMR-Spektroskopie ist zu sehen, dass sie meist ohne Probenaufbereitung eine zerstörungsfreie, nicht-invasive und schnelle Analyse ermöglicht (ROGER RUAN UND CHEN, 2001).

Die quantitative Bestimmung des Feuchtegehalts ist eines der ältesten Anwendungsgebiete der niedrig auflösenden NMR-Spektroskopie bei Lebensmitteln (COLQUHOUN UND GOODFELLOW, 1994). Beispiele für die Anwendung von NMR-Analysen in der Untersuchung von Lebensmitteln sind der **Tabelle 8** zu entnehmen (modifiziert nach BARKER UND KOCH, 1995).

Produkt	Zielanalyten	Zeitaufwand
Mehle, Grieß , Brot	Feuchte	30 sec
Milchpulver, Käse, Frischkäse	Feuchte und Fettgehalt	10 – 20 sec
verschiedene Ölsaaten	Feuchte, Ölgehalt	20 sec
Zucker	Feuchte	1 min

Tabelle 8: Einsatzgebiete quantitativer niedrigauflösender NMR-Spektroskopie (modifiziert nach BARKER UND KOCH, 1995)

6.2 Physikalische Grundprinzipien der NMR

Die Magnetresonanzspektroskopie basiert auf hochkomplexen physikalischen Sachverhalten, deren umfassende Darstellung im Rahmen dieser Arbeit nicht realisiert werden kann. Vereinfacht soll das Prinzip der Kernresonanz mit dem Aufbau aller Moleküle aus Atomen und ihren durch die Quantenmechanik definierten Eigenschaften erklären.

Jeder Atomkern setzt sich aus Protonen und Neutronen zusammen, wobei für Isotope mit einer Spinquantenzahl $I = \frac{1}{2}$ eine Eigenrotation des Atomkerns um die Kernachse, der Kernspin, resultiert. Isotope mit ungerader Protonen- und / oder Neutronenzahl wie ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F oder ^{31}P weisen dadurch einen gequantelten Drehimpuls P auf, der durch die Eigenrotation dieser Nukleonen entsteht. Nach der klassischen quantenmechanischen Vorstellung entsteht mit jeder bewegten Ladung ein, wenn auch sehr kleines, magnetisches Moment μ , ein kernspezifisches nach außen wirkendes Magnetfeld.

Dabei sind der Drehimpuls P und das magnetische Moment μ sind über die Proportionalitätskonstante γ gemäß folgender Formel miteinander verknüpft:

$$\mu = \gamma \cdot P$$

Die Proportionalitätskonstante γ stellt für jedes Isotop eine charakteristische Konstante dar und wird als gyromagnetisches Verhältnis bezeichnet. Das gyromagnetische Verhältnis bestimmt jeweils die NMR-Nachweisfähigkeit bestimmter Isotope. Je größer das Moment γ ist, desto höher stellt sich auch die NMR-Empfindlichkeit dar. Wichtige Isotope für die Untersuchungen organischer Verbindungen stellen dabei ^1H -, ^{13}C - und ^{31}P - Isotope dar. Von diesen ist ^1H das Isotop mit der größten natürlichen Häufigkeit und besitzt außerdem das größte gyromagnetische Moment der natürlich vorkommenden Isotope (FRIEBOLIN, 1999; MIN UND BOFF, 2003; SCHWEDT, 1996).

Wird ein Kern mit Drehimpuls P und magnetischem Moment μ einem äußeren statischen Magnetfeld der Flussdichte B_0 ausgesetzt, so richtet sich der Kernspin gequantelt, d. h. entweder parallel oder antiparallel in Feldrichtung des Magnetfeldes aus. Aus energetischen Gründen wird die parallele Ausrichtung bevorzugt. Es entsteht eine kreiselnde Bewegung des Kerns um eine Achse z , die mit der Feldrichtung des Magnetfeldes übereinstimmt. Die typische Frequenz ist proportional der magnetischen Flussdichte und wird als „Larmor-Frequenz“ angegeben. Nach Vorstellung der Quantenmechanik besetzen die Kerne dabei unterschiedliche Energieniveaus. Durch Aufsummierung der Energie aller magnetischen Kernmomente in einer Probe lässt sich die so genannte makroskopische Magnetisierung M_0 mit Orientierung in Richtung des Magnetfeldes B_0 definieren. Dabei wirkt das statische Magnetfeld jedoch nicht auf alle Kerne einer Probe gleich effektiv und es kommt zu geringfügigen Unterschieden in den einzelnen Larmor-Frequenzen. Wird nun auf die präzedierenden Kerne eine weitere hochfrequente elektromagnetische Welle eingestrahlt, deren Frequenz der Larmor-Frequenz entspricht, so treten Übergänge zwischen den Kernen von energieärmeren auf energiereichere Energieniveaus auf. Durch den Anstoß dieses Impulses wird die makroskopische Magnetisierung der Kerne in Richtung des Impulses abgelenkt. Die dabei auftretende Energieabsorption wird als Resonanz be-

zeichnet und lässt sich in Empfängerspulen als kosinusförmiges Spannungssignal darstellen, d. h. in quantitative Aussagen umsetzen (FRIEBOLIN, 1999; MIN UND BOFF, 2003; SCHWEDT, 1996). Die weitere Vorgehensweise der NMR-spektroskopischen Verfahren soll in nachfolgenden Ausführungen behandelt werden.

6.3 Messprinzipien

Nach Art des eingesetzten Anregungsimpulses wird bei NMR-Verfahren zwischen kontinuierlicher - CW - (engl. continuous wave) und gepulster oder Impuls-NMR unterschieden. Die CW-Methode erzielt ein kontinuierliches Absorptionsspektrum, indem entweder bei kontinuierlicher Flussdichte B_0 die Frequenz des eingestrahlten Senders variiert wird oder umgekehrt. Nach BARKER UND KOCH (1995) stellt sich die Isolation der einzelnen Absorptionslinien gerade bei Feststoffen mit dieser Methode erschwert dar, so dass das CW-NMR als Schnellmethode keine größere Verbreitung gefunden hat.

Die beim Impuls-NMR eingesetzten Hochfrequenz-Impulse im Bereich von wenigen Mikrosekunden werden auf die präzedierenden Kerne mit einem definierten Winkel von 90° oder 180° zur magnetischen Flussdichte des statischen Magnetfelds eingestrahlt. Dies erzeugt ein Abkippen der makroskopischen Magnetisierung in Richtung der Empfängerspule. Angeregt werden durch die gezielte Steuerung des Impulses jeweils die Kerne des ausgewählten Isotopentyps. In den Empfängerspulen entsteht als Signal der entsprechenden Frequenz eine abklingende Kosinusspannung. Sie ist proportional zur Anzahl der präzedierenden Kerne. Nach Abschalten des Anregungsimpulses kehren die Spins der Protonen zu ihrer ursprünglichen Orientierung im statischen Magnetfeld zurück. Dies wird als Relaxation bezeichnet. Die elektromagnetischen Signale klingen dabei unter definierten Zeitbedingungen ab. Die Abnahme der Längsmagnetisierung in der Detektionsebene wird als Spin-Spin-Relaxation oder transversale Relaxation T_2 , der Wiederaufbau der makroskopischen Magnetisierung in der Richtung des statischen Magnetfeldes als Spin-Gitter-Relaxation oder longitudinale Relaxation T_2 charakterisiert. Die an der Detektorspule erhaltenen Kosinusschwingen werden anschließend mithilfe der mathematischen Fourier-Transformation in das typische NMR-Spektrum umgerechnet, bei dem die Amplitude gegen die Frequenz des Impulses aufgetragen wird. Dabei sind die an der Empfängerspule entste-

henden Spannungen proportional zur Anzahl der Isotope, so dass aus der Intensität des Signals die Konzentrationen abgeleitet werden. Beeinflusst werden die Relaxationszeiten der angeregten Kerne durch ihre probenspezifische chemische und physikalische Umgebung. Darüber hinaus lassen sich durch methodenspezifische Steuerung der Anzahl, Richtung und Frequenz der Impulse und des zeitlichen Abstands („delay“) zwischen einzelnen Impulsen Spektren aufspalten und differenzieren, um weitreichende Informationen zu den Analyten erhalten zu können (FRIEBOLIN, 1999; ROGER RUAN UND CHEN, 2001).

Aufgrund der jeweiligen Bindungsverhältnisse der betreffenden Moleküle ist die so genannte chemische Verschiebung bei NMR-Untersuchungen der einzelnen Isotope zu berücksichtigen. Durch den Molekülverband und die räumliche Anordnung der Protonen darin entstehen vielschichtige Abschirmungseffekte an den einzelnen Kernen, die eine Verschiebung des Signals bewirken. Daneben treten Nachbargruppeneffekte und Kopplungseffekte zwischen verschiedenen Isotopen auf, die zu einer Aufspaltung des erhaltenen Signals führen. Um diesen Einflüssen zu begegnen, muss die dimensionslose Größe der chemischen Verschiebung δ miteinbezogen werden (FAUHL UND WITTKOWSKI, 2004; FRIEBOLIN, 1999; MIN UND JEFF, 2003; SCHWEDT, 1996).

$$\delta = \frac{\Delta\nu}{\text{Messfrequenz}} 10^6$$

mit $\Delta\nu$ = Differenz aus Resonanzsignal der Probe und Resonanzsignal des referierenden Standards

Messfrequenz = empfohlene Basisfrequenz für das ausgewählte Isotop

6.4 Quantitative NMR-Messungen

Bei Fleisch und Fleischerzeugnissen steht die quantitative Bestimmung des Fett- und Wasseranteils durch die NMR-Spektroskopie im Vordergrund. Dazu verwendete Geräte arbeiten meist nach dem Prinzip der Impuls-Spektroskopie, wie es in vorhergehenden Ausführungen erläutert wurde (z. B. Bruker Minispec; Maran Benchtop Pulsed NMR Analyser, Resonance Instruments).

Die Quantifizierung erfolgt dabei über die Resonanzsignale des ^1H -Isotops, das sowohl in Wasser als auch in Fett eine große Häufigkeit aufweist. Dies führt zu relativ hohen Signalüberlappungen in komplexen Mischungen. Die ^1H -Protonen der Wasserphase sind allerdings in der Lage, schneller als die der Fettphase zu relaxieren. Beide Relaxationszeiten liegen für ^1H jeweils im Bereich von nur wenigen Millisekunden. Mit Hilfe eines sogenannten gepulsten Feld-Gradienten-Experiments kann hier eine bessere Differenzierung der Spektren erreicht werden. Dazu wird eine weitere gepulste Spannung, der Feld-Gradient, eingestrahlt, der in Abhängigkeit von seiner Einstrahlungsrichtung zu einer Oszillation des magnetischen Kernmoments quer zum statischen äußeren Magnetfeld führt. Es entsteht ein zeitlich versetztes Signal, das sogenannte Spin-Echo. Durch Kombination mehrerer Impulse lässt sich die Spin-Echo-Technik erweitern. Hierbei wird durch Anlegen weiterer Impulse in definierten Winkeln (90° , 180°) und definierten Zeitabständen zu dem jeweils vorhergehenden Impuls ein Spin-Echo generiert. Dieses Signal entspricht proportional der Konzentration des Bestandteils mit längerer Relaxationszeit. Durch Anlegen speziell gesteuerter multipler gepulster Feld-Gradienten lassen sich so in modernen NMR-Verfahren die Signale von Wasser unterdrücken, was die gleichzeitige Bestimmung von Fett- / Öl-Phase und der Wasserphase in einem Messvorgang möglich macht. NMR-Verfahren dieser Art werden als m-PFGSE (multi pulsed magnetic field uradient spin echo experiment) bezeichnet (SØRLAND ET AL., 2004).

NMR-Geräte mit einfacher Spin-Echo-Methodik erfordern zur Bestimmung des Fettgehalts eine sich an die erste Vermessung anschließende Trocknung des homogenisierten Probenguts. Aus dem eingangs ermittelten Gesamtgehalt an ^1H -Isotopen wird der Gehalt des Fettes anhand der nach Trocknung nun allein aus Fett stammenden ^1H - Kerne bestimmt.

Alle NMR-Systeme bedürfen aufgrund der nach Herkunft (Pflanze oder Tier bzw. Spezies) spezifisch differenten ^1H -Protonen-Dichte in Fetten oder Ölen einer präzisen Kalibration mithilfe geeigneter Standards (COLQUHOUN AND GOODFELLOW, 1994; FAUHL UND WITTKOWSKI, 2004; MIN UND BOFF, 2003; SØRLAND ET AL., 2004). Voraussetzung für die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse stellt weiterhin eine ausreichende Temperierung des Probenmaterials dar, da bei Fetten die Signalamplitude durch unterschiedliche Schmelzpunkte temperaturabhängig ist. Durch Erwärmung auf rund $+ 40^\circ\text{C}$ wird gewährleistet, dass sich alle Lipide in flüssigem Zustand

befinden und die Schmelzpunktunterschiede aufgehoben sind (BARKER UND KOCH, 1995).

6.5 Apparativer Aufbau von NMR- Spektroskopen

Niedrig auflösende NMR-Geräte bestehen aus einer Magnet-Einheit und einer Auswerteeinheit. Den Mittelpunkt der Geräte stellt der Elektromagnet zur Erzeugung des notwendigen Magnetfelds dar. Zwischen den Polen des Magneten ist der Probenkopf eingefügt, auf den das Probenmaterial aufgesetzt wird. Senkrecht zur Richtung des Magnetfeldes werden durch eine Senderspule die Hochfrequenzimpulse auf die Probe eingestrahlt. Über eine Detektorspule, die senkrecht zum Magnetfeld und zur Impulsrichtung angebracht ist, werden die Resonanzsignale erfasst und an eine Empfängereinheit weitergeleitet. Des weiteren benötigen die Geräte entsprechende Spulen zur Erzeugung der Feld-Gradienten. Die Verarbeitung der erhaltenen Signale geschieht rechnergestützt. Die Größe kommerzieller Geräte für die Lebensmittelanalytik ist meist so dimensioniert, dass ein Einsatz als Tischgerät problemlos möglich ist.

7 Optisches Sensormodul

7.1 Entwicklung des Sensormoduls

Das Grobkonzept zur Anfertigung des Sensormoduls wurde im Rahmen einer Machbarkeitsstudie durch eine Arbeitsgruppe des Fraunhofer Instituts für Angewandte Optik und Feinmechanik (IOF) / Jena erstellt. Ziel des Vorhabens war, eine optische Detektionseinheit zu konstruieren, die im Durchflussverfahren eine möglichst genaue und nicht-invasive Bestimmung von Magerfleisch-, Fett- und Bindegewebsanteilen in zerkleinertem Fleisch ermöglicht. Angestrebt ist dabei eine so rasche Erstellung der Analyseergebnisse, dass eine mechanische Separation und Sortierung der Fleischpartikel nachgeschaltet werden kann. Diese Konzeption soll die kontinuierliche In-Line-Analyse von Verarbeitungsfleisch vor und während relevanter Verarbeitungsschritte wie Mischen, Wolfen oder Kuttern im Rahmen industrieller Produktion ermöglichen. Ziel ist es dabei, durch Integration des Sensormoduls in die laufenden Produktionsströme die einwandfreie Zusammensetzung der entstehenden Fleischerzeugnisse umfassend kontrollieren und steuern zu können. Dies bedeutet eine kosteneffektive und rezepturoptimierte Verwertung der eingesetzten Rohmaterialien unter Erfüllung der rechtlichen Vorgaben. Des Weiteren ist angedacht, das optische Sensormodul bei Bestätigung seiner Leistungsfähigkeit auch als Laborgerät zum Einsatz zu bringen, das als kostengünstiges Schnellverfahren die präzise Bestimmung von Wasser, Fett, Rohprotein und Bindegewebe in Fleisch und Fleischerzeugnissen ermöglicht.

7.2 Physikalische Prinzipien des Sensormoduls

Aus schutzrechtlichen Erwägungen können im Rahmen dieser Arbeit keine detaillierten Ausführungen zum technischen Aufbau und zum optischen Funktionsprinzip des Sensormoduls gemacht werden. Zum nötigen Verständnis des Sachverhalts sollen nachfolgende Angaben dienen.

Eine spezielle Kombination von optischen Strahlungsquellen und Sensoren wurde konstruiert, um Fleischoberflächen mit elektromagnetischer Strahlung so zu illuminieren, dass eine Bestimmung der Schlüsselparameter Wasser, Fett, Rohprotein und

Bindegewebe möglich wird. Verwendet werden dabei unterschiedliche Wellenlängen, die auf die Oberfläche des Probenmaterials einstrahlen und deren als Reflektion erhaltenen Absorptionsspektren anschließend integral umgesetzt werden. Die insgesamt 11 Wellenlängen des Prototypen umfassen dabei das Spektrum des UV-Bereichs über den VIS-Bereich (400 nm bis 700 nm) bis zum beginnenden NIR-Bereich (700 nm bis 1050 nm).

Bei der Illumination von Fleisch mit VIS-Strahlung entstehen spezifische Absorptionspeaks im Bereich von 410 bis 430 nm sowie um 560 nm, die stark miteinander korrelieren. Verantwortlich für diese Peaks ist das Chromoprotein Myoglobin, das durch seinen spezifischen Extinktionskoeffizienten von 525 nm diese Absorptionen erzeugt (SWATLAND, 1998). Myoglobin ist dabei als spezifischer Bestandteil des Muskeleiweiß anzusehen, der so in Fett und Bindegewebe nicht vorhanden ist. Durch die in das Labormustergerät integrierten VIS-Lichtquellen soll daher eine Unterscheidung zwischen Fett und Muskelfleisch über verschiedene Reflektionsintensitäten möglich werden (BRØNDUM, 2000).

Wie bereits unter Punkt 5.5 beschrieben, entstehen durch Anregung mit NIR-Strahlen spezifische Absorptionsspektren für Fett, Wasser und Protein. Sie finden sich bei 928 nm für Fett, 964 nm für Wasser und 908 nm für Protein (ALOMAR ET AL., 2003). Im IOF-Labormustergerät wird die Unterscheidung von Wasser, Fett und Protein durch NIR-Wellenlängen von 810 nm, 840 nm, 905 nm, 940 nm, 970 nm und 1050 nm zusätzlich erweitert. Nach SWATLAND (1995) lässt sich durch Anregung mit UV-Strahlung von 365 - 375 nm Wellenlänge eine spezifische Fluoreszenz von Kollagen und Elastin in Fleisch hervorrufen. Über die Integration analoger UV-Strahlungsquellen in das IOF-Sensormodul soll daher die Erkennung von Bindegewebe ermöglicht werden.

Im Einzelnen wurden für das im IOF gebaute Labormustergerät folgende Wellenlängen ausgewählt: 420 nm, 470 nm, 525 nm, 633 nm, 810 nm, 840 nm, 905 nm, 940 nm, 970 nm und 1050 nm. Die verschiedenen Wellenlängen waren durch Vorversuche an Muskelfleisch, Schwarte, Sehnen und Fettgewebe ausgewählt worden. Dazu waren die Probenmaterialien über das gesamte UV-, VIS- und nahe NIR-Spektrum in 5 nm-Schritten gescannt worden. Bemessungsgrundlage waren dabei eine jeweils

deutliche Signalintensität und die relative Schärfe der Reflektionsspektren. Die mechanischen und optischen Konstruktionspläne des Moduls wurden in ein Labormustergerät umgesetzt, das über entsprechende Signalverstärker mit einem Rechner als Auswerteeinheit verbunden ist. Die erhaltenen Reflektions- und Fluoreszenzintensitäten werden über einen "lock-in"-Verstärker an einen Rechner weitergeleitet, an dem die Spektren mittels geeigneter Auswertesoftware (LabVIEW Version 6.0, National Instruments) dargestellt werden. Um die Detektionseinheit justieren zu können wird zwischen jeder Probe ein Weiß-Standard vermessen.

Die Probengefäße bestehen aus speziellem Glas, um eine Beeinflussung der optischen Detektionswerte durch das Material auszuschließen, und sind als Röhren mit einem Durchmesser von 5 cm konstruiert. Dies soll dem geplanten Einsatz als Durchfluss-Analyse-Verfahren während laufender Produktionsprozesse Rechnung tragen. An jeder Fleischprobe (je ca. 150 g) werden auf einer Strecke von ca. 15 cm insgesamt 10 an verschiedenen Stellen positionierte Messpunkte mit einem Durchmesser von rund 2 cm erfasst und ausgewertet. Durch dieses Vorgehen soll der Vorschub von Material in der Produktion simuliert werden.

8 Versuchsaufbau und -gestaltung

8.1 Material

Das Fleisch für die Herstellung der Proben wurde am Vortag der optischen Untersuchung in Frischtheken unterschiedlicher Handelsketten und in Metzgereien erworben, auf Ware aus SB-Theken wurde verzichtet. In allen Fällen handelte es sich um Fleisch als unbehandelte Stückware oder um auf Anfrage gezielt ausgewählte Abschnitte, die bei Zerlegung und Zuschnitt angefallen waren. Alles Fleisch war gereift, von ausreichender Frische und vorschriftsmäßig gekühlt. Unter Beachtung der Labor-Kapazitäten für die nasschemische Analytik nach § 64 LFGB wurden die Proben-gruppen pro Untersuchungsdurchgang wie folgt zusammengestellt:

- Reines Schweinefleisch, jeweils 2 Proben
- Reines Rindfleisch, jeweils 2 Proben
- Halb/Halb: Rind- und Schweinefleisch im Verhältnis 50:50 gemischt, je-weils 2 Proben

Rind- und Schweinefleisch wurde im Hinblick auf eine möglichst praxisnahe Gestal-tung des Probenmaterials der Vorzug vor anderen Fleischsorten gegeben, da das Fleisch dieser Spezies den größten Mengenanteil in der Fleischwarenproduktion ein-nimmt. Ausgewählt wurde das Fleisch unter dem Gesichtspunkt, eine möglichst gro-ße Varianz der Proben hinsichtlich Fett-, Bindegewebs- und Muskelfleischanteil zu erreichen. Verwendet wurden vom Schwein Bauch, Speck, ausgelöste Schweine-schulter und stark bindegewebshaltige Abschnitte, vom Rind Brustfleisch, Wade und ebenfalls Abschnitte mit variierenden Bindegewebs- und Fettanteilen.

Insgesamt wurden 54 Proben in neun Durchgängen à 6 Proben untersucht. Daraus ergibt sich eine Anzahl von insgesamt 18 Proben Rindfleisch, Schweinefleisch und Halb/Halb. Vom gesamten Probenkontingent konnten aus logistischen Gründen nur 30 ausgewählte Proben mit der NMR-Methode vermessen werden.

8.2 Probenvorbereitung

Das Fleisch wurde zunächst von Hand in Würfel mit etwa 3 - 4 cm Kantenlänge vorgeschnitten und in Einwaagen von jeweils ca. 150 g / Probe sortiert. Das Material wurde danach portionsweise in einem handelsüblichen Fleischwolf vorgeschrotet. Verwendet wurden dazu ein Vorschneider und eine Lochscheibe mit 8 mm Durchmesser. Das so bearbeitete Fleischgemenge wurde anschließend von Hand nochmals kurz vermischt und unter Druck in die gläserne Messröhren (Durchmesser 5 cm) eingefüllt, die beidseits mit dicht abschließenden Kunststoffscheiben verschlossen wurden. Dabei wurde auf eine möglichst kompakte und von Lufteinschlüssen freie Befüllung der Probengefäße geachtet. Die befüllten Röhren wurden anschließend sofort gekühlt und während des Transports zum Ort der optischen Vermessung bei + 2° bis + 7°C in einer Kühlbox gelagert. Nach der ersten Vermessung im optischen Sensormodul erfolgte eine sorgfältige Zerkleinerung des Probenmaterials durch folgende Schritte:

- Wolfen in einem haushaltsüblichen Fleischwolf, 4 mm- Lochscheibe
- Zerschreddern der in Schneckengang, Messer und Lochscheiben festhaltenden Bindegewebsanteile unter Zusatz von Trockeneis in einem Zerkleinerungsgerät der Marke „Moulinette“ von Moulinex
- Homogenisierung beider Fraktionen gemeinsam im Zerkleinerungsgerät

Das Homogenisat wurde für die zweite optische Untersuchung unter weitgehender Vermeidung von Lufteinschlüssen erneut in Glasröhren verbracht und wieder gekühlt. Nach Abschluss der zweiten optischen Messungen wurden die Proben in luftdicht verschlossene Plastiktüten gegeben und diese unter Kühlung in das chemische Referenzlabor transportiert. Vor Beginn der referenzanalytischen Untersuchungen wurden die Proben erneut gründlich durchmischt, um dem teilweise vorhandenen Wasser- und Fettabsatz zu begegnen. Das Material wurden in Plastikbehälter überführt und nach Abschluss der NIR-Messungen und nasschemischen Analyse bei - 18°C tiefgefroren. Die Probenmengen für die NMR-Messungen von je etwa 10 g wurden aus dieser tiefgefrorenen Substanz entnommen und unter Trockeneis-Kühlung zur Analyse in das NMR-Labor der Resonance Instruments Ltd. / GB, transportiert.

8.3 Durchführung der Messungen

8.3.1 Optische Messungen am Sensormodul

Im ersten Messdurchgang wurden die mit grob zerkleinertem Material gefüllten Glasröhren bei den ausgewählten Wellenlängen vermessen. Die Messungen wurden nach Einweisung durch die Wissenschaftler des IOF durchgeführt und nahmen pro Probe etwa 2 - 3 min in Anspruch, so dass eine Erwärmung des Probenmaterials nicht eintreten konnte. Pro Probe und Messdurchgang wurden auf einer Länge von rund 15 cm insgesamt 10 unterschiedliche Messpunkte ausgewertet. Bei der zweiten Messung am homogenisierten Probenmaterial wurde unter denselben Voraussetzung wie bei Messung 1 verfahren. Zwischen jeder Probe wurde die Erfassungseinheit des Sensormoduls durch Vermessung des Weiß-Standards wieder auf die Ausgangs-Nullwerte justiert.

8.3.2 NIR-Spektroskopie

Alle Proben wurden im laboreigenen FoodScanTM Meat Analyser des Unternehmens FOSS / Dänemark spektroskopisch untersucht. Das Tischgerät (37 kg Gewicht) ist von seinen Abmessungen her speziell für den Einsatz in der Laborumgebung konzipiert worden und arbeitet auf Basis von Transmissionsmessungen im Spektralbereich von 850 bis 1050 nm. Das Gerät ist ausgestattet mit einer Tungsten-Halogenlampe als Strahlungsquelle, mit Monochromator, drehbarem Probenteller und einem darunter befindlichen Detektor aus Silicium und ist von einem robusten Edelstahlgehäuse umgeben. Um die notwendigen Wellenlängen durchzuscanen, kommt ein Dispersions-Gitter-Monochromator zum Einsatz. Die systemspezifische Probenschale (Durchmesser 9,5 cm, Höhe 1,5 cm) besitzt einen strahlungsdurchlässigen Boden aus Quarzglas, der von einem Edelstahlrand eingefasst ist. Verbunden ist die Messeinheit mit einem externen PC, an dem auf einer Windows Matrix die softwaregestützten Auswertungen stattfinden und über den spezifische Eingaben zur Identifikation der Proben gemacht werden.

Der FoodScanTM Meat Analyser bestimmt in Fleisch und Fleischerzeugnissen die Schlüsselparameter Fett, Wasser, Rohprotein und Kollagengehalt, wobei letzter als BEFFE-Werts transferiert wird. Pro Messdurchgang werden über die Fläche der pro-

benschale 18 Messpunkte ausgewertet und anschließend das Probenergebnis als Mittelwert der Einzelergebnisse in % angegeben. Die Auswertung der Transmissionspektren basiert auf einer Kalibrationsgrundlage durch Artificial Neural Network (ANN), ein chemometrisches Spezialverfahren zur Berechnung der multivariaten Korrelationen zwischen den Fleischparametern und Absorptionen im NIR-Wellenlängenbereich. Es stellt ein mathematisches Berechnungsmodell dar, bei dem unter Einbeziehung komplizierter nichtlinearer Funktionen Informationen parallel verarbeitet werden können. Diese Kalibrationsgrundlage erlaubt nach Herstellerangaben die Analyse von auch stark im Fettgehalt variierenden Fleischproben. Zudem wird eine aufwendige und kostenintensive Kalibration im täglichen Gebrauch überflüssig, da die ANN-Kalibration nur periodisch verifiziert werden muss. Nach Herstellerangaben kann auf Basis dieses ANN-Kalibrationsmodells die zuverlässige Kalibrierung für die gewünschten Fleischsorten und Fleischerzeugnisse erfolgen (JØNS, 2004). Die Kalibrationsmatrix für Rinderhackfleisch, Schweinehackfleisch und gemischtes Hackfleisch wurde vom Hersteller für die laboreigenen Anwendungen entsprechend vorinstalliert. Diese Matrizes wurden für alle im Rahmen des Dissertationsvorhabens durchgeführten Messungen verwendet.

Nach Arbeitsanweisung des Herstellers wurde das Probenmaterial nach Entnahme aus der Kühlung bis zum Erreichen der Raumtemperatur von ca. + 23°C verschlossen im Probenbehälter belassen. Danach erfolgte die erneute gründliche Vermischung des homogenisierten Materials im Probengefäß mit einem Metallspatel. Die Probenschale des Spektroskops wurde anschließend mit dem homogenisierten Probenmaterial gleichmäßig befüllt. Dabei wurde auf eine dichte Packung des Materials, den Ausschluss von Luftblasen, einen bündigen Abschluss mit dem Rand der Schale und eine gleichmäßige Füllhöhe bei jeder Probe geachtet. Nach Einschalten des Rechners führte der FoodScan™ Meat Analyser automatisch einen Selbsttest zur Überprüfung der korrekten Funktionsfähigkeit der gesamten technischen Apparatur und Ergebnis-Ermittlung und -weitergabe durch. Die befüllte Probenschale wurde dann in die vorgesehene Vertiefung des Probentellers eingestellt und die Tür zum Probenraum geschlossen. Nach Auswahl der jeweils passenden Kalibrationsmatrix am Rechner wurde eine einzelne Probenvermessung aktiviert. Diese nahm jeweils einen Zeitraum von 30 sec in Anspruch. Die ermittelten prozentualen Endergebnisse für Rohprotein, Wasser, Fett und BEFFE wurden anschließend mit einer kurzen Be-

schreibung des Probenmaterials abgespeichert. Zwischen den einzelnen Proben wurde die Probenschale gründlich gereinigt und abgetrocknet.

8.3.3 NMR-Spektroskopie

Die NMR-spektroskopischen Bestimmungen des Fett- und Wassergehalt wurden im Labor der Resonance Instruments Ltd. mit Sitz in Witney, GB durchgeführt. Das Unternehmen ist mittlerweile in den Besitz der Oxford Instruments, GB übergegangen. Zum Einsatz kam als NMR-Spektroskop ein MARAN QuickFat Analyser®. Dieses niedrig auflösende NMR-Spektroskop arbeitet auf Basis der weltweit patentierten EinPuls-Methode. Die Fett- und Wasserbestimmung des MARAN QuickFat Analyser® erfolgt dabei auf Basis der sogenannten m-PFGSE- Methode (multi-pulsed Magnetic Field Gradient Spin Echo).

Kalibrationsgrundlage für die Fettbestimmung stellt eine Einpunktkalibrierung mittels eines Standards von 100 % Fett dar. Für die durchgeführten Messungen wurden spezifisch ein Referenzstandard von 100 % Olivenöl verwendet. Die Bestimmung des gemeinsamen Wasser + Fett-Signals in Referenzproben mit bekanntem Feuchtegehalt ermöglicht zunächst die Kalibration des Wassergehalts. Durch das gerätespezifische m-PFGSE-Verfahren lässt sich dann der Wassergehalt durch automatische Substraktion des Lipid-Signals vom Gesamtsignal aus Wasser und Fett errechnen. Die rasche (unter 1 min) und zuverlässige Durchführbarkeit der Messung macht den MARAN QuickFat Analyser® nach Herstellerangaben überaus geeignet zur Bestimmung von Fett- und Wassergehalt in Fleisch-, Fisch- und Milchprodukten sowie weiteren Lebensmitteln.

Ähnlich wie das FoodScan™-NIR-Spektrometer besteht der MARAN QuickFat Analyser® aus einer Messvorrichtung und der dazugehörigen rechnergestützten Auswerteeinheit, die mit einer methodenspezifischen Anwender-Software betrieben wird. Das Gerät erzeugt ein 23 MHz starkes Magnetfeld und verfügt über Puls-Gradienten-Zusatz. Die gesamte Einheit ist ebenfalls als Tischgerät konzipiert. In der Messeinheit befindet sich zwischen den beiden Magnetpolen der Messkopf, in den das Probenröhrchen (Durchmesser 18 mm; Fassungsvermögen etwa 4 g) zur Messung eingesetzt wird. Um das Probenröhrchen sind der Feldgradienten-Erzeuger und die Empfängerspule angeordnet, von der die empfangenen Signale an den angeschlos-

senen Rechner weitergeleitet werden. Das Gerät kann bei Bedarf mit einem Probenwechsler ausgestattet werden, der im Bedarfsfall die Durchführung von halbautomatisierten Serienmessung ermöglicht.

Für die NMR-Messungen wurde ein Satz von 5 x 6 Proben, insgesamt 30 Einzelproben, ausgewählt, wobei auf eine möglichst große Variation der Fett- und Wassergehalte geachtet wurde. Die Gehalte waren durch NIR-Spektroskopie und nasschemische Untersuchungen vorab analysiert worden. Die tiefgefrorenen Proben wurden im Labor der Resonance Instruments Ltd. bei Raumtemperatur aufgetaut und danach nochmals homogenisiert. Pro Probe wurde eine Menge von 4 g auf zwei Kommastellen genau in das austarierte Probenröhrchen eingewogen. Danach erfolgte eine 30-minütige Temperierung der Proben in einem Wärmeblock, um alle vorhandenen Fette in flüssigen Zustand überführen und gleiche Temperaturbedingungen bei allen Proben zu gewährleisten zu können. Nach der Temperierung im Wärmeblock gelangten die Proben einzeln zur Messung, die jeweils innerhalb einer Minute abgeschlossen war. Erstellt wurden die Gehalte an Fett und Wasser durch insgesamt 30 Einzelmessungen pro Probe, deren Mittelwert das endgültige Resultat ergab. In Abhängigkeit von der Probeneinwaage wird das Ergebnis von Fett- und Wassergehalt in % angegeben.

8.3.4 Nasschemische Vollanalyse

Die Arbeitsschritte nach § 64 der „Amtlichen Sammlung von Untersuchungsmethoden“ wurden in einzelnen Bereichen der nasschemischen Analyse geringfügig abgeändert, wobei diese Änderungen durch den laboreigenen Qualitätsmanagement-Beauftragten unter Beachtung der Grundsätze der Guten Laborpraxis (GLP) grundsätzlich bewilligt wurden sind. Auf eine Auflistung aller in der nasschemischen Analyse verwendeten Chemikalien, Geräte und Hilfsmittel wird im Rahmen dieser Arbeit verzichtet, da eine Validierung oder Verbesserung der angewandten Methoden nicht das Vorhaben der Dissertation darstellt. Detaillierte Informationen zur Beschreibung der einzelnen Vorgehensschritte sind über die entsprechenden Verfahrensnummern der „Amtlichen Sammlung“ zu erhalten.

ERGEBNISSE

9 Allgemeine Erläuterungen

Alle Ergebnisse der NIR-spektroskopischen, der NMR-spektroskopischen und chemischen Untersuchungen werden für die verschiedenen Parameter in % angegeben. Dabei wurden die Daten der NIR- und der NMR-Analysen auf zwei Stellen nach dem Komma, die Ergebnisse der nasschemischen Untersuchung als Mittelwert der Doppelansätze auf eine Kommastelle gerundet. Da die Bestimmung der einzelnen Parameter der Vollanalyse getrennt erfolgte, haben sich im Summenwert der Parameter jeweils Abweichungen von den zu erwartenden 100 % ergeben, die sich jedoch alle innerhalb der zulässigen Toleranzen bewegen. Die gesammelten Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen finden sich im **Anhang** unter **Tabelle 15, 16 und 17**.

Die in den optischen Messungen am IOF-Sensormodul erhaltenen Reflektions- und Fluoreszenzintensitäten werden anhand eines Beispiels verdeutlicht, da die gesamten Ergebnisse aufgrund ihres Umfangs nicht angeführt werden können. Bezüglich des Zugangs zu den spektralen Daten des IOF-Sensormoduls wird nochmals auf die Ausführungen des Kapitels Material und Methoden, Abschnitt 7.2. verwiesen. Die physikalischen Größen aus Reflektion und Fluoreszenz wurden als dimensionslose Intensitäten im Vergleich zum Weiß-Standard angegeben. Erhalten wurden je Probe 10 Einzelwerte für jede Wellenlänge und 10 Fluoreszenz-Werte. Alle Werte wurden auf sechs Null-Kommastellen aufgerundet. Die Einzelwerte wurden dann für alle angewendeten Wellenlängen zu einem Mittelwert (MW) zusammengefasst. Der Probenpool umfasste insgesamt 54 Proben. Da jede Probe zweimal, in grob zerkleinerten und homogenisierten Zustand, optisch vermessen wurde, entstand ein Datensatz von insgesamt 594 physikalischen Größen.

Die Reflektions- und Fluoreszenzwerte der einzelnen Wellenlängen können anhand von Diagrammen verdeutlicht werden. Angetragen wurden hierbei die eingestrahlten Wellenlängen gegen die Reflektion des Weiß-Standards. Nachfolgend finden sich in **Tabelle 9** und **10** sowie **Abbildung 3** und **4** beispielhaft die von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch) erhaltenen Reflektionswerte und ihre graphische Umsetzung. Die modellhafte Anführung der Probe Nr. 37 erfolgte, weil sie im Wesentlichen der Dar-

stellung der Reflektions- und Fluoreszenzspektren der Mehrheit des spektralen Datenpools entspricht.

Wellenlänge	420 nm	470 nm	525 nm	633 nm	810 nm	840 nm	905 nm,	940 nm	970 nm	1050 nm	Fluoreszenz
REFLEKTION	0,115418	0,448061	0,274355	0,283205	0,703434	0,375978	0,269838	0,737064	0,425722	0,059998	0,154
	0,085938	0,283449	0,172303	0,217957	0,569645	0,309389	0,212159	0,561527	0,335085	0,047486	0,139
	0,103272	0,358278	0,202149	0,247132	0,572575	0,3454	0,241517	0,66901	0,362795	0,053894	0,136
	0,094239	0,336672	0,193849	0,235353	0,537296	0,341677	0,239015	0,62952	0,343019	0,051697	0,197
	0,095276	0,322268	0,179688	0,222108	0,497866	0,292543	0,201966	0,546024	0,279665	0,045044	0,121
	0,071961	0,236451	0,138246	0,189576	0,438173	0,262209	0,175721	0,453737	0,262636	0,040344	0,124
	0,077759	0,281984	0,172303	0,206361	0,526005	0,295107	0,201295	0,559696	0,333376	0,044739	0,17
	0,131227	0,444643	0,319643	0,309023	0,733463	0,342409	0,246705	0,694767	0,368227	0,054077	0,237
	0,107728	0,328615	0,227967	0,264223	0,683109	0,332705	0,233827	0,655888	0,328188	0,050843	0,21
	0,084229	0,28406	0,175111	0,215943	0,528324	0,316408	0,219728	0,617619	0,361208	0,05011	0,185
MW	0,09643055	0,32880927	0,20338691	0,23665664	0,57253536	0,32125764	0,22381145	0,61098764	0,33694364	0,04968836	0,1673

Tabelle 9: Reflektion und Fluoreszenz relativ zum Weiß-Standard, Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), grob zerkleinert, (MW = Mittelwert)

Wellenlänge	420 nm	470 nm	525 nm	633 nm	810 nm	840 nm	905 nm	940 nm	970 nm	1050 nm	Fluoreszenz
REFLEKTION	0,107972	0,336977	0,22284	0,252504	0,681339	0,368715	0,26404	0,739567	0,376345	0,056275	0,148
	0,106995	0,336	0,216676	0,249085	0,673954	0,373415	0,266603	0,739201	0,382387	0,056519	0,142
	0,111512	0,330263	0,223084	0,249513	0,659977	0,368227	0,260988	0,739567	0,375124	0,054be871	0,141
	0,108277	0,335878	0,22107	0,252565	0,679264	0,371401	0,264589	0,739628	0,375612	0,055908	0,148
	0,111451	0,347841	0,226319	0,255007	0,686466	0,374086	0,265932	0,739872	0,378237	0,056153	0,149
	0,108582	0,345583	0,223084	0,254702	0,68549	0,374453	0,266298	0,739994	0,375734	0,056091	0,139
	0,10785	0,344362	0,217957	0,252626	0,678165	0,374514	0,266542	0,739933	0,37958	0,056214	0,136
	0,106263	0,33362	0,213868	0,247376	0,661198	0,369753	0,263002	0,739994	0,374331	0,055481	0,137
	0,106507	0,335268	0,212525	0,251589	0,666691	0,372377	0,266237	0,739506	0,381227	0,056458	0,143
	0,107056	0,344423	0,213258	0,252748	0,665409	0,370363	0,264223	0,739628	0,380617	0,056153	0,141
0,106995	0,338381	0,21277	0,249879	0,662296	0,36902	0,262392	0,731998	0,376894	0,055542	0,142	
MW	0,10817525	0,3377805	0,2185575	0,25157825	0,67166517	0,37089725	0,26412625	0,73760358	0,37734667	0,05587292	0,1424

Tabelle 10: Reflektion und Fluoreszenz relativ zum Weiß-Standard, Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), homogenisiert, (MW = Mittelwert)

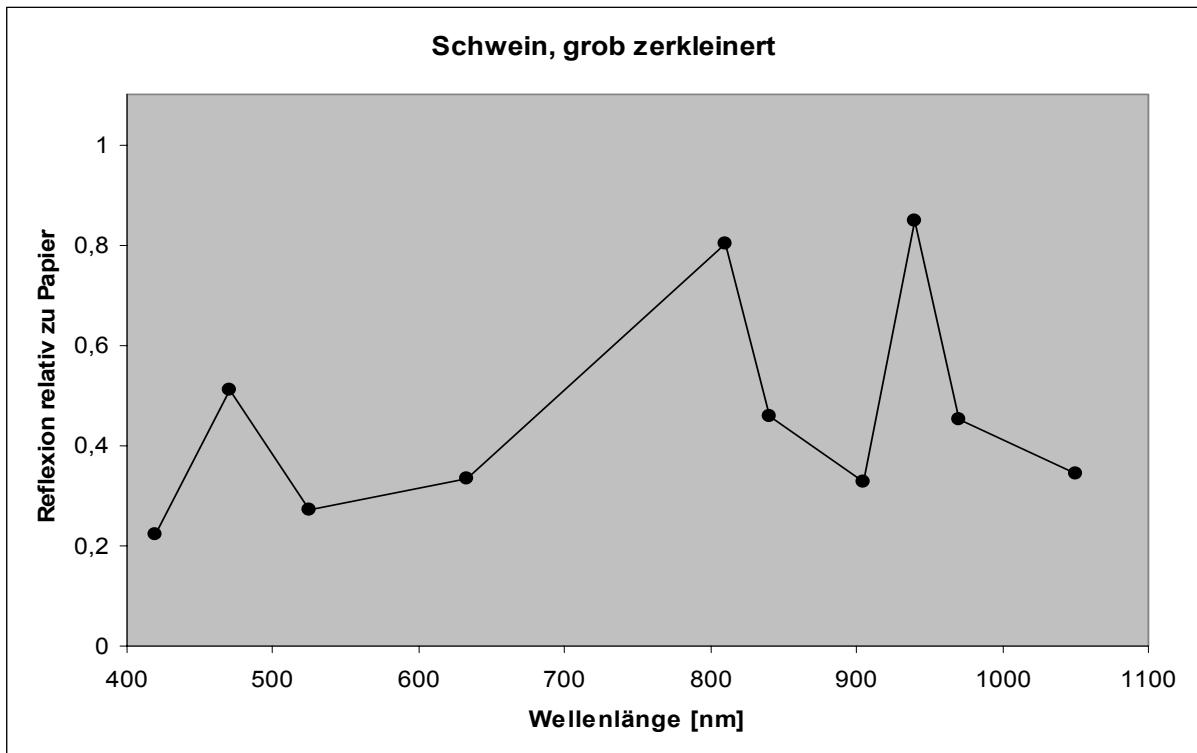


Abbildung 3: Graphische Darstellung der Reflektionsintensität von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), grob zerkleinert, relativ zum Weiß-Standard

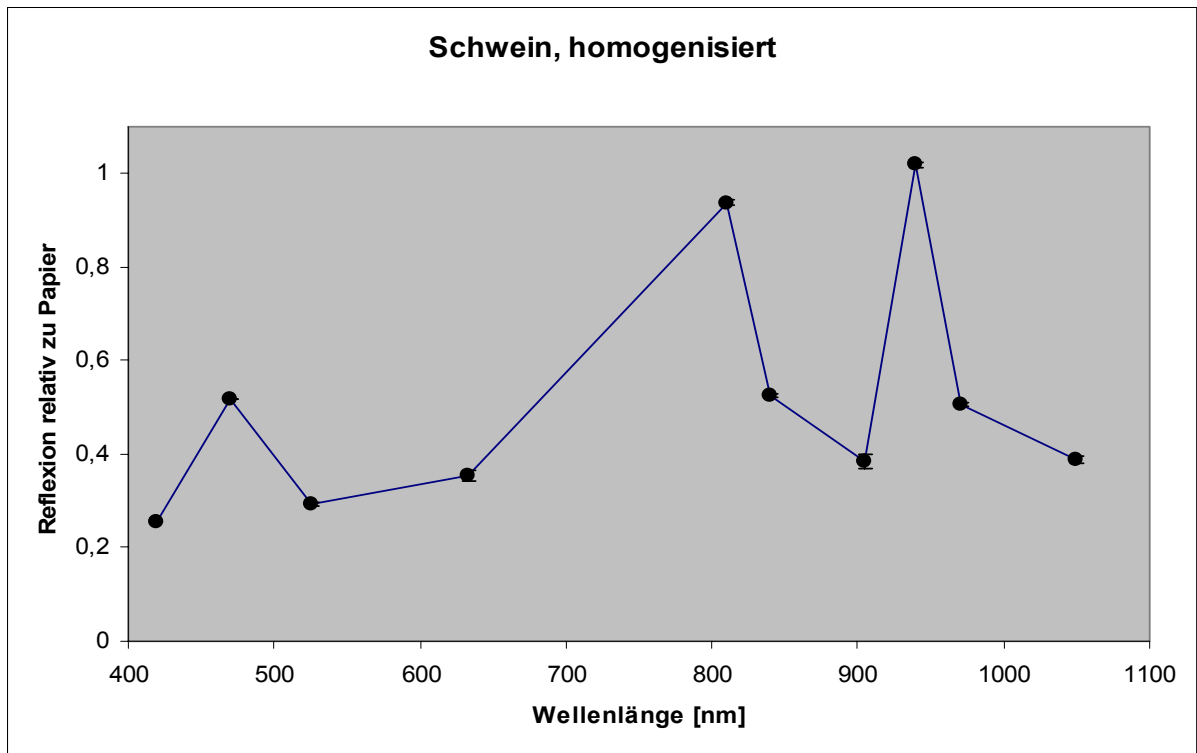


Abbildung 4: Graphische Darstellung der Reflektionsintensität von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), homogenisiert, relativ zum Weiß-Standard

10 Statistische Auswertung

10.1 Optisches Sensormodul

Grundlage für die Auswertung waren die für alle Probennummern 1 - 54 am IOF-Sensormodul erstellten Messdaten und nasschemischen Ergebnisse, wie sie in den praktischen Untersuchungen dieses Dissertationsvorhabens von der Verfasserin erstellt worden waren. Die Datensätze aus den optischen Messungen am IOF-Sensormodul und aus den nasschemischen Referenzanalysen wurden im Rahmen eines Kooperationsvertrags einem auf die Entwicklung von Steuerungsmodellen im Bereich bioinformativer Prozesskontrolle spezialisierten Unternehmen in Jena übertragen. Dies wurde nötig, um ein fachlich fundiertes Gutachten zur Realisierbarkeit des IOF-Projekts erhalten zu können.

Zielstellung der Zusammenhangsanalyse war die Untersuchung zur Vorhersagesicherheit der Bestandteile Wasser, Asche, Fett, Rohprotein und Bindegewebe von Fleischgemengen auf Basis der vorgegebenen 594 physikalischen Größen. Diese Aufgabe erfordert die Entwicklung mathematischer Kalibrationsmodelle, die die gegebenen physikalischen Größen als Eingangsgrößen nutzen, um die fünf interessierenden Fleischbestandteile als Modellausgangsgrößen vorherzusagen. Als Referenzmethode für die Modell-Kalibrierung diente, wie vorher angegeben, die nasschemische Analyse der Fleischbestandteile. Verwendet wurden dabei für alle nasschemischen Parameter nicht die gerundeten Mittelwerte, sondern jeweils die Einzelergebnisse der Doppelansätze.

- **Datenanalyse und Data-Mining**

Die Notwendigkeit einer Datenanalyse und von Data Mining bestand, um die Daten einer Plausibilitätskontrolle zu unterziehen und um prinzipielle einfache Zusammenhänge zwischen den verschiedenen Größen aufzudecken. Eingesetzt wurde das Verfahren der sogenannten Prinzipal Component Analysis (PCA). Die physikalischen und nasschemischen Messdaten wurden mit dem vorrangigen Ziel der Detektion von Ausreißern mittels verschiedener Visualisierungstechniken dargestellt. Bei einigen Datensätzen wiesen die Messwerte bestimmter spektraler Größen untypische Effekte auf, die als Messausreißer zu bewerten sind. So sind

die spektralen Messdaten von 810 nm (Grobes Material und Homogenisat), 905 nm (Grobes Material) und 940 nm (Grobes Material und Homogenisat) für die Modellbildung nicht geeignet und dürfen nicht verwendet werden. Im Ergebnis der Datenanalyse und des Data Mining war festzustellen, dass die Modellbildung separat für die fünf nasschemischen Größen, die drei Fleischsorten und die beiden Fleischaufbereitungsvarianten erfolgen muss. Damit ergeben sich insgesamt 30 zu betrachtende Modelle.

- **Analytische Modellerstellung**

Nach Datenanalyse und Data Mining wurden auf den vorverarbeiteten Daten verschiedene lineare und nichtlineare Modellierungstechniken zur Generierung von möglichst exakten mathematischen Kalibrierungsmodellen angewendet. Im Folgenden werden die eingesetzten Methoden mit den jeweils erzielten Ergebnissen erläutert. Im Rahmen der Korrelationsanalyse wurden die linearen Abhängigkeiten zwischen den einzelnen physikalischen Größen, den einzelnen nasschemischen Größen sowie zwischen den physikalischen und den nasschemischen Größen untersucht. Es wurden lineare Regressionsmodelle erstellt, bei denen die physikalischen Größen, d. h. die 10 spektralen Größen und die Fluoreszenz, die Modelleingangsgrößen darstellen und der Modellausgang jeweils einer nasschemischen Größe entspricht. Die Modellparameter wurden mit der Methode der kleinsten Quadrate (Least-Squares) geschätzt. Die erzielte Modellgüte wurde jeweils mittels der Generalisierungsgüte beurteilt. Aufgrund des geringen Datenumfangs konnte zur Bestimmung der Generalisierungsleistung nur die Methode der Leave-One-Out-Cross-Validation herangezogen werden. Die erstellten mathematischen Modelle wurden durch eine Signifikanzanalyse verifiziert, die die Untersuchung der Bedeutung der einzelnen physikalischen Eingangsgrößen auf die lineare Regression erlaubt. Die Ergebnisse dieser Signifikanzanalyse legen zur Verbesserung der allgemeinen linearen Regressionsmodelle die Entfernung von physikalischen Größen ohne signifikanten Einfluss nahe.

Ausgehend von einem linearen Regressionsmodell, welches alle ausgewählten physikalischen Größen berücksichtigt, führte die anschließend organisierte Regression mit Backward Elimination eine schrittweise Entfernung nicht signifikanter oder wenig signifikanter Modelleingangsgrößen aus. Die Entfernung von bestimmten Modelleingangsgrößen mit Backward Elimination führte bei den betrachteten

Modellen zu einer Verbesserung der Generalisierungsleistung. Die generelle Nutzung aller zehn spektralen Größen und der Fluoreszenz in allen Modellen für die fünf nasschemischen Größen, die drei Fleischsorten und die beiden Varianten der Fleischaufbereitung war nicht zielführend. In der nachfolgenden Korrelationsanalyse wurde mit folgenden mathematischen Modellen gearbeitet:

- Principal Component Regression

Bei der Principal Component Regression ging der linearen Regression eine Hauptkomponentenanalyse (Principal Component Analysis) voraus. Die Hauptkomponentenanalyse führte eine Transformation der physikalischen Größen in transformierte unkorrelierte Größen durch. Im Vergleich zu einer linearen Regression mit allen spektralen Größen führte die Beschränkung auf die wichtigsten Hauptkomponenten als Modelleingangsgrößen nur in einigen Fällen zu einer Verbesserung der Generalisierungseigenschaften der Modelle. Im vorliegenden Anwendungsfall konnte die Generalisierungsleistung der Modelle, die durch Regression mit Backward Elimination erzielt wurde, nicht erreicht werden.

- Polynomiale Regressionsmodelle

Polynomiale Regressionsmodelle stellen nichtlineare mathematische Modelle dar, die im Gegensatz zu den linearen Regressionsmodellen auch nichtlineare Zusammenhänge und Abhängigkeiten aufdecken und abbilden können. Da vollständige Polynome bei einer steigenden Anzahl von Modelleingangsgrößen zu einer starken Zunahme der Parameteranzahl führen und das Datenaufkommen (54 Proben) für die Adaption vollständiger Polynome deutlich zu gering war, erfolgte die Auswahl der wichtigsten Polynomterme durch Regression mit Forward Selection. Im Vergleich zu einer linearen Regression mit allen physikalischen Einflussgrößen führte die polynomiale Regressionsanalyse mit Forward Selection mehrfach zu einer Verbesserung der Generalisierungsleistung der erstellten Modelle.

- Neuronale Netze

Neuronale Netze entsprechen nichtlinearen mathematischen Modellen. Für die vorliegende Zusammenhangsanalyse wurden mehrschichtige Perzeptronen (Multi-layer Perzeptrons = MLP) ausgewählt, die insbesondere für hochdimensionale Approximationsprobleme geeignet sind. Die Modellparameter der neuronalen Net-

ze wurden auf Basis der verfügbaren Daten mittels nichtlinearer Optimierungsverfahren adaptiert. Bei der Berücksichtigung aller spektralen Einflussgrößen im Modell führten die mehrschichtigen Perzeptronen allerdings bereits bei einer sehr geringen Neuronenanzahl (Modellkomplexität) zu einer Überanpassung (Overfitting). Für eine Vermeidung von Überanpassung wurde daher die Kombination mit Strukturoptimierungsverfahren (Forward Selection, Backward Elimination) erforderlich.

- **Zusammenfassung der Modellerstellung**

Die besten mathematischen Modelle konnten durch Regression mit Backward Elimination und polynomiale Regressionsanalyse mit Forward Selection erstellt werden. Die Erstellung nichtlinearer Modelle ist aufgrund des geringen Datenaufkommens sehr schwierig und erfordert dringend den Einsatz von Strukturoptimierungsmaßnahmen (Forward Selection, Backward Elimination).

Unter Berücksichtigung der Messfehler der einzelnen nasschemischen Größen ergeben sich stark unterschiedliche Signifikanzen für die einzelnen physikalischen Größen. In den Modellen für Bindegewebe sind die meisten Eingangsgrößen aufgrund des hohen Messfehlers und des geringen linearen Zusammenhangs nicht signifikant, insbesondere kann auch kein signifikanter Einfluss der Fluoreszenz auf den Bindegewebsanteil nachgewiesen werden. Wie bereits im Rahmen der Datenanalyse ermittelt, konnten bestimmte physikalische Größen aufgrund von Messausreißern für die Modellbildung nicht verwendet werden. Unter Auslassung dieser Größen können für die Fleischbestandteile Wasser, Asche, Fett und Rohprotein akzeptable mathematische Modelle erstellt werden, deren Modellfehler im Bereich von 5 % bis 15 % liegen. Die mathematischen Modelle für Bindegewebe hingegen können mit Modellfehlern bis 30 % als unzureichend angesehen werden. Eine detaillierte Analyse ist aufgrund der extremen Messwertschwankungen, die aus den verfügbaren Doppelmessungen der nasschemischen Untersuchungen ersichtlich sind, nicht möglich.

Die Korrelationsanalyse ergibt zum Teil sehr hohe Korrelationen (0.99) zwischen den einzelnen ausgewählten spektralen Größen. Der Grund ist darin zu sehen, dass die spektralen Daten redundante Größen enthalten, die für die Modellbildung keine oder kaum neue „Informationen“ aufweisen. Daher kann eine Integration der

entsprechenden spektralen Quellen im technischen Bauplan des IOF-Sensormodul zukünftig als überflüssig angesehen werden.

Der Vergleich der physikalischen Daten für grob zerkleinertes und homogenisiertes Material gibt Aufschluss über den Einfluss der Probenaufbereitung auf die Messwerte und damit auch auf die angestrebte Modellbildung. Da die ermittelten Werte der einzelnen physikalischen Größen durch Mittelwertbildung aus Mehrfachmessungen berechnet wurden, konnte für den angestrebten Vergleich der zur Hypothesenprüfung geeignete t-Test herangezogen werden. Für die überwiegende Mehrzahl der durchgeführten Vergleiche ergibt sich ein signifikanter Unterschied zwischen den berechneten Mittelwerten für grob zerkleinertes und homogenisiertes Material. Die spektralen Messwerte bei homogenisiertem Material sind im allgemeinen größer als bei grob zerkleinertem Probenmaterial. Diese Unterschiede werden nicht durch Messausreißer (z.B. durch Lufteinschlüsse im grob zerkleinerten Probenmaterial) verursacht. Damit ist festzustellen, dass die Homogenisierung einen wesentlichen Einfluss auf die spektralen Eigenschaften der Proben hat. Aufgrund dieser Tatsache ist die Erstellung von einheitlichen mathematischen Modellen für die verschiedenen Aufbereitungsformen des Probenmaterials nicht möglich.

Die Ergebnisse legen nahe, dass für die verschiedenen nasschemischen Größen, Fleischsorten und Probenaufbereitungen unterschiedliche physikalische Einflussgrößen von Bedeutung sind. Es ist davon auszugehen, dass zur Verbesserung der Modelle weitere bislang messtechnisch nicht erfasste physikalische Größen erforderlich sind.

10.2 NIR- und NMR-Spektroskopie

Grundlage für die durchgeführten Auswertungen waren alle durch NIR-Spektroskopie, NMR-Spektroskopie und nasschemische Untersuchungen erstellten Ergebnisse. Als Referenzanalytik wurde die Vollanalyse nach § 64 LFGB gewählt, um die aus NIR- und NMR-Spektroskopie erhaltenen Daten dazu in Bezug setzen zu können. Alle Verfahren der Datenanalyse wurden mit dem Statistikprogramm SPSS, Version 13.0 für Windows, vorgenommen.

Bereits in der Übersicht über die erhaltenen Daten (siehe **Anhang, Tabelle 15, 16, 17**) lassen sich Unterschiede in den für die einzelnen Proben ermittelten Gehalten an Wasser und Fett erkennen, die abhängig von der eingesetzten Methode zu sein scheinen. Weiter fällt auf, dass die durch die NIR-Spektroskopie ermittelten Rohprotein- und BEFFE-Werte auch in Abhängigkeit vom Probenmaterial (Rind, Schwein oder Halb/Halb) Abweichungen von den nasschemischen Analyseergebnissen aufweisen. Daher wurden die statistischen Auswerteverfahren über den gesamten Probenpool als auch über eine Gruppierung nach Probenmaterial Rind, Schwein und Halb/Halb angewendet. Der nasschemisch ermittelte Gehalt an Asche wurde nicht in die Auswertung miteinbezogen, da keine entsprechende Gegenüberstellung möglich war.

10.2.1 Deskriptive Statistik

Das Verfahren der deskriptiven Datenanalyse wurde gewählt, um einen Überblick über die durch die angewendeten Methoden erstellten Mittelwerte für die Parameter Wasser, Fett, Rohprotein und BEFFE zu erhalten. Dazu wurde der Probenpool zunächst nach Art des Probenmaterials (Rind, Schwein und Halb/Halb) aufgeteilt. Anschließend wurden die aus NIR-Spektroskopie, NMR-Spektroskopie und Nasschemie erhaltenen Werte für Wasser und Fett nach ihren Probennummer gruppiert. Im zweiten Schritt erfolgte die Gruppierung der Probennummern nach ihren durch NIR-Spektroskopie und Nasschemie erhaltenen Werten von Rohprotein und BEFFE, ebenfalls nach vorheriger Gliederung des Probenpools in Probenmaterial Rind, Schwein und Halb/Halb. Die offensichtlichen Abweichungen in Wasser- und

Fettgehalt, teilweise auch im Rohprotein- und BEFFE-Gehalt, zwischen den einzelnen Proben sind durch die absichtlich ungleiche Probenzusammensetzung begründet.

Zur graphischen Verdeutlichung wurde die Darstellung als Balkendiagramme herangezogen. In nachfolgenden Diagrammen werden die Mittelwerte wie oben beschrieben abgebildet.

1. Mittelwerte von Wasser bei Probenmaterial Rind, Schwein und Halb/Halb

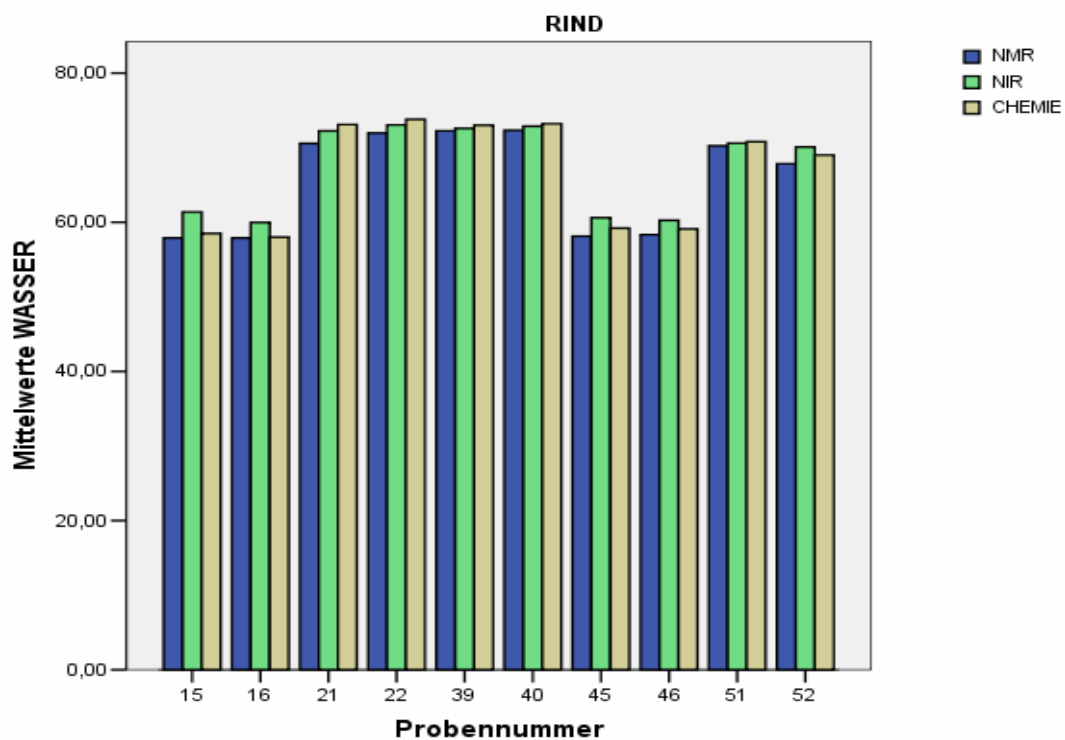


Abbildung 5: Mittelwerte des Wassergehalts für Probenmaterial Rind

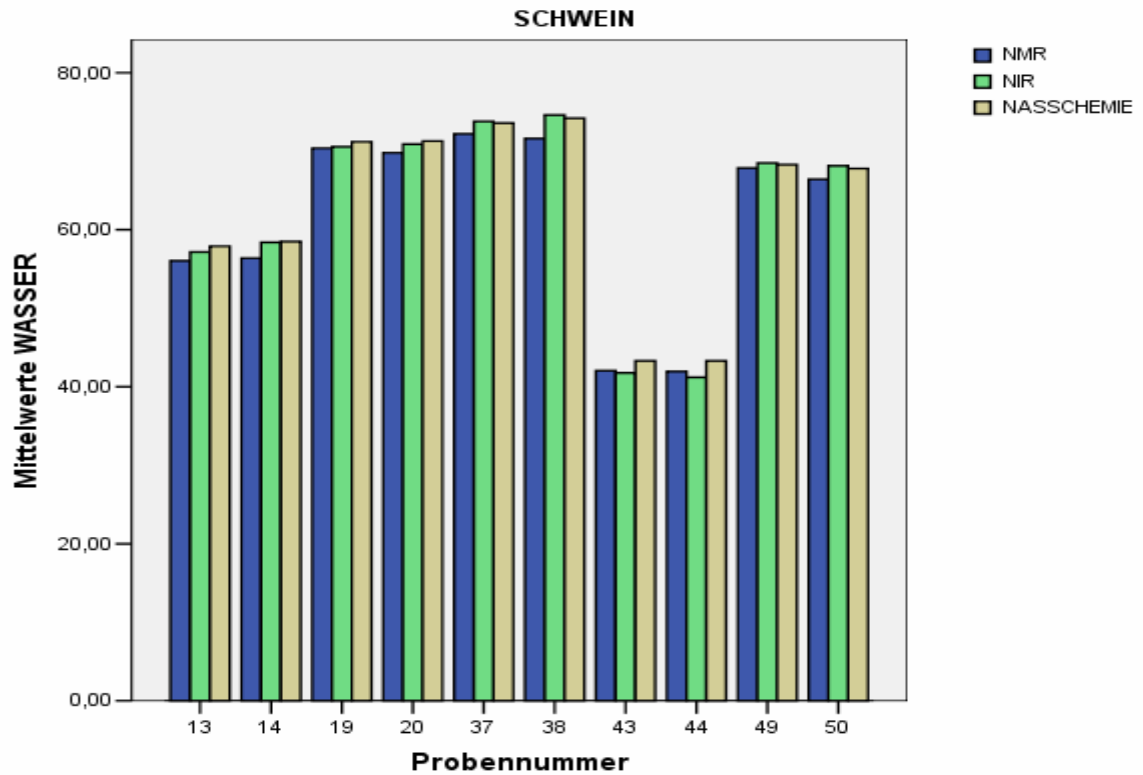


Abbildung 6: Mittelwerte des Wassergehalts für Probenmaterial Schwein

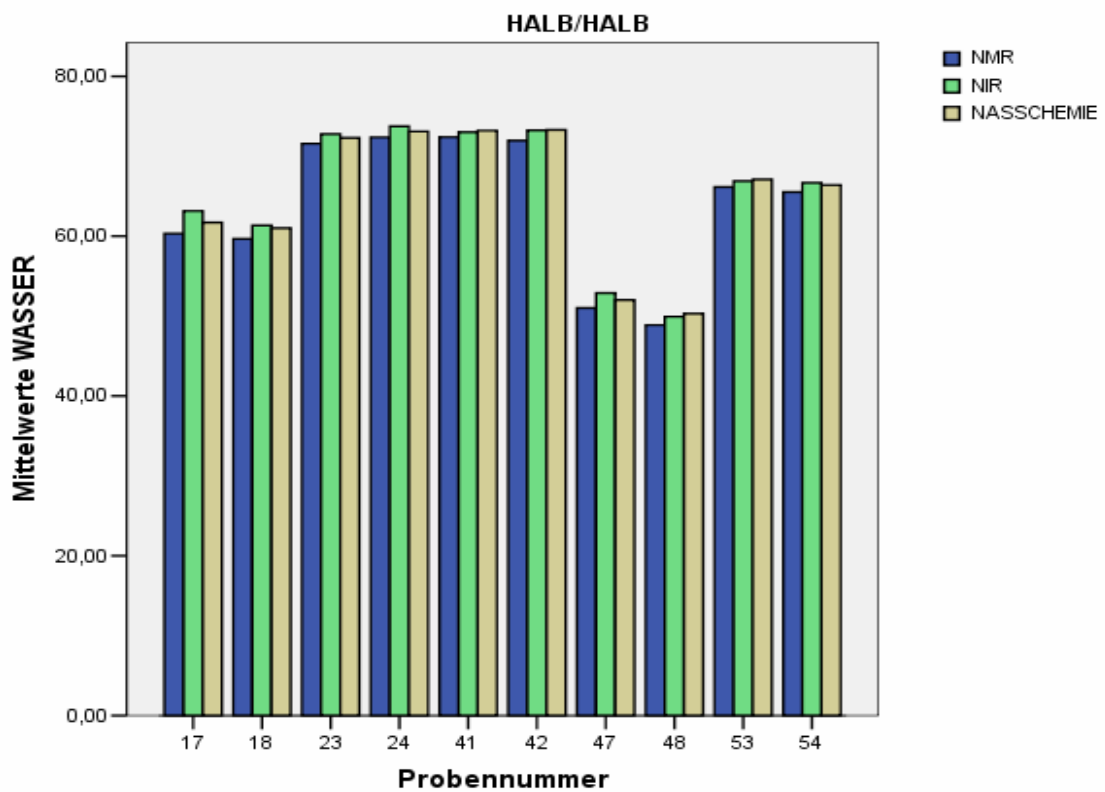


Abbildung 7: Mittelwerte des Wassergehalts für Probenmaterial Halb/Halb

Unter Zugrundelegung der Nasschemie als referierendes Verfahren ergibt die NIR-spektroskopische Untersuchung für den Parameter Wasser bei dem Probenmaterial Rind tendenziell geringere Gehalte. Für den Bereich von Gehalten < 60 % Wasser ermittelt die NIR-Spektroskopie jedoch höhere Gehalte als die Nasschemie. Beim Probenmaterial Schwein bewegt sich die NIR-Spektroskopie mit nur geringfügiger Abweichung sowohl unterhalb als auch oberhalb der nasschemisch ermittelten Werte, ohne dass ein Muster erkannt werden kann. Dies ist auch bei Probenmaterial Halb/Halb zu beobachten. Die NMR-Spektroskopie ermittelt für alle Sorten des Probenmaterials wie auch für alle Bereiche des prozentualen Wassergehalts geringfügig niedrigere Werte an Wasser als die nasschemische Analyse.

2. Mittelwerte von Fett bei Probenmaterial Rind, Schwein und Halb/Halb

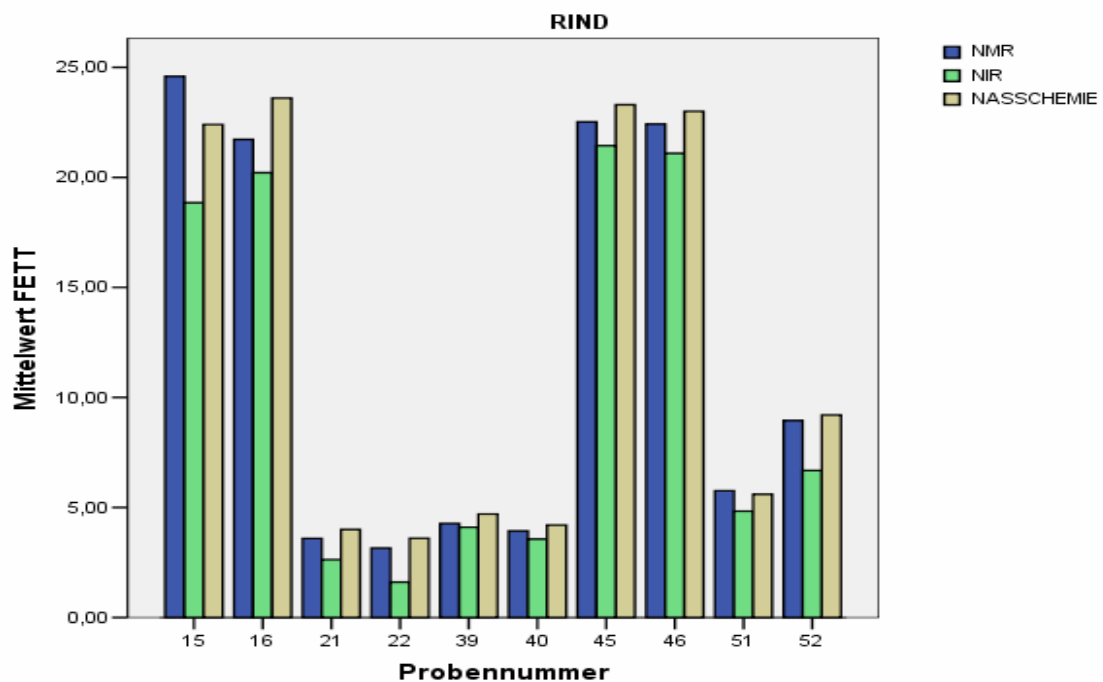


Abbildung 8: Mittelwerte des Fettgehalts für Probenmaterial Rind

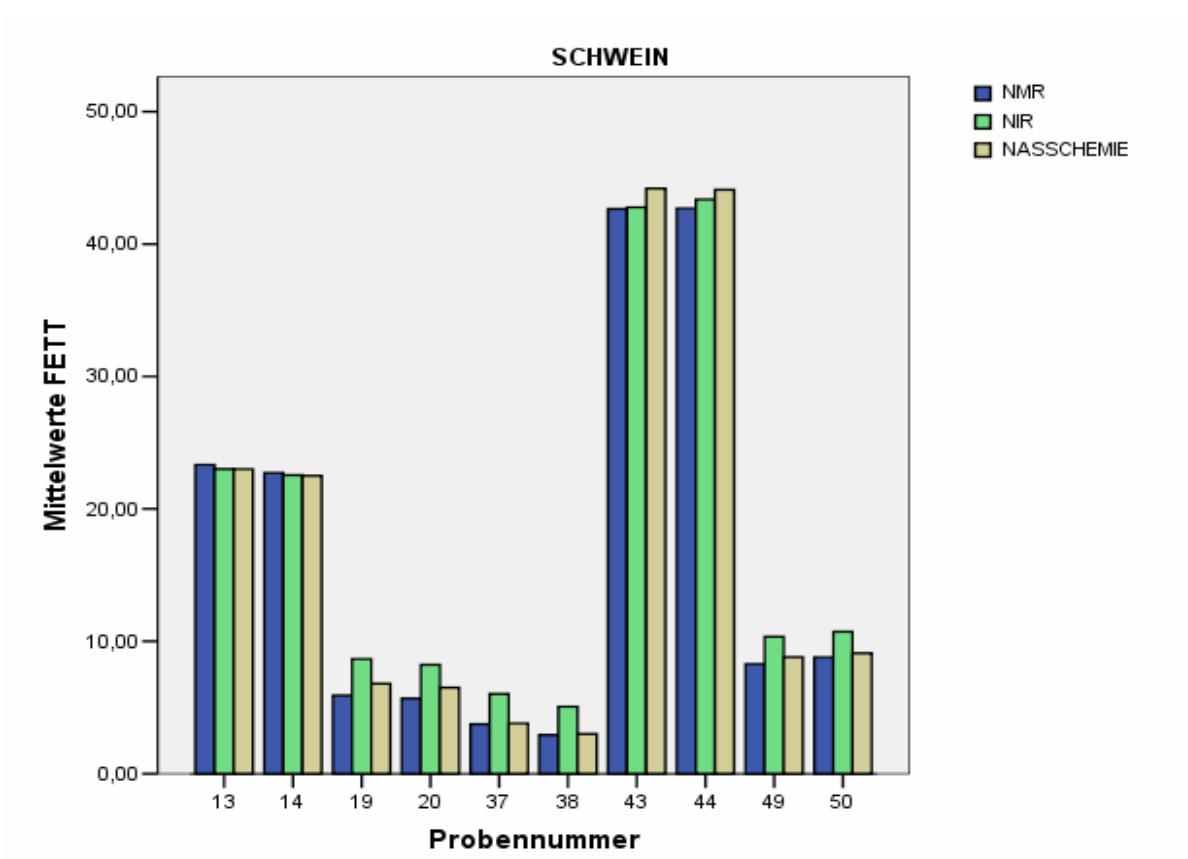


Abbildung 9: Mittelwerte des Fettgehalts für Probenmaterial Schwein

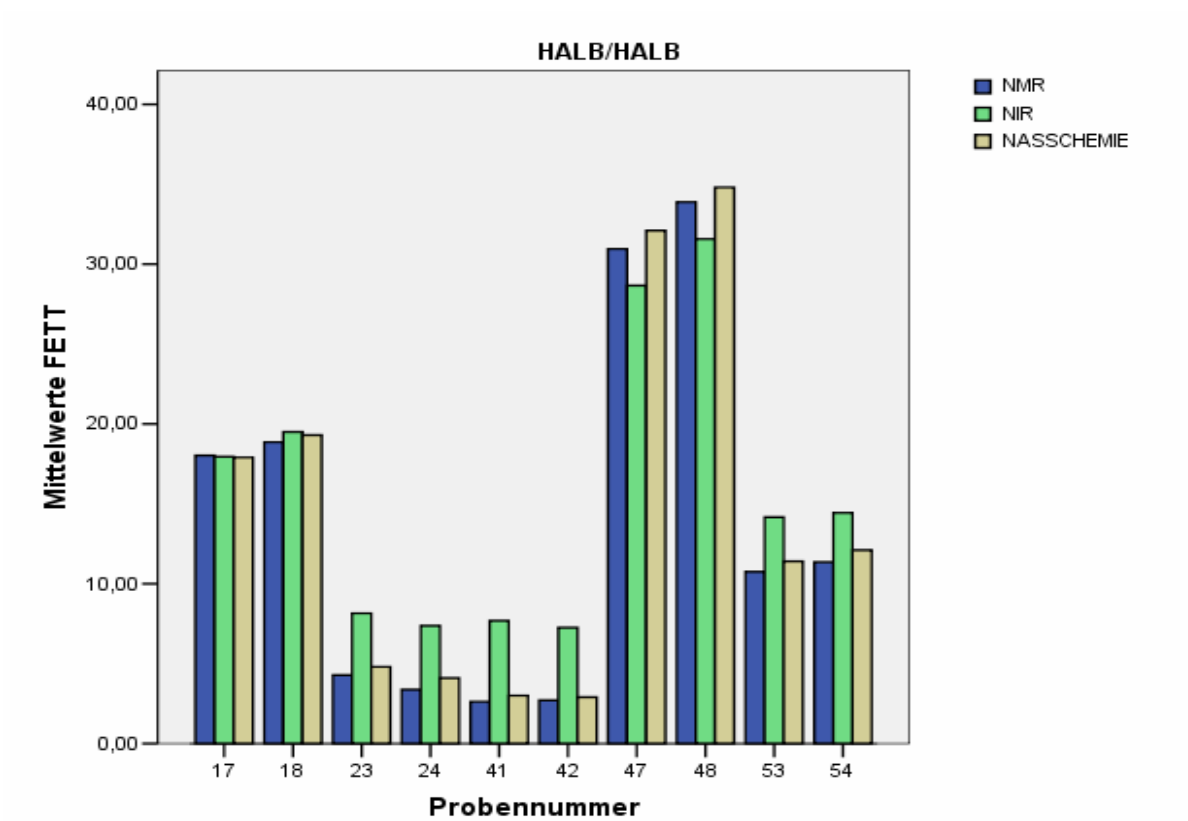


Abbildung 10: Mittelwerte des Fettgehalts für Probenmaterial Halb/Halb

Auch bei der Betrachtung des Parameters Fett werden die nasschemischen Untersuchungsergebnisse als Referenzwerte gesetzt. NIR-spektroskopische Untersuchungen ergeben bei Rind durchgehend erkennbar niedrigere Fettgehalte als die der Nasschemie. Dies ist für alle Bereiche von < 5 % bis > 20 % Fettgehalt zu beobachten. Für das Probenmaterial Schwein ermittelt die NIR-Spektroskopie im Bereich von rund 20 % Fett (Proben 17 und 18) ähnlich genaue Werte wie die Nasschemie, während bei Fettgehalten > 30 % (Proben 47 und 48) niedrigere Werte ermittelt werden. Bei magerem Fleisch mit Fettgehalten < 10 % (Proben 19, 29, 37,38, 49, 50) entstehen deutlich höhere Werte als die der Nasschemie. Letztere Tendenz zeigt sich auch bei Probenmaterial Halb/Halb, bei dem die NIR-Spektroskopie für die Proben 23,24, 41, 41, 53 und 54 deutlich höhere Fettgehalte erstellt als die Nasschemie. Fettgehalte > 30 % werden von der NIR-Spektroskopie auch bei Halb/Halb niedriger bewertet. Die NMR-Spektroskopie ermittelt für Fett sowohl bei Rind, Schwein als auch Halb/Halb Werte, die sich meist nur knapp unter den nasschemischen Werten bewegen. Lediglich Probe 15 (Rind), 13 und 14 (Schwein) sowie 17 (Halb/Halb) zeigen höhere Werte. Vor allem bei Fettgehalten < 10 % werden für Schwein (Proben 37, 38) und Halb/Halb (Probe 42) annähernd gleiche Werte wie durch die nasschemische Analyse ermittelt.

3. Mittelwerte von Rohprotein für Probenmaterial Rind, Schwein, Halb/Halb

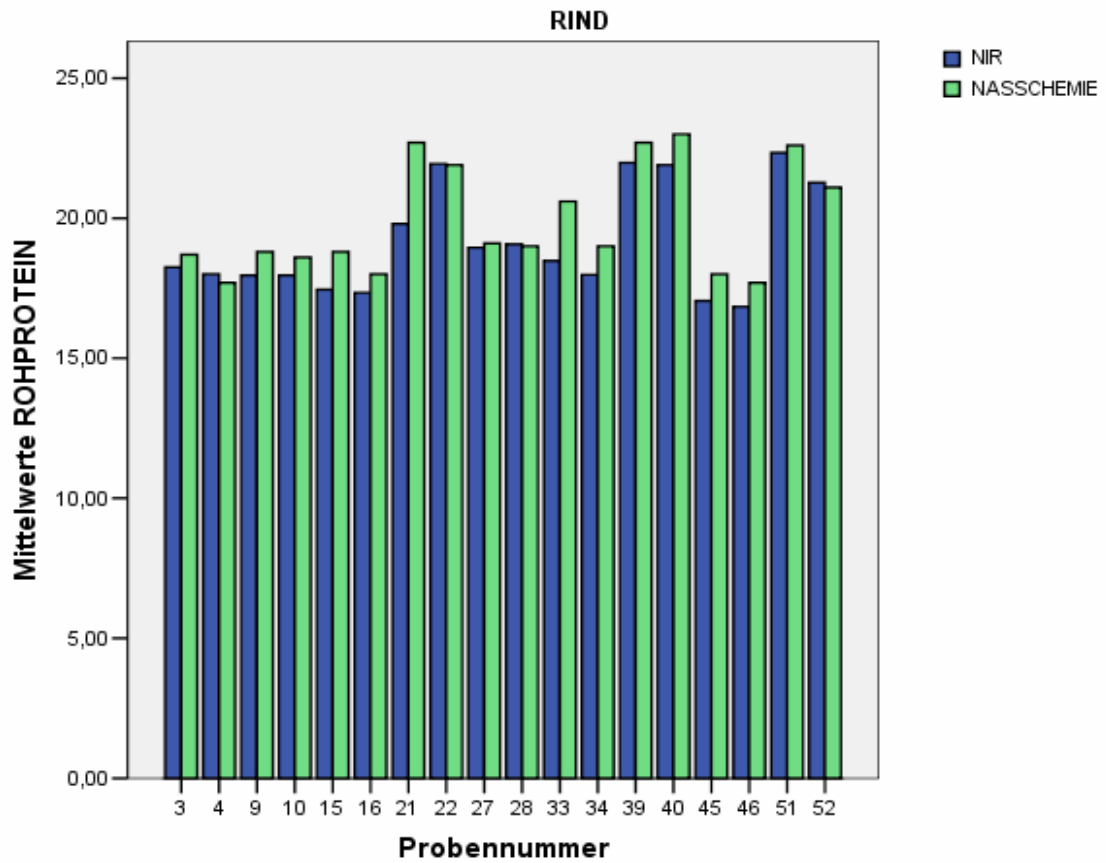


Abbildung 11: Mittelwerte des Rohproteingehalts für Probenmaterial Rind

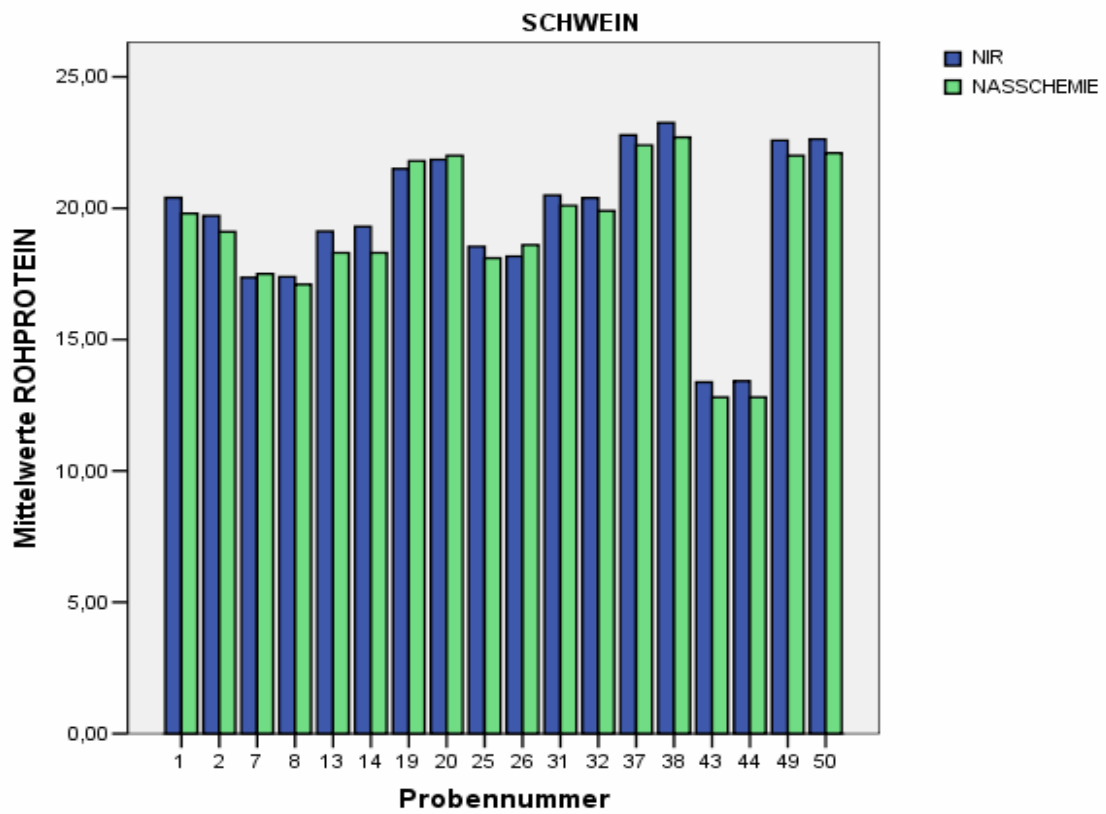


Abbildung 12: Mittelwerte des Rohproteingehalts für Probenmaterial Schwein

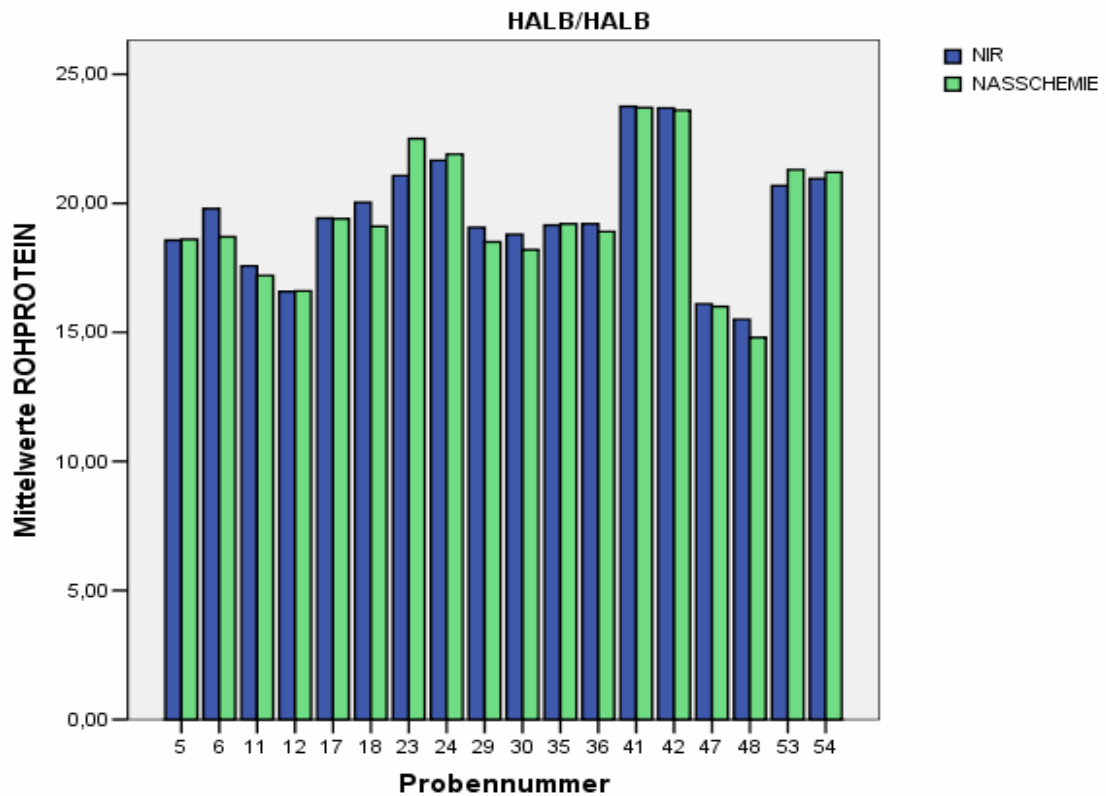


Abbildung 13: Mittelwerte des Rohproteingehalts für Probenmaterial Halb/Halb

Zur besseren Verständlichkeit sei noch mal darauf hingewiesen, dass aufgrund der technischen Möglichkeiten hier nur die Ergebnisse von NIR-Spektroskopie und Nasschemie gegenübergestellt werden können. Die Darstellung der RP-Mittelwerte für Schwein zeigt, dass die NIR-Spektroskopie fast durchgängig höhere Werte ergibt. Nahezu umgekehrt proportional verhält es sich beim Probenmaterial Rind. Für Halb/Halb ergeben sich aus der Darstellungsweise von Rind und Schwein sowohl niedrigere als auch höhere Ergebnisse. Für Proben 5, 17, 35, 41 und 42 werden näherungsweise identische RP-Gehalte ermittelt. Eine sich proportional zu den relativen RP-Gehalten des Probenmaterials bewegend Abhängigkeit der Ergebnisse ist nicht zu erkennen.

4. Mittelwerte von BEFFE für Probenmaterial Rind, Schwein und Halb/Halb

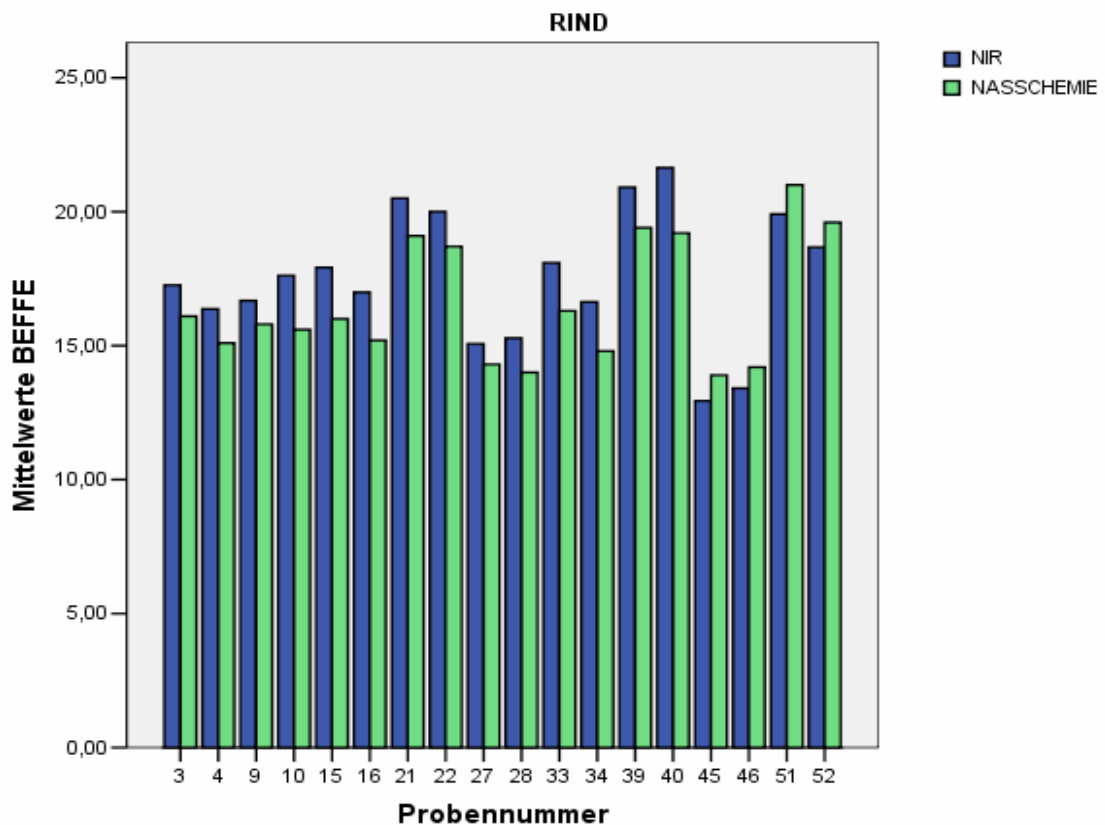


Abbildung 14: Mittelwerte des BEFFE- Gehaltes für Probenmaterial Rind

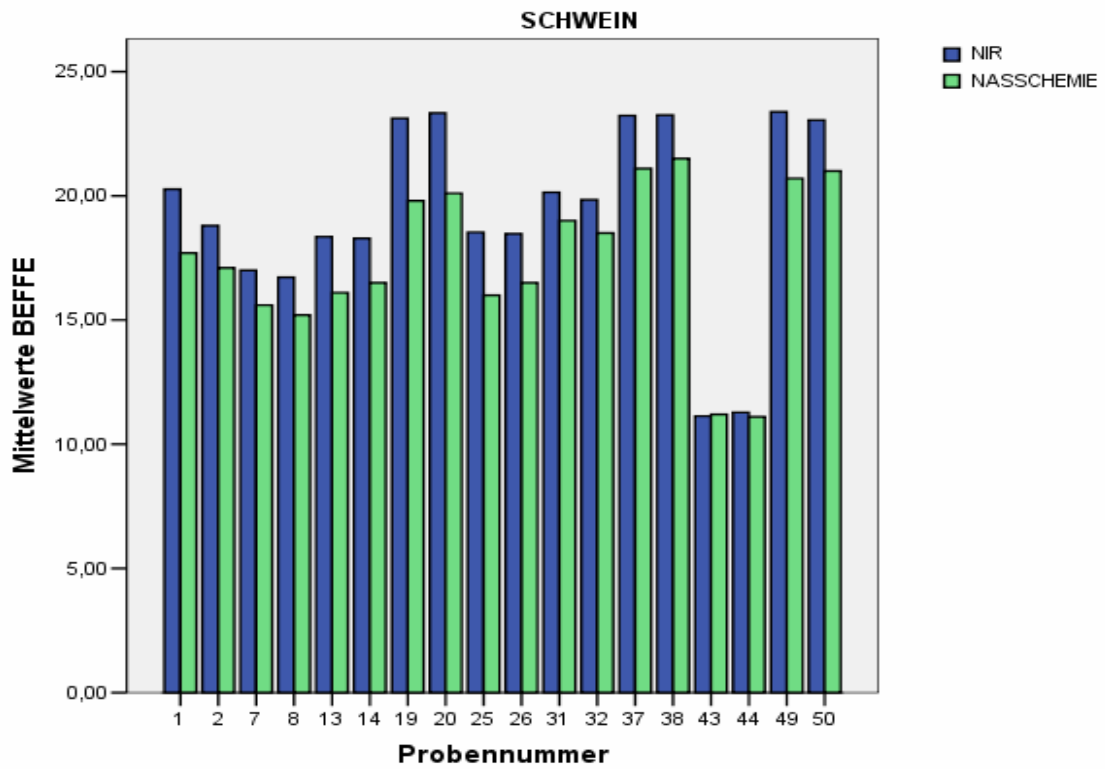


Abbildung 15: Mittelwerte des BEFFE- Gehalts für Probenmaterial Schwein

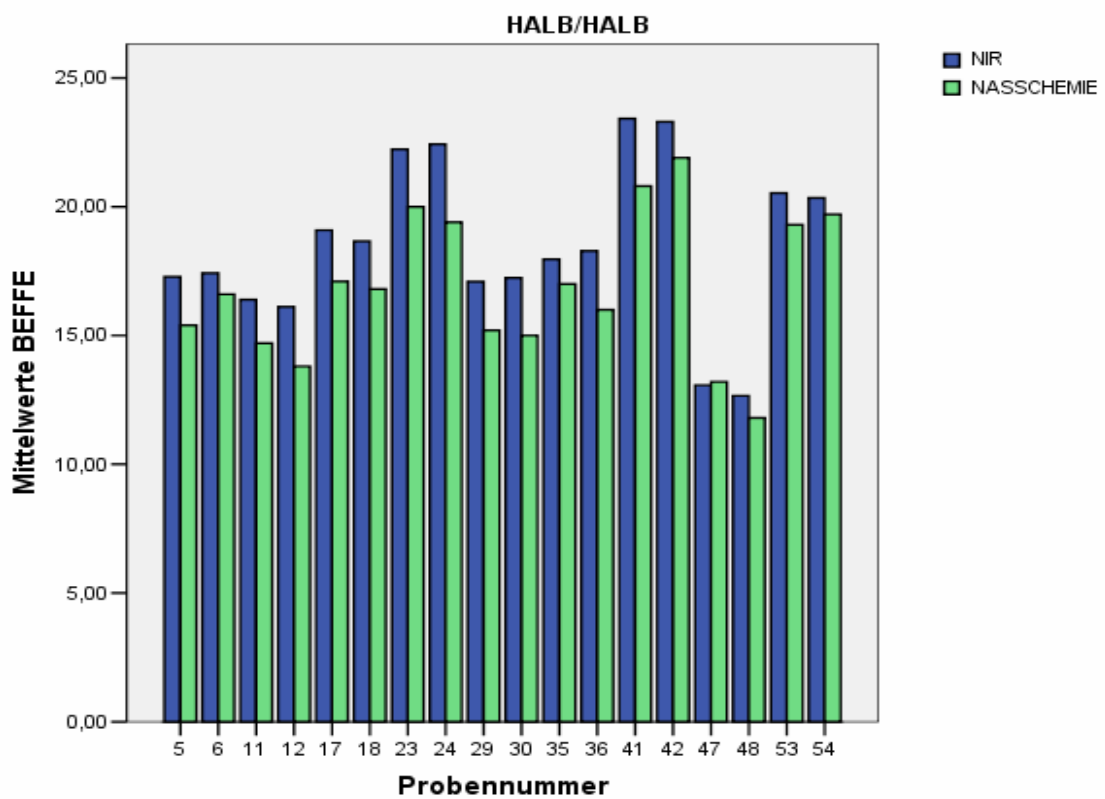


Abbildung 16: Mittelwerte des BEFFE- Gehalts für Probenmaterial Halb/Halb

Auch hier konnten nur die Werte aus NIR-spektroskopischen und nasschemischen Untersuchungen gegenübergestellt werden. Sowohl für Probenmaterial Rind, Schwein als auch Halb/Halb liefert die NIR-Spektroskopie erkennbar höhere Ergebnisse als die Nasschemie. Lediglich für Probe 40, 41 (Rind), 43, 44 (Schwein) und 42 (Halb/Halb) lassen sich niedrigere BEFFE-Gehalte ermitteln, wobei es sich dabei jeweils um Probenmaterial mit nasschemischen BEFFE- Gehalten $< 15 \%$ handelt.

10.2.2 Analytische Statistik

- **Korrelationen und Signifikanz**

Im Rahmen dieser Zusammenhangsanalyse soll geklärt werden, ob zwischen zwei ausgewählten Variablen ein linearer Zusammenhang (Korrelation) besteht und ob die Unterschiede in den erhaltenen Werten zufällig auftreten (Signifikanz). Als Variablen verwendet wurden der Wasser- und Fettgehalt bzw. der Rohprotein- und BEFFE-Gehalt aus NIR- und NMR-spektroskopischen Analysen sowie nasschemischer Referenzanalytik.

Kriterien für die Auswahl der passenden Analyseverfahren sind stets das Vorhandensein von intervallskalierten Variablen und das Erfüllen einer Normalverteilung. Die erste Bedingung ist durch die Darstellung der Messergebnisse als metrische prozentuale Gehalte erfüllt. Zur Abklärung der zweiten Bedingung wurden daher die Werte der jeweils ausgewählten Variablen mittels des Kruskal-Wallis-Tests und Mann-Whitney-Tests auf das Vorliegen einer Normalverteilung überprüft. Eine signifikante Abweichungen von einer Normalverteilung wird bei Werten von $p \leq 0,05$ angenommen.

Eine Normalverteilung lag nach den Ergebnissen des Kruskal-WallisTests und Mann-Whitney-Tests für die Mittelwerte der chemischen Parameter nicht vor. Abhängig vom erstellten Ergebnis wurden anschließend die zur Beurteilung der Signifikanz geeigneten Testverfahren ausgewählt. Grundlage dafür stellt zunächst die Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit p dar. Durch sie soll ausgedrückt wer-

den, wie groß die Wahrscheinlichkeit einer fälschlich angenommen zufälligen Verteilung der Mittelwerte ist. Je geringer die Irrtumswahrscheinlichkeit ausfällt, desto höher ist die tatsächliche Informationsqualität. Es gelten folgende Zusammenhänge, wie sie in **Tabelle 11** angegeben sind:

$p > 0,5$	$p \leq 0,5$	$p \leq 0,01$	$p \leq 0,001$
nicht signifikant	Signifikant	sehr signifikant	höchst signifikant

Tabelle 11: Irrtumswahrscheinlichkeit p und ihre Bedeutung für die Signifikanz

Bei der Erstellung der Korrelation dient der Korrelationskoeffizient r als dimensionsloses Maß für den Grad des linearen Zusammenhangs zwischen zwei Variablen. Er kann Werte zwischen -1 und $+1$ annehmen, wobei Werte nahe bei $+1$ eine hohe Korrelation bedeuten. Korrelationskoeffizienten mit negativem Vorzeichen sprechen für einen negativen Zusammenhang zwischen zwei Variablen, bei einem Korrelationskoeffizienten von 0 besteht zwischen den Variablen keinerlei linearer Zusammenhang. Zur Interpretation des Korrelationskoeffizienten kann folgende der **Tabelle 12** zu entnehmende Einteilung dienen.

bis 0,2	bis 0,5	bis 0,7	bis 0,9	über 0,9
sehr geringe Korrelation	geringe Korrelation	mittlere Korrelation	hohe Korrelation	sehr hohe Korrelation

Tabelle 12: Beschreibungsstufen der Stärke des Korrelationskoeffizienten

Für die durchgeführten Analysen ergeben sich zwischen den angewendeten Methoden unter Einbezug aller untersuchten Proben folgende Korrelationen:

Parameter	NIR–Nasschemie (n = 54)	NMR–Nasschemie (n = 30)
Wasser	0.993	0.998
Fett	0.974	0.998
Rohprotein	0.949	
BEFFE	0.954	

Tabelle 13: Korrelationskoeffizienten nach Pearson, n = Anzahl der Proben

Für die verglichenen Daten (n = 54 bzw. n = 30) aus NIR-Spektroskopie, NMR-Spektroskopie und Nasschemie ergeben sich somit durchwegs sehr hohe Korrelationen. Die Korrelation ist dabei auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant.

Bei einer weiteren Aufgliederung nach den Probenmaterialien Rind, Schwein und Halb/Halb stellen sich die Korrelationskoeffizienten wie in **Tabelle 14** gezeigt dar. Die Korrelation ist ebenfalls auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant

Parameter	NIR-Nasschemie (n = je 18)			NMR-Nasschemie (n = je 10)		
	Rind	Schwein	Halb/Halb	Rind	Schwein	Halb/Halb
Wasser	0,991	0,999	0,996	0,996	0,999	1,000
Fett	0,988	0,999	0,951	0,994	0,999	1,000
Rohprotein	0,911	0,991	0,976			
BEFFE	0,889	0,985	0,969			

Tabelle 14: Korrelationskoeffizienten nach Pearson, gegliedert nach Probenmaterial (Rind, Schwein und Halb/Halb)

Die Korrelationskoeffizienten ergeben hohe bis sehr hohe Korrelation für NIR-Spektroskopie und Nasschemie. Die Korrelationen von NMR-Spektroskopie und Nasschemie sind durchgehend sehr hoch, für Probenmaterial Halb/Halb werden beinahe perfekte lineare Zusammenhänge ermittelt.

- **Regressionsanalyse**

Für die Mustererkennung in den Mittelwertsunterschieden von Wasser, Fett, Rohprotein und BEFFE zwischen NIR- bzw. NMR-Spektroskopie und nasschemischer Analytik wurde der einfaktorielle ANOVA-Test (Analysis of variance) herangezogen. Als Einflussvariable wurde jeweils der entsprechende nasschemische Parameter verwendet, als Zielvariable diente der entsprechende Parameter aus NIR- bzw. NMR-Spektroskopie. Dies wurde für die Gesamtheit aller mit NIR-Spektroskopie und Nasschemie untersuchten Proben (n = 54) und für die Gesamtheit aller mit NMR-Spektroskopie und Nasschemie untersuchten Proben (n = 30) durchgeführt. Es erfolgte keine Gruppierung nach Probenmaterial Rind, Schwein und Halb/Halb.

Die lineare Regression der Wasser- und Fettgehalte aus NIR- und NMR-Spektroskopie zur Nasschemie lässt sich in Streudiagrammen darstellen. Die Regressionsgerade steht als Bezugslinie für die durch nasschemische Untersuchung erzielten Ergebnisse, die Punkte sind den in den einzelnen Proben durch NIR- oder NMR-Spektroskopie ermittelten Werten zuzuordnen. Skaliert sind die Gehalte der Parameter in %.

1. Wassergehalte: NIR - Nasschemie

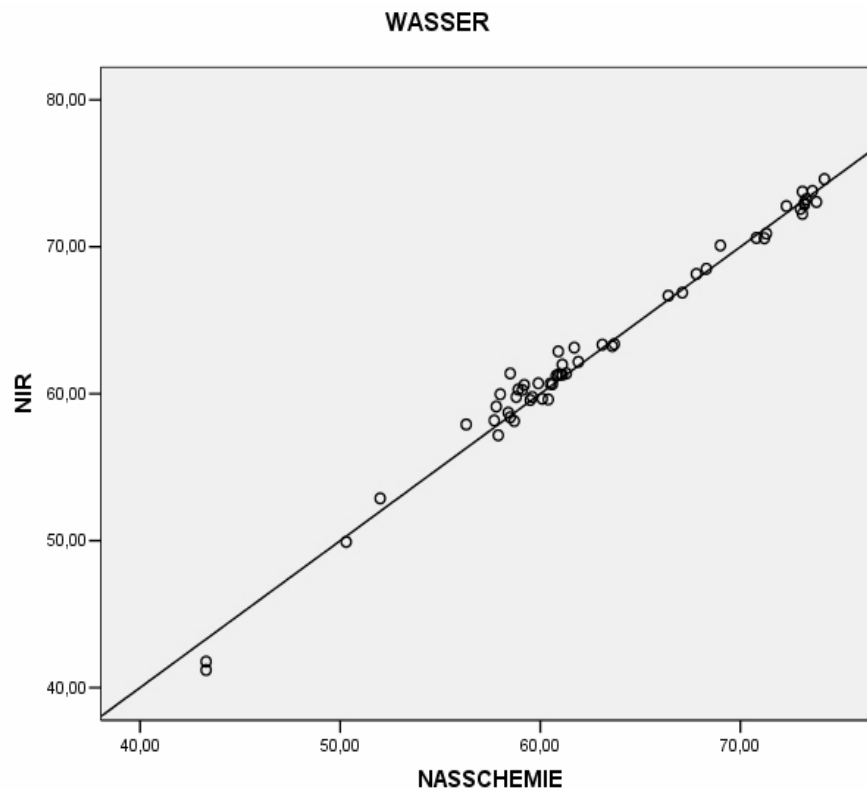


Abbildung 17: Streuung der Wassergehalte aus NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,993$

Die Werte aus NIR-spektroskopischen Untersuchungen und nasschemischen Referenzwerten bewegen sich vorwiegend bei einem durchschnittlichen Gehalt von 60 % bis 70 % Wasser. Die NIR-Spektroskopie erreicht auch bei nasschemisch ermittelten Wasser-Werten im Bereich von 60 % und weniger eine nur geringfügig niedrigere Treffsicherheit wie im Bereich von 70 % und darüber.

2. Wassergehalt: NMR – Nasschemie

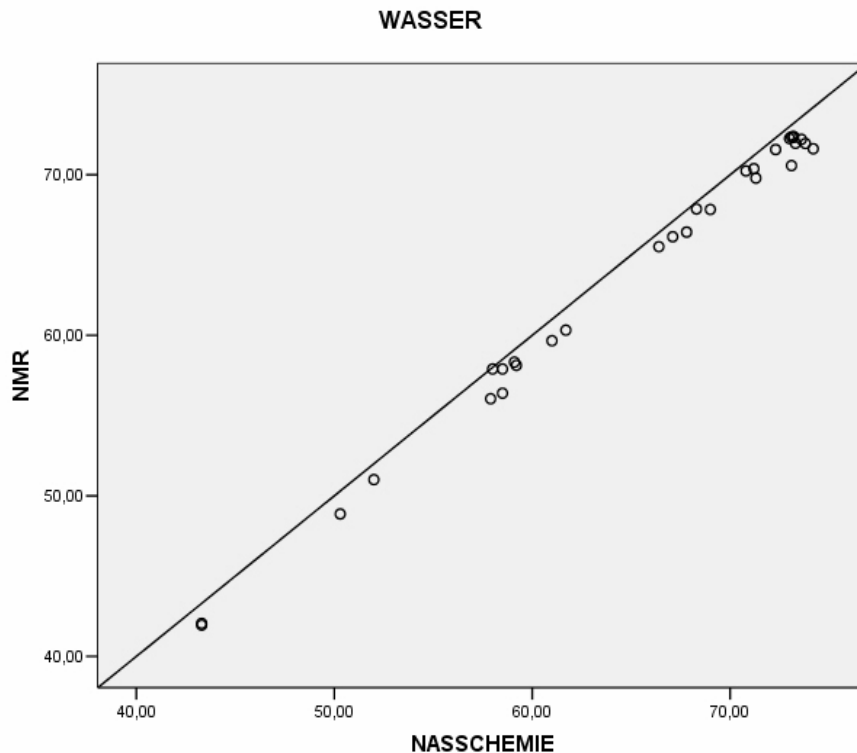


Abbildung 18: Streuung der Wassergehalte aus NMR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 30), Korrelation $r = 0,998$

Die durch die NMR-Spektroskopie ermittelten Wassergehalte bewegen sich für alle Wertebereiche unter den durch nasschemische Analyse ermittelten Wassergehalten. Die Abweichungen können als relativ geringfügig angesehen werden. Auffällig dabei ist, dass diesem Werteverlauf eine gewisse Parallelität zugrunde liegt. Dies spricht für eine methodisch bedingte Unterbewertung der Wassergehalte.

3. Fettgehalt: NIR - Nasschemie

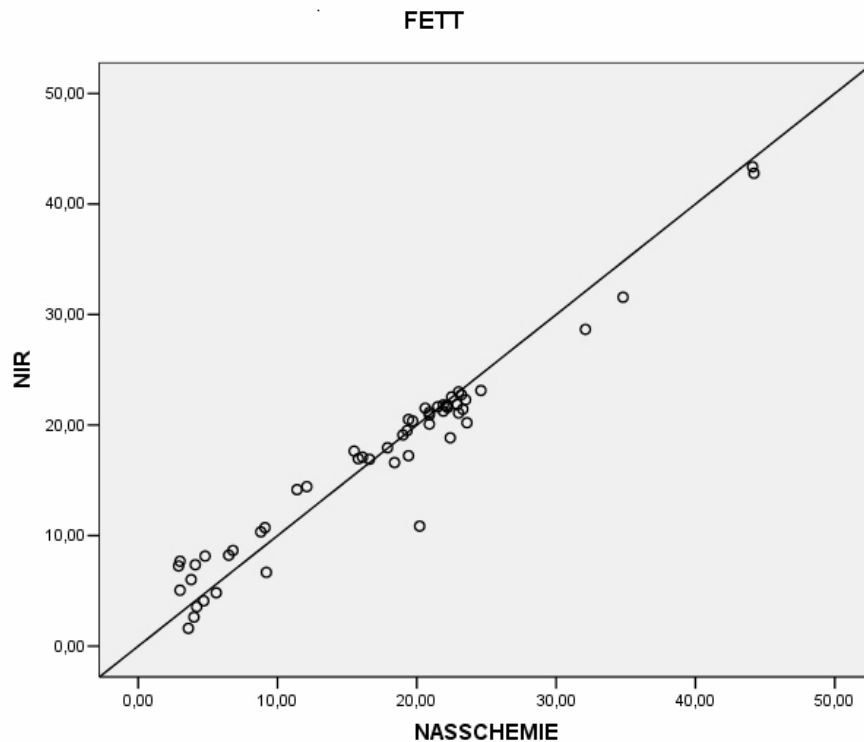


Abbildung 19: Streuung der Fettgehalte aus der NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,974$.

In Abhängigkeit von den relativen Fettgehalten des Probenmaterials nähern sich die Ergebnisse der NIR-Analysen unterschiedlich stark an die Ergebnisse der Nasschemie an. Bei mittleren Gehalten um 20 % Fett wird meist die größte Übereinstimmung erzielt. Bei niedrigen Fettgehalten < 15 % treten sowohl höhere als auch niedrigere Ergebnisse auf. Eine Konstanz ist dabei nicht zu erkennen.

4. Fett NMR - Nasschemie

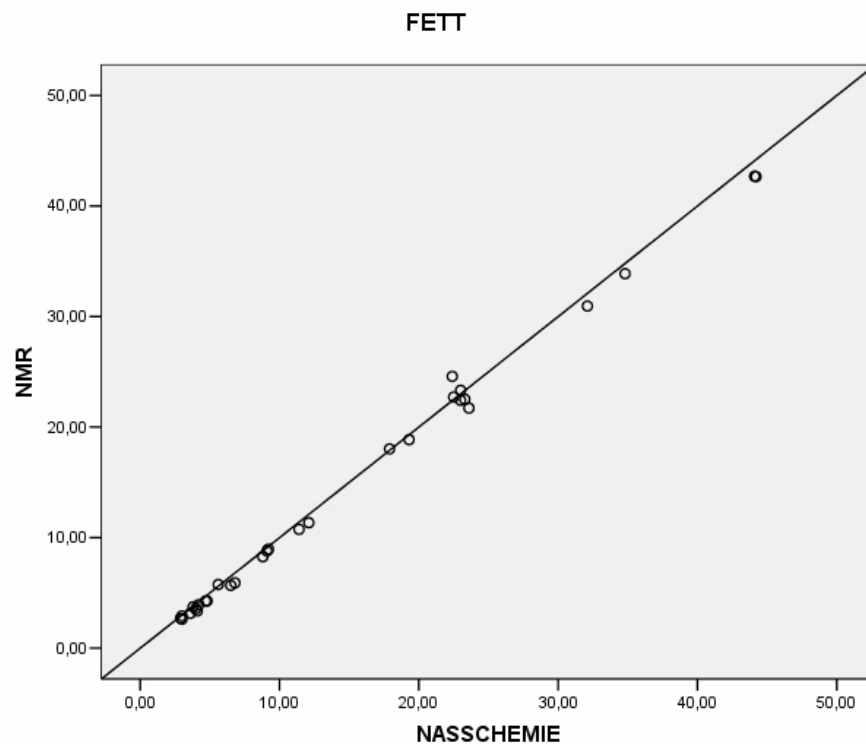


Abbildung 20: Streuung der Fettgehalte aus NMR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie ($n = 30$), Korrelation $r = 0,998$

Die Fettgehalte, wie sie durch die NMR-Spektroskopie erstellt wurden, weisen eine deutliche Übereinstimmung mit den nasschemisch bestimmten Werten auf. Dies gilt übereinstimmend für alle Wertebereiche der relativen Fettgehalte. Lediglich für Bereiche von $> 20\%$ tritt eine geringfügig weitere Streuung der Gehalte auf.

5. Rohproteingehalt: NIR - Nasschemie

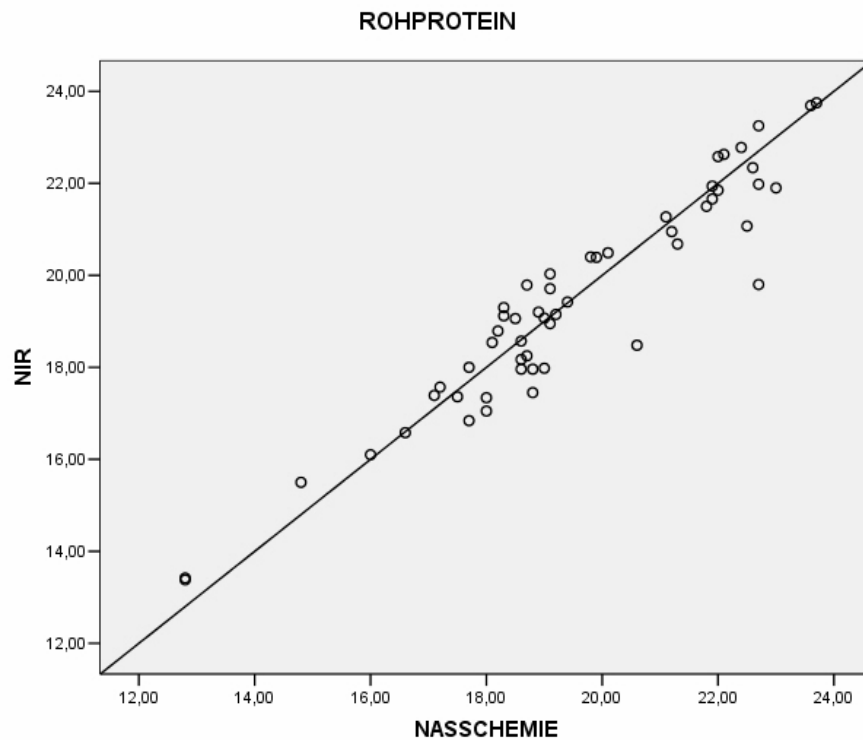


Abbildung 21: Streuung der Rohproteingehalte aus NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,949$

Bei Betrachtung der Rohprotein-Gehalte aus der NIR-spektroskopischen Analytik im Vergleich zur Nasschemie fällt die relativ breite Streuung der Werte um die Bezugslinie auf. Es werden sowohl höhere als auch niedrigere Ergebnisse des Rohprotein-Gehalts ermittelt. Ein eindeutiges Muster in den Abweichungen der Wertefindung lässt sich nicht erkennen.

6. BEFFE-Gehalt: NIR - Nasschemie

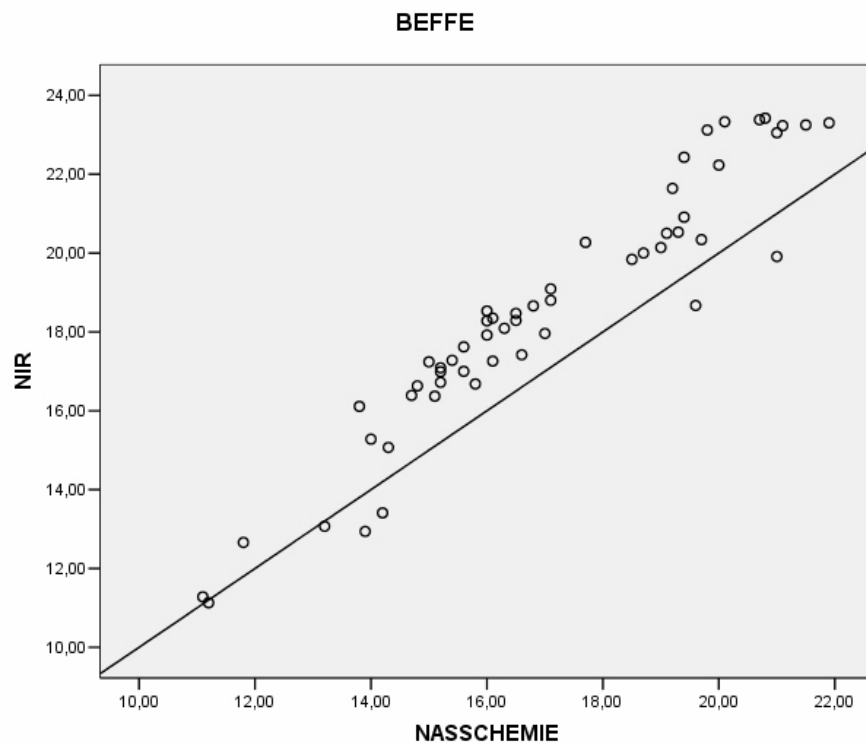


Abbildung 22: Streuung der BEFFE- Gehalte aus der NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,954$

Die NIR-Spektroskopie zeigt eine relativ stete Ermittlung höherer BEFFE- Gehalte im Vergleich zur Nasschemie. Abgesehen von vereinzelt niedriger angesetzten Werten stellen sich die spektroskopischen BEFFE-Werte in ihrer Gesamtheit erkennbar über den relativen nasschemischen BEFFE-Gehalten dar. Im Bereich von rund 11 % bis 13 % relativen BEFFE- Gehalts scheinen die Abweichungen weniger stark ausgeprägt als dies für den Bereich zwischen 14 % und 20 % der Fall ist. Besonders deutliche Höherbewertungen des BEFFE-Gehalts lassen sich für nasschemisch ermittelte BEFFE-Anteile von > 18 % feststellen.

DISKUSSION

11 Optisches Sensormodul

Der Leistungsstand des Labormustergeräts in der Detektion der gewünschten Fleischbestandteile ließ sich zu Beginn der Untersuchungen als bedingterweise unklar bezeichnen, da die in die Konzepterstellung eingeflossenen theoretischen Sachverhalte von der IOF-Arbeitsgruppe zunächst nur durch eine verhältnismäßig geringe Anzahl an Fleischproben auf ihre Realisierbarkeit abgeschätzt worden waren. Die Ergebnisse der statistischen Auswertung von Reflektionsspektren, Fluoreszenzintensität und Nasschemie sollten daher die grundsätzliche Einschätzung des Verfahrens zulassen und außerdem in die Weiterentwicklung und Optimierung des Sensormoduls einfließen. Wie in den Ausführungen der Ergebnisse in Abschnitt 10.1 dargestellt wurde, lassen sich aus den verschiedenen Ansätzen der Modellerstellung nachfolgende Aussagen treffen.

Angesichts des relativ geringen Probenumfangs von 54 ausgewerteten Proben bzw. je 18 Datensätzen für Rind, Schwein und Halb/Halb kann auch zum jetzigen Zeitpunkt keine endgültige Beurteilung des Leistungspotentials des optischen Verfahrens gegeben werden. Zwischen den spektralen Daten und den Gehalten an Wasser, Fett, Rohprotein und Asche lassen sich tendenziell hohe bis mittlere Korrelationen erkennen, die die Weiterentwicklung des Verfahrens überaus interessant machen. Die unerwartet niedrigen Korrelationen zwischen Fluoreszenz und Bindegewebsgehalt lassen vermuten, dass durch das derzeitige optische Konzept die Bestimmung des Bindegewebegehalts nicht in dem gewünschten Ausmass erfolgt. Vergleichbare Auswertungen von Vorversuchen des IOF hatten eine deutlich höhere Korrelation gezeigt und auch für die nachfolgenden Untersuchungen erwarten lassen. Die Modellfehler im Bereich von 5 % bis 15 % für Wasser, Asche, Fett und Rohprotein können angesichts des derzeitigen Entwicklungsstand als durchaus akzeptabel gelten, insbesondere wenn der Einsatz des Sensor-Moduls auf die in-line-Kontrolle von Verarbeitungsfleisch in der industriellen Produktion beschränkt bleiben soll. Durch die generell hohen Umsatzraten an Material können sich die Ungenauigkeiten des Messsystems nivellieren, so dass eine ausreichend genaue Spezifikation des Rohmaterials möglich ist.

Für eine Verwendung des derzeitigen Sensormoduls als Laborgerät, um als Schnellmethode nasschemische Untersuchungsschritte von Fleisch oder Fleischerzeugnissen zu ersetzen, müssen die Modellfehler eindeutig minimiert werden. Angesichts eines Modellfehlers für Bindegewebe mit bis zu 30 % ist momentan ungewiss, ob die gegenwärtige geometrische Konzeption des optischen Sensormoduls eine ausreichend genaue Bestimmung des Bindegewebegehalts im inline-Einsatz und in der Laborumgebung ermöglichen kann.

Grundlegend drängt sich hier die Frage auf, inwieweit die Gestaltung des Versuchsablaufs möglicherweise einen unbeabsichtigten Effekt auf die Entstehung der Daten hatte. SWATLAND (1995) berichtet, dass durch Anregung mit einer Wellenlänge von 365 - 375 nm die maximale Fluoreszenz der meisten Kollagentypen und von Elastin erreicht werden kann. Das erhaltene Emissionsspektrum liegt bei 440 bis 510 nm. Vor allem der Emissionspeak bei 440 nm ist nach seinen Untersuchungen bezeichnend für das Bindegewebe. Mit Faseroptiken untersuchte der Autor Proben von gewolfem Rindfleisch und erhielt dabei hohe Korrelationen zum Bindegewebsgehalt. Allerdings besteht nach SWATLAND (1995) auch eine auffallende Abhängigkeit der Fluoreszenzintensität von der Temperatur des untersuchten Materials. Bei unter + 0°C und bis + 5°C sind die deutlichsten Fluoreszenzmissionen zu erhalten. Zudem waren bei Intervalluntersuchungen an einer Probe Rindersehne Abnahmen der Fluoreszenzintensität in Abhängigkeit von Temperatureinflüssen zu beobachten. Nach Gefrieren, Auftauen, Aufwärmen bis auf Körpertemperatur und anschließendem Abkühlen auf Raumtemperatur waren deutlich geringere Fluoreszenzeffekte zu detektieren als vor diesen Behandlungsschritten. Daneben scheinen in Abhängigkeit von variierenden pH-Werten und Myoglobin-konzentrationen der Muskulatur optische Rückstreuungseffekte zu entstehen, die die Fluoreszenzspektren beachtlich verzerren können (SWATLAND, 1997).

Bei den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Proben wurde versucht, konstante Materialtemperaturen von + 2°C bis + 7°C einzuhalten (Aufbewahrung unter konstanter Kühltemperatur in Kühlbox; Temperaturkontrolle vor und nach den optischen Messungen mithilfe eines Einstichthermometers). Dennoch kann retrospektiv davon ausgegangen werden, dass durch die Zerkleinerungsschritte zwischen optischen Messungen I und II außerordentliche Temperatureffekte als Erwärmung,

Abkühlung und Gefrieren eingetreten sind. Nach SWATLAND (1995) sind bei tiefgefrorenem Fleisch, das nach Auftauen vermessen wurde, untypische Fluoreszenzeffekte zu erwarten. Der Zusatz von Trockeneis zur besseren Homogenisierung der teilweise hohen Anteile an Bindegewebe muss daher kritisch gesehen werden. Wahrscheinlich sind in weiten Bereichen des Probenmaterials Tiefkühlfefekte eingetreten, die zu anomalen Emissionsspektren geführt haben. Es liegt daher die Vermutung nahe, dass durch die zwischen den beiden optischen Messungen am IOF-Sensormodul durchgeführten Zerkleinerungsschritte eine nachteilige Beeinflussung des Materials dahingegen stattgefunden hat, dass, wie von SWATLAND (1995) beschrieben, eine nicht quantifizierbare Abnahme der Fluoreszenzintensität eingetreten ist. Dies kann möglicherweise zur unerwartet niedrigen Korrelation zwischen den Fluoreszenzemissionen und Bindegewebe im homogenisierten Probenmaterial beigetragen haben. Darüber hinaus ergibt sich bei Betrachtung des Untersuchungsmaterials die Frage, inwiefern der Einkauf des Fleisches in Metzgereien und Supermärkten eine gewisse Unwägbarkeit mit sich bringt, da hier keine Angaben zum Datum der Fleischgewinnung und eventuellen Temperaturschwankungen bei Lagerung und Transport gemacht werden können.

Die Auswahl des untersuchten Materials nach möglichst ausgeprägten Bindegewebsgehalten hat offenbar dazu geführt, dass auch durch gründliches Zerkleinern unter Zusatz von Trockeneis und Mischen des Materials keine hinreichend homogene Verteilung dieser Anteile erreicht wurde. Darauf begründen sich die extremen Messwertschwankungen zwischen den Doppelansätzen der nasschemisch ermittelten Bindegewebsgehalte, die eine Modellerstellung erschweren und zur niedrigen Korrelationen zwischen Fluoreszenz und Bindegewebe mit beitragen. Für zukünftige Untersuchungen mit einem überarbeiteten Sensormodul sollte daher die Auswahl des Probenmaterials so ausgerichtet werden, dass eine weitestgehend gleichmäßige Homogenisierung, auch ohne Zusatz von Trockeneis, erreicht werden kann.

Generell stellt sich die Frage, ob die pro Probe an der Oberfläche des Materials abgegriffenen zehn Messpunkte (Fläche je rund 2 cm) als repräsentativ für eine durchschnittliche Menge von 150 g Probenmaterial angesehen werden können, insbesondere bei zerkleinertem und damit relativ inhomogenem Fleisch. Darüber

hinaus wurden für die nachfolgenden nasschemischen Referenzanalysen jeweils nur Teilmengen von 1 g – 10 g aus der ursprünglichen Menge von 150 g Probenmaterial entnommen, so dass auch diese als nicht zwingend repräsentativ für das gesamte Probenmaterial anzusehen sind. Zusätzlich können trotz gründlicher Homogenisierung Schwankungen in den Gehalten der einzelnen Parameter auftreten. Dieses führt sicherlich zu Verzerrungen der Analyseergebnisse und daher sollte diesen Effekten durch einen umgestalteten Versuchsaufbau begegnet werden.

Offen ist darüber hinaus, in welchem Maß durch den mit Zerkleinerung und Umfüllen verbundenen Kontakt mit Luftsauerstoff oxidative Veränderungen von Oxy- und Desoxymyoglobin zu bräunlichem Metmyoglobin eingetreten sind. Nach SWATLAND (1995) verändert sich durch diese Oxidation das Reflektionsspektrum von Myoglobin dahingehend, dass statt Peaks bei 410 bis 430 nm sowie um 560 nm ein einzelner Peak bei 600 nm entsteht. Fraglich ist daher, ob nicht durch die bereits augenscheinlich erkennbare Veränderung der oberflächlichen Probenfarbe eine Verzerrung der erhaltenen Reflektionsspektren entstanden ist. Da der Faktor der wahrscheinlich eingetretenen oxidativen Farbveränderung für die einzelnen Proben bisher nicht ermittelt worden ist, sollte bei weiteren Untersuchungen die Veränderung der Farbe durch ein Farbmessgerät erfasst werden und in die Modellerstellung mit einfließen. Daneben ließen sich mögliche Variationen des pH-Wertes, die wie oben angeführt die Fluoreszenzspektren nachteilig beeinflussen können, mittels eines pH-Meters bestimmen und für die Modellerstellung berücksichtigen.

Wie aus den Ausführungen des Ergebnisteils ersichtlich wird, bestehen eindeutige Unterschiede der Emissionsintensität zwischen dem grob zerkleinertem, d. h. mit Vorschneider und 8 mm-Lochscheibe geschnittenem, und dem anschließend fein zerkleinertem, d. h. mit Fleischwolf (4 mm-Lochscheibe) und einer „Moulinette“ homogenisiertem Material. Dies deckt sich mit Berichten in der Literatur, die bei NIR-spektroskopischen Untersuchungen von fein zerkleinertem Fleisch stärker mit den nasschemischen Resultaten korrelierende Ergebnisse erzielen als dies bei grob oder nicht zerkleinertem Material der Fall ist (ZIOLKO; 2001; STCHUR ET AL., 2002; COZZOLINO UND MURRAY, 2002). Das Off-Set zwischen grob und fein zer-

kleinertem Material muss daher zukünftig eine getrennte Erstellung und Auswertung der Datensätze aus beiden Aufbereitungsformen nach sich ziehen. Auch die aus dem Data Mining ersichtlichen Unterschiede in den spektralen Daten von Rind, Schwein und Halb/Halb machen eine getrennte Datenerstellung und Datenauswertung dieser Fleischsorten notwendig.

Absolutes Gebot für eine reelle Kalibrationsentwicklung auf Basis der nasschemischen Referenzanalytik ist die Reproduzierbarkeit der physikalischen Messungen. Mögliche Varianzen der Messwerte durch Temperaturschwankungen, Messpunktgröße und -positionierung sowie Zeitdauer und Effekt der Zerkleinerungsschritte müssen minimiert werden. Durch einen automatisierten Vorschub und gesteuerte Drehung des Probengefäßes ließe sich die Messpunkterfassung so standardisieren, dass möglichst viele Messpunkte an definierten Stellen abgegriffen und dadurch besser in Bezug zu den nasschemischen Ergebnissen gesetzt werden können. Die bei grob zerkleinertem Material stets vorhandenen und auch bei fein zerkleinertem Fleisch nicht gänzlich zu beseitigenden Inhomogenitäten lassen sich dadurch umfangreicher erfassen. Dies ergibt eine deutlich repräsentativere Basis an spektralen Daten für die zukünftige Modellerstellung. Auch die Ausweitung der Messpunktgröße trägt zur Schaffung einer umfassenderen Darstellung der optischen Werte bei. Je größer die ausgewertete Fläche der jeweiligen Probe ist, desto repräsentativer stellen sich auch die erhaltenen spektralen Daten für die gesamte Probenmenge dar. Darüber hinaus ließen sich durch Mehrfachbestimmungen der einzelnen nasschemischen Parameter materialbedingte Schwankungen der Probenzusammensetzung besser erfassen als dies bei Doppelbestimmungen möglich ist.

In der Probenvorbereitung stellte sich gerade die Zerkleinerung von stark bindewebshaltigem Material als technisch schwierig dar. Auch bei sorgfältiger Zerkleinerung unter Zusatz von Trockeneis waren augenscheinlich teilweise noch geringe Reste von bindewebigen Fasern erkennbar. Dies spiegelt sich in den extremen Messwertschwankungen des nasschemisch ermittelten Bindegewebsgehalts wider, die eine reelle Kalibrationserstellung des IOF-Sensormoduls in diesem Bereich erschwert. Solchen Auswirkungen sollte, wie bereits angeführt, durch die Auswahl von Probenmaterial mit weniger hohen Bindegewebsgehalten begegnet

werden. Überdies ließe sich testen, ob von verschiedenen Herstellern für den Laboreinsatz konstruierte Zerkleinerungsgeräte einen höheren Grad an Homogenisierung auch bei stark bindegewebehaltigem Fleisch erreichen können.

In der Weiterentwicklung des IOF-Sensormoduls können die redundanten Wellenlängen wie auch die Wellenlängen mit untypischen Effekten (810 nm, 905 nm, 940 nm) aus dem optischen Konzept entfernt werden. Welche technischen Änderungen bei optischen Strahlungsquellen und Sensoren des Moduls überdies notwendig sind, muss durch die Experten der IOF-Arbeitsgruppe geklärt werden und durch umfassende Messungen evaluiert werden.

12 NIR-Spektroskopie

Die NIR-Spektroskopie wird als Schnellmethode des „Substitutionstyp“ zunehmend zur Bestimmung der chemischen Parameter Wasser, Fett, Rohprotein und Bindegewebe bzw. BEFFE in Fleisch und Fleischerzeugnissen herangezogen. Das Potential, die simultane Untersuchung der Analyten in kurzer Zeit (≤ 60 sec) auszuführen, macht ihre Anwendung in der industriellen Qualitätskontrolle wie auch in der Lebensmittelüberwachung interessant.

In verschiedenen Studien wurde die Eignung der NIR-Spektroskopie zur Analyse von Wasser, Fett, Protein und Kollagen untersucht. Dabei kommen die Autoren zu unterschiedlichen Ergebnissen. EICHINGER UND BECK (1992) wie auch TØGERSEN ET AL. (2003) stellen in ihren Untersuchung an intaktem, gewolftem und homogenisiertem Rindfleisch eine hohe Genauigkeit der NIR-Spektroskopie in Wasser-, Fett- und Rohproteingehalten fest. Die Korrelationskoeffizienten bewegen sich für Fett zwischen $r = 0,81$ (intakter M. longissimus dorsi), $r = 0,94$ (Hackfleisch) und $r = 0,98$ (homogenisierter M. longissimus dorsi). Für den Gehalt an Rohprotein ergeben sich $r = 0,64$, für den Wassergehalt $r = 0,92$. Auch FREUDENREICH (1993) sieht bei der Bestimmung der drei Parameter in Rind- und Schweinefleisch eine ähnlich hohe Genauigkeit erreicht, wie er sie in referierenden nasschemischen Analysen erhalten hat. Für homogenisiertes Schweinefleisch ($n = 134$) ergeben sich hier mit einem „Infratec Food and Feed Analyzer

1255“, das das Vorläufergerät des FoodScan™ darstellt, Korrelationskoeffizienten von $r = 0,84$ für Wasser, $r = 0,97$ für Fett und $r = 0,89$ für Protein. Bei homogenisiertem Rindfleisch ($n = 56$) sind Korrelationen von $r = 0,93$ für Wasser, $r = 0,94$ für Fett und $r = 0,81$ für Protein zu erzielen. Auch bei Analysen an Hähnchenfleisch erzielt FREUDENREICH (1998) mit diesem NIR-Spektroskop sehr hohe Korrelationen zur nasschemischen Analytik (Wasser $r = 0,92$; Fett $r = 0,99$ und Protein $r = 0,98$).

Bei der Bestimmung des Bindegewebeseiweiß scheinen oftmals geringere Genauigkeiten erreicht zu werden als bei den Parametern Wasser, Fett und Protein (BÜNIG-PFAUE UND URBAN, 1995; FREUDENREICH, 1996). Auch ALOMAR ET AL. (2003) können beim Vergleich von NIR-Reflektionsmessungen mit nasschemischen Referenzdaten nur eine geringe Vorhersagesicherheit für Bindegewebe ($r = 0,18$) in Rindfleisch feststellen. Die Ursache dafür scheint darin zu liegen, dass es zu Verzerrungen der Korrelation zwischen spektralen und nasschemischen Daten kommt. Für eine exakte Korrelationsberechnung ist eine spektrale Quantifizierung der Aminosäure 4-Hydroxyprolin erforderlich, was angesichts der geringen absoluten Gehalte dieser Aminosäure in Fleisch (unter 1 %) und der im Vergleich zu Wasser und Fett generell flach ausgebildeten Absorptionsbanden von Protein zurückzuführen ist.

Generell stellt sich hierbei die Frage, ob die indirekte nasschemische Bestimmung des Bindegewebe über 4-Hydroxyprolin natürliche Schwankungen im Gehalt dieser Aminosäure ausreichend berücksichtigt und somit für die Verzerrung der Korrelation mit verantwortlich ist (URBAN, 1996). FREUDENREICH (1992) hat daher angeregt, statt des Gehalts an Hydroxyprolin bzw. Bindegewebeseiweiß die NIR-Kalibration über den Parameter BEFFE zu führen, da dadurch ein geringerer Fehlerbeitrag der nasschemischen Summenparameter entsteht als durch die Bestimmung des Hydroxyprolins.

Die Ergebnisse der eigenen analytischen Statistik lassen zunächst die Aussage zu, dass in den festgestellten Mittelwerten von Wasser, Fett, Rohprotein und BEFFE erkennbare Tendenzen zur Abhängigkeit von der im Probenmaterial verwendeten Tierart (Rind, Schwein und Halb/Halb) bestehen. Bezüglich des Was-

sergehalts ermitteln die NIR-spektroskopischen Analysen Werte, die nahe an die nasschemischen Ergebnisse heranreichen. Dabei bestehen Schwankungen in Form von höheren oder niedrigeren Werten, ohne dass eine eindeutige Mustererkennung ersichtlich wird. Für Rindfleisch und Halb/Halb mit nasschemischen Wassergehalten von $\leq 60\%$ werden teilweise höhere Wassergehalte als die der Nasschemie ermittelt. Bei der Fettbestimmung zeigen die NIR-spektroskopisch ermittelte Gehalte tendenziell eine Höherbewertung der Werte in mageren Fleisch von Schwein und Halb/Halb. Dagegen zeigt sich bei Rind eine durchaus konsequente Unterschätzung des Fettgehalts im Vergleich zur nasschemischen Analyse, teilweise um mehrere Prozentpunkte. Die Analysen des Rohproteins ergeben für Schwein meist höhere und für Rind meist niedrigere Gehalte als die nasschemische Untersuchung. Für das Probenmaterial Halb/Halb bewegen sich die NIR-Werte meist in ähnlich genauen Bereichen wie die referenzanalytischen Ergebnisse. Für alle drei Probenvarianten Rind, Schwein und Halb/Halb werden durch die NIR-Spektroskopie BEFFE-Gehalte ermittelt, die erkennbar über den Vergleichswerten der nasschemischen Analyse liegen. Diese Höherbewertungen scheinen annähernd proportional mit den relativen Gehalten an BEFFE anzusteigen. Es entsteht der Eindruck, dass die Streuung der spektroskopischen BEFFE-Werte in Form einer parallel verlaufenden Höherverschiebung auftritt, was als methodische Überbewertung interpretiert werden kann.

Aus der Korrelationsanalyse lassen sich für die durch das FoodScanTM-Spektroskop ermittelten Gehalte an Wasser, Fett, Rohprotein und BEFFE durchgängig hohe bis sehr hohe Korrelationen zu den nasschemischen Werten ableiten, die alle auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant sind. Für Rindfleisch tritt eine geringfügig niedrigere, aber immer noch hohe Korrelation auf. Anhand der errechneten Korrelationen lassen sich Rangfolgen erstellen: Die höchsten Korrelationen bei Wasser werden für das Probenmaterial Schwein erreicht, gefolgt von Halb/Halb und Rind. Die Korrelationen für Fett sind ebenfalls bei Schwein am höchsten, danach folgen Rind und Halb/Halb. Für Rohprotein und BEFFE ergibt sich ebenfalls bei Schwein die größte Korrelation, danach folgt Halb/Halb und Rind.

Die ermittelten Korrelationen sprechen für eine gute Vergleichbarkeit aller erzielten Werte mit den nasschemischen Daten. In der praktischen Anwendung treten jedoch gerade bei den BEFFE-Gehalten stärkere Abweichungen der prozentualen

Gehalte von den nasschemischen Referenzwerten auf. Bei Betrachtung einzelner Proben sind die für Rohprotein ermittelten Schwankungen um die nasschemischen Referenzwerte von durchschnittlich weniger als $\pm 1\%$ (max. einzelne Abweichung bei 1,09 % über und 2,25 % unter den zugehörigen Referenzwerten) zu vernachlässigen. Dagegen zeigt sich in den erhaltenen BEFFE-Werten des FoodScan™ eine nahezu konstante Höherbewertung im Vergleich zu den nasschemisch ermittelten Werten. Erzielt werden prozentuale Gehalte, die mindestens + 0,82 % bis max. 5,07 % über den nasschemischen Referenzwerten liegen (siehe Anhang, Tabellen 15, 16, 17). Vor allem bei Rind scheinen diese Abweichungen stärker ausgeprägt. Im Schnitt ergeben sich für den Großteil des Probenpools um + 1 % bis + 3 % höhere Gehalte an BEFFE, nur 6 Proben weichen in ihren NIR-spektroskopischen BEFFE-Gehalten geringfügig nach unten ab (max. 1,09 % unter der nasschemischen Referenz). Auch unter Auslassung der extremen Messwertabweichungen als untypische Ausreißer können die NIR-spektroskopischen BEFFE-Gehalte als methodisch überbewertet angesehen werden. FREUDENREICH (1992) hat mit einem „InfraTec Food and Feed Analyser 1255“ für Rind (n = 120) vergleichbare Werte (r = 0,86) erhalten. In Übereinstimmung mit den Aussagen von BÜNIG-PFAUE UND URBAN (1995), FREUDENREICH (1996) und ALOMAR ET AL. (2003) kann somit davon ausgegangen werden, dass auch in den am FoodScan™ durchgeführten Messungen eine reelle Bewertung bindegewebiger Fleischanteile nicht zufriedenstellend stattgefunden hat.

Angesichts der erzielten Ergebnisse muss vermutet werden, dass die dem FoodScan™ zugrunde liegende Kalibration im Bereich der BEFFE-Erstellungen noch Verbesserung bedarf, um die Exaktheit der nasschemischen Analyse zu erreichen. Es kann spekuliert werden, ob durch die Auswahl von stark in Fett- und Bindegewebegehalt variierenden Probenmaterial Messwertbereiche generiert wurden, die außerhalb der vom Gerätehersteller erstellten Kalibrationsmatrix liegen und es daher trotz der anpassungsfähigen ANN-Kalibration zum Entstehen von Messfehlern gekommen ist.

Grundsätzlich kann zu dem FoodScan™-Gerät gesagt werden, dass mit Hilfe dieses NIR-Geräts die Analyse der chemischen Parameter Wasser, Fett, Rohprotein und BEFFE im Sinne einer „schnellen“ Messdurchführung absolut verwirklicht werden kann. Die spektroskopische Vermessung einer Probe ist innerhalb von 30

sec vollständig abgeschlossen, die eigentlich zeitaufwendigen Schritte einer Analyse stellen vielmehr die Probenvorbereitung und Zwischenreinigung der Probenschale dar.

In Abhängigkeit von der jeweiligen Zielsetzung bei der Analyse substantieller Parameter gilt es die Vor- und Nachteile der NIR-Spektroskopie abzuwägen. Als Vorteile können die rasche und simultane Ergebniserstellung, die einfache Handhabung auch durch nicht eigens qualifiziertes Personal, der völlige Verzicht auf Chemikalien, die einfache Probenvorbereitung (Homogenisierung) und die zerstörungsfreie Analyse des Materials angesehen werden.

Als ungünstig muss generell die aufwendige Kalibration angesehen werden, die sowohl streng produktspezifisch als auch temperaturspezifisch ist. Darüber hinaus bedarf sie einer regelmäßigen Überprüfung durch nasschemische Referenzmethoden, um zuverlässige Ergebnisse zu liefern. Durch unsachgemäße Probenvorbereitung oder ungleichmäßiges Befüllen der Probenschale können zudem Messfehler generiert werden, die die Ergebnisse nicht mehr typisch für die einzelne Probe werden lassen und einen Vergleich zwischen unterschiedlichen Proben verzerren. Auch die mit Mängeln behaftete Bestimmung des BEFFE-Gehalts, insbesondere bei Rindfleisch muss als Schwäche der NIR-Spektroskopie angesehen werden. Eine der Nasschemie gleichwertige Ergebniserstellung konnte mit dem FoodScan™ Meat Analyser nicht erzielt werden, so dass sich zur Generierung vertrauenswürdiger Ergebnisse weiterhin die nasschemische Analyse empfiehlt.

Die für die Parameter Wasser, Fett und Rohprotein erzielten Korrelationen stehen indes dafür, dass die NIR-Spektroskopie für diese Faktoren eine vertrauenswürdige Schnellmethode darstellt, die die unmittelbare und simultane Ergebniserstellung für mehrere Analyten mit geringer Probenvorbereitung und hohem Probenumsatz vereint. Gerade in industrieller Umgebung mit hohem Probenaufkommen kann die NIR-Spektroskopie eine zuverlässige Schnellmethode für betriebsinterne Qualitätskontrollen darstellen. Unter solchen Voraussetzungen stellt die NIR-Spektroskopie trotz teilweise hoher Anschaffungskosten (FoodScan™ ca. 40 T€) definitiv eine Schnellanalysemethode für die Fleischparameter Wasser-, Fett- und Proteingehalt dar, die hohe Genauigkeit mit niedrigen Kosten pro Einzelanalyse und einfacher Bedienung einträglich kombiniert.

Der Einsatz des FoodScan™-Spektroskops als Grundlage für die Algorithmentwicklung des IOF-Sensormoduls muss kritisch beurteilt werden, da auch für dieses indirekte Verfahren das Prinzip gelten muss, dass die Präzision der Kalibrierung unmittelbar von der Zuverlässigkeit der verwendeten Referenzmethoden abhängt (FREUDENREICH, 1993).

13 NMR-Spektroskopie

In der Literatur lassen sich nur wenige Ausführungen zur routinemäßigen Untersuchung des Wasser- und Fettgehalts von Fleisch und Fleischerzeugnissen mittels NMR-Spektroskopie finden. Ein Grund dafür könnte darin gesehen werden, dass aufgrund des relativ hohen Anschaffungspreises eines NMR-Spektroskops bereits etablierten Schnellverfahren wie der NIR-Spektroskopie der Vorzug gegeben wird (N.N., 2004 B).

In einer Versuchsreihe mit Puten-, Rind- und Schweinefleisch verwendete ARNETH (1999) ein Impuls-NMR-Gerät (Oxford Instruments) im Vergleich zu konventionellen nasschemischen Analyseverfahren. Eingesetzt wurden dabei Fleischproben von Pute, Rind und Schwein mit variierenden Fettgehalten von 0,5 % bis 65, 8 %. Die durch die NMR-Methode erzielten Werte für Wasser und Fett sieht der Autor dabei als vergleichbar gut zu den nasschemischen Ergebnissen an, ohne dabei eine statistische Auswertung anzugeben. Zu beobachten waren dabei tendenziell höhere prozentuale Gehalte an Fett und Wasser als in der chemischen Referenzanalytik.

BRØNDUM ET AL. (2000) führten im Rahmen einer Vergleichsstudie NIR- und NMR-spektroskopische Untersuchungen zum Wasserbindungsvermögen und zur Zusammensetzung von unzerkleinertem Schweinefleisch (n = 39) durch, bei denen ein niedrig auflösender „Benchtop Pulsed NMR Analyser“ der Fa. Resonance Instruments, UK zum Einsatz kam. Das Gerät ist bezüglich seiner Feldstärke 23,2 MHz vergleichbar mit dem QuickFat Analyser® und arbeitet ähnlich mit spezifisch zur Unterdrückung der Wassersignale gesteuerten Puls-Sequenzen. Bei den

untersuchten Fleischstücken ermittelte die Arbeitsgruppe für den IMF-Gehalt eine Korrelation zu den nasschemischen Untersuchungen von $r = 0,68$ und für Wasser $r = 0,67$, die NIR- Reflektionsmessungen erreichten eine Korrelation für IMF von $r = 0,70$ und Wasser $r = 0,46$.

Der Maran QuickFat Analyser®, wie er auch bei den im Rahmen dieser Arbeit zum Einsatz kam, wurde von einer Arbeitsgruppe um SØRLAND ET AL. (2004) auf seine Leistungsfähigkeit in der Bestimmung von Fett getestet. Verwendet wurden 42 Proben von Rinderhackfleisch mit einem Fettgehalt von unter 1 % bis 12 %, die vergleichend mit dem Maran QuickFat Analyser®, einem Bruker Minispec Impuls-NMR-Spektroskop und mit der nach AOAC (Association of Official Analytical Chemists) anerkannten nasschemischen Foss-Iet-Schnellmethode für Rohfett untersucht wurden. Die Autoren erhalten für die durch den Maran QuickFat Analyser® erstellten Fettwerte eine Korrelation von $r = 0,975$ zur nasschemischen Methode, wie auch zum verwendeten Bruker Minispec NMR-Spektroskop. Zur Überprüfung der Wiederholbarkeit der Fettbestimmung wurde zertifiziertes Referenzmaterial mit einem bekannten Fettgehalt von $14,3 \% \pm 0,3 \%$ mehrfach vermessen. Es ergab sich bei 50 Wiederholungsmessungen eine Standardabweichung von unter 0,1 %. Sowohl die sehr hohe Korrelation als auch die geringe Standardabweichung sprechen für eine beachtliche Genauigkeit der Fettbestimmung durch den Maran QuickFat Analyser®. Für den Parameter Wasser wurden Verlaufsmessungen durchgeführt, bei denen der Wassergehalt des Referenzmaterial durch stufenweise Trocknung bei $+ 104^{\circ}\text{C}$ gravimetrisch ermittelt wurde und mit den parallel durch die NMR-Spektroskopie erstellten Wassergehalte verglichen wurde. Dabei ergab sich ein perfekter linearer Zusammenhang zwischen beiden Methoden. Somit kann auch die Wasserbestimmung des Maran QuickFat Analyser® als sehr exakt angesehen werden.

Bei den im Rahmen dieses Dissertationsvorhabens durchgeführten NMR-spektroskopischen Messungen am Maran QuickFat Analyser® ließen sich Ergebnisse feststellen, die erkennbar mit den von SØRLAND ET AL. (2004) getroffenen Beurteilungen übereinstimmen. Zwar ergaben sich für Rind, Schwein und Halb/Halb im Vergleich zur nasschemische Analyse jeweils um etwa 1 - 2 % niedrigere Wassergehalte und tendenziell auch ähnlich niedrigere Fettgehalte. Die er-

mittelten Ergebnisse bewegen sich dabei jedoch in starker Näherung zu den nasschemischen Werten, was Ausdruck in sehr hohen Korrelationen von Wasser (Rind $r = 0,996$, Schwein $r = 0,999$ und Halb/Halb $r = 1,000$) und Fett (Rind $r = 0,994$, Schwein $r = 0,999$ und Halb/Halb $r = 1,000$) findet. Für Material Halb/Halb besteht jeweils ein perfekter linearer Zusammenhang. Alle Korrelationen sind dabei auf dem 0,01 Niveau zweiseitig signifikant.

Bei der Bewertung der NMR-Spektroskopie muss zunächst einschränkend angeführt werden, dass für jede Sorte von Probenmaterial nur 10 Fällen verarbeitet wurden und die Ergebnisse somit nicht uneingeschränkt mit den zwischen NIR-Spektroskopie und Nasschemie ermittelten Korrelationen verglichen werden können. Es zeigt sich jedoch, dass die NMR-Spektroskopie durch ihre physikalischen Funktionsprinzipien eine sehr präzise, genaue und zugleich schnelle Bestimmung des Wasser- und Fettgehalts in Fleisch ermöglicht.

Als Vorteil des QuickFat Analyser®-Spektroskops ist die rasche Vermessung des Probenmaterials innerhalb von etwa einer Minute, die simultane und zerstörungsfreie Bestimmung von Wasser- und Fettgehalt und der geringe Kalibrationsaufwand zu sehen. Zur Kalibration des Geräts ist die einmalige Vermessung eines hinsichtlich der Protonendichte dem Probenmaterial entsprechenden Fettstandards mit 100 % Fettgehalt und bekanntem Gewicht ausreichend. Eine besondere Qualifikation des Bedienerpersonals ist, ähnlich wie bei Anwendung des FoodScan™ Meat Analyser, zur Durchführung der NMR-spektroskopischen Messungen nicht erforderlich.

Als Mangel kann die vor einer Messung notwendige Probenvorbereitung angesehen werden, da die dabei erforderlichen Schritte von Homogenisierung, Einwaage und Erwärmung des Probenmaterials auf + 40°C einen eindeutigen Zeitaufwand erfordern. Ein sicherlich gewichtiges Argument gegen den Einsatz der NMR-Spektroskopie in der Routineanalytik stellen die hohen Anschaffungskosten der Geräte dar, die beispielsweise für den Maran QuickFat Analyser® bei rund 60 T€ anzusetzen sind. Da dieses Verfahren zudem eine Bestimmung des Rohprotein-gehalts, anders als die NIR-Spektroskopie, nicht ermöglicht, wird die Anschaffung eines NMR-Spektroskops wohl nur bei sehr hohem Probenaufkommen und primä-

rer Ausrichtung auf möglichst exakte Wasser- und Fettgehalte als ökonomisch erwogen werden.

Die präzise und genaue Wertefindung für Wasser- und Fettgehalt, die zudem eine geringere Abhängigkeit von der Art des Probenmaterials (Rind, Schwein und Halb/Halb) als die NIR-Spektroskopie zeigt, lässt den Einsatz der NMR-Spektroskopie in der zukünftigen Kalibration des Sensormoduls uneingeschränkt zweckmäßig erscheinen.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die nasschemische Untersuchung substantieller Parameter nach den Vorschriften der Amtlichen Sammlung stellt in der BRD die Grundlage dar, nach der Fleisch und Fleischerzeugnisse gemäß den Lebensmittelleitsätzen beurteilt werden. Die nach den Vorgaben der Amtlichen Sammlung erstellten prozentualen Gehalte an Wasser, Asche, Fett, Rohprotein und Bindegewebe sind stets dann heranzuziehen, wenn es darum geht, die Verkehrsfähigkeit von Produkten hinsichtlich ihres Anteils an wertbestimmenden BEFFE zu beurteilen. Die in diesem Rahmen festgelegten Methoden (L 06.00-1, -3, -4, -6, -7, -8) können in der BRD als „Goldstandard“ der chemischen Untersuchung von Fleisch und Fleischerzeugnissen angesehen werden.

Die klassische nasschemische Methode in Laborumgebung erfordert jedoch neben einem beträchtlichem Zeit- und Materialaufwand auch eine gewisse analytische Erfahrung des Untersuchers, um vertrauenswürdige Ergebnisse zu erzielen. Daher haben Verfahren, die als „Schnellmethoden“ nach Kategorie eines Substitutions- oder Organisationstyp die beschleunigte Analyse wichtiger Parameter ermöglichen, in den letzten Jahren sowohl in der Lebensmittelproduktion als auch -überwachung eine zunehmende Verbreitung gefunden.

Sowohl die NIR-Spektroskopie als auch die NMR-Spektroskopie erfüllen die Voraussetzung einer raschen Ergebniserstellung, da die Messungen innerhalb von weniger als 60 sec abgeschlossen werden können. Für die Belange der betriebsinternen Qualitätskontrolle stellt die NIR-Spektroskopie eine zuverlässige und ausreichend genaue Schnellmethode dar. Forensische Sicherheit wie die nasschemische Vollanalyse bietet sie allerdings nicht, so dass die NIR-Spektroskopie in der amtlichen Lebensmittelüberwachung lediglich als Screening-Verfahren zur Abschätzung abweichender Zusammensetzungen eingesetzt werden sollte.

Auch die NMR-Spektroskopie ist eine präzise Schnellmethode, die bei der Bestimmung von Wasser- und Fettgehalt sehr zuverlässige Ergebnisse erstellt. Ihre Genauigkeit erlaubt die Aussage, dass sie für diese Parameter als gleichwertig zur Nasschemie angesehen werden kann. Da die NMR-Spektroskopie ebenfalls keine

Zertifizierung für Fleisch und Fleischerzeugnisse nach Vorgabe der Amtlichen Sammlung von Untersuchungsverfahren besitzt und zudem nach dem allgemeinen Kenntnisstand derzeit keine rechtstechnische neue Bewertung der Methodensammlung erwogen wird, ist absehbar, dass auch zukünftig die nasschemische Untersuchung nach § 64 Absatz 2 LFGB allgemeingültiges Richtmaß bleiben wird.

ZUSAMMENFASSUNG

Der Gehalt an bindegewebeseiweißfreiem Fleischeiweiß (BEFFE) bildet für die Lebensmittelüberwachung im Rahmen des Verbraucherschutzes nach § 15 LFGB die entscheidende Beurteilungsgrundlage für die substantielle Qualität von Fleisch und Fleischerzeugnissen. Die chemische Vollanalyse nach Vorschrift der Amtlichen Sammlung stellt dabei die anerkannte Grundlage zur Berechnung des BEFFE-Gehaltes dar. Für die Hersteller von Fleischwaren spielt neben dem BEFFE auch der Wasser-, Fett- und Rohproteingehalt eine Rolle bei der Rezepturberechnung und Standardisierung von Fleischprodukten. Für eine optimale Rezeptursteuerung und Qualitätssicherung ist es notwendig, die erwünschten Parameter bereits im Verarbeitungsfleisch erfassen zu können. Die chemische Analyse ist mit einem entsprechenden Zeitaufwand verbunden, so dass die Vollanalyse für eine synchron zu den Verarbeitungsschritten erfolgende Bestimmung der entscheidenden Parameter nicht geeignet ist.

Ziel dieser Arbeit war, die Leistungsfähigkeit eines sich in der Entwicklung befindlichen optischen Sensormoduls zur Detektion von Wasser, Fett, Rohprotein und Bindegewebe zu beurteilen. Das Funktionsprinzip des optischen Verfahrens basiert auf VIS-, NIR- sowie Fluoreszenz-spektroskopischen Messungen und soll im Durchflussverfahren die simultane in-line-Analyse von Verarbeitungsfleisch ermöglichen. Daneben wurden Verfahren der NIR-Spektroskopie und der niedrig auflösenden NMR-Spektroskopie in die Untersuchungen miteinbezogen, um die Messgenauigkeit dieser Schnellmethoden in der Bestimmung von Fett und Wasser (NIR- und NMR-Spektroskopie) sowie von Rohprotein und BEFFE (NIR-Spektroskopie) zu bewerten. Aus ihrer grundsätzlichen Bewertung sollte die mögliche Eignung der spektroskopischen Schnellverfahren zur präzisen und vertrauenswürdigen Kalibration des neuartigen Sensormoduls abgeleitet werden. Als Referenzanalytik wurde für alle Methoden die nasschemische Vollanalyse herangezogen.

Insgesamt wurden 54 Proben (Rind, Schwein, Halb/Halb) am optischen Sensormodul vermessen. Alle Proben wurden anschließend NIR-spektroskopisch und

nasschemisch analysiert. Eine Teilmenge von 30 Proben wurde zusätzlich der NMR-spektroskopischen Untersuchung zugeführt.

Der Vergleich der spektralen Messgrößen des neuartigen Verfahrens mit der nasschemischen Referenzanalytik ergab für alle Probenmaterialien (Rind, Schwein, Halb/Halb) eine in Abstufungen zufriedenstellende Korrelation der Wasser-, Asche-, Fett- und Rohproteingehalte, jedoch nur eine unzureichende Vorhersagesicherheit für Bindegewebe. Aus dem Vergleich von NIR-Spektroskopie zur Nasschemie liessen sich hohe bis sehr hohe Korrelationen für die Parameter Wasser, Fett, Rohprotein und BEFFE ermitteln. Die durch die NMR-Spektroskopie erstellten Wasser- und Fettgehalte bewegten sich für alle 30 untersuchten Proben in sehr hoher Korrelation zu den nasschemischen Ergebnissen.

Die NIR-Spektroskopie kann mit Einschränkungen als ausreichend zuverlässige Schnellmethode zur simultanen Bestimmung substantieller Fleischparameter angesehen werden. NMR-spektroskopische Messungen erzielen für Wasser und Fett genauere Ergebnisse als die NIR-Spektroskopie. Sofern nur die Bestimmung von Wasser und Fett benötigt wird, ist in der Routineanalytik die NMR-Spektroskopie als genauere Methode angebracht. Ist daneben auch die Bestimmung von Rohprotein und BEFFE angestrebt, muss auf die NIR-Spektroskopie zurückgegriffen werden. Besteht die Anforderlichkeit einer forensisch gesicherten Aussage, so stellt die Nasschemie nach wie vor die Methode der Wahl dar.

Eine abschließende Bewertung des optischen Sensormoduls konnte im Rahmen dieses Dissertationsvorhabens nicht getroffen werden. Der Datensatz von 54 verarbeiteten Fällen hat sich in der statistischen Auswertung als zu gering erwiesen, um eine Kalibration des Systems für die unterschiedlichen Probenmaterialien und Aufbereitungsformen zu ermöglichen.

SUMMARY

Sybille Christina Hohenester

Evaluation of selected rapid methods for the determination of meat quality parameters

For the inspection of foodstuffs aimed at ensuring consumer production according to § 64 LFGB (German law on food and feed) the BEFFE content (meat protein excluding connective tissue protein) is the main criterion for the evaluation of the substantial quality of meat and meat products. The proximate analysis of the major food contents according to the methods of the Official Collection of Examination Methods is the generally accepted basis for the calculation of the BEFFE content. In addition to BEFFE, the moisture, fat and total protein contents also play an important role for producers of meat products in calculating formulations and standardizing meat products. In order to obtain optimal formulations and maximum quality products it is necessary to determine the required parameters already in the raw material. Chemical analysis is rather time-consuming and therefore proximate analysis with standard methods is not suited for an online determination of the relevant parameters parallel to the production process.

The aim of the present study was to evaluate the efficiency of a novel optical sensory module for the detection of moisture, fat, raw protein and connective tissue contents. The operatory principle of the optical method is based on VIS, NIR as well as fluorescence spectroscopic measurements and is to enable the simultaneous, inline analysis of unprocessed meat in a flow-through system. In addition, NIR spectroscopy and low-resolution NMR spectroscopy methods were included in the examinations in order to evaluate the accuracy of these rapid methods in the determination of fat and water (NIR and NMR) as well as raw protein and BEFFE (NIR). Based on the principal evaluation of these spectroscopic rapid methods their applicability to the precise and reliable calibration of the novel sensory module was to be deduced. The reference method for all of the examinations was the standard proximate analysis. In total, 54 samples (beef, pork and a half and half mixture thereof) were measured with the sensory module; following this, NIR spectroscopic analyses and proximate analyses were performed. A part of the samples (30) was additionally subjected to NMR spectroscopic examinations.

The comparison of the spectral values of the novel method with the results of the reference method showed - at different degrees of acceptance - satisfactory correlations of the water, ash, fat and raw protein values, yet an insufficient predictability for connective tissue. In comparing NIR spectroscopy with proximate analysis, high to very high correlations were obtained for the parameters moisture, fat, raw protein and BEFFE. The moisture and fat contents determined by NMR spectroscopy showed very high correlations with the results of the proximate analysis for all 30 samples examined.

With some limitations NIR spectroscopy can be considered a sufficiently reliable rapid method for the simultaneous determination of substantial parameters of meat. NMR spectroscopic measurements yielded more precise results than NIR spectroscopy in the case of moisture and fat. If only the determination of moisture and fat content is required NMR spectroscopy is to be preferred for routine analysis as it is the more precise method. NIR spectroscopy has to be used if the determination of raw protein and BEFFE is also necessary. In forensic cases requiring an absolutely reliable result standard proximate analysis still represents the method of choice.

A conclusive evaluation of the optical sensory module could not be obtained in this study. In the statistical analysis the sample size of 54 samples was shown to be too small to enable a calibration of the system for different sample materials and processing techniques.

ANHANG

Probe	Wasser	Fett	Probe	Wasser	Fett
13 – Schwein	56,05	23,33	40 – Rind	72,33	3,93
14 – Schwein	56,39	22,72	41 – Halb/Halb	72,39	2,62
15 – Rind	57,90	21,59	42 – Halb/Halb	71,96	2,70
16 – Rind	57,90	21,72	43 – Schwein	42,05	42,66
17 – Halb/Halb	60,32	18,03	44 – Schwein	41,95	42,70
18 – Halb/Halb	59,66	18,86	45 – Rind	58,13	22,52
19 – Schwein	70,38	5,91	46 – Rind	58,33	22,42
20 – Schwein	69,79	5,68	47 – Halb/Halb	51,01	30,95
21 – Rind	70,57	3,59	48 – Halb/Halb	48,87	33,88
22 – Rind	71,95	3,15	49 – Schwein	67,87	8,27
23 – Halb/Halb	71,57	4,28	50 – Schwein	66,43	8,79
24 – Halb/Halb	72,36	3,37	51 – Rind	70,24	5,76
37 – Schwein	72,21	3,74	52 – Rind	67,84	8,95
38 – Schwein	71,62	2,92	53 – Halb/Halb	66,14	10,75
39 – Rind	72,26	4,27	54 – Halb/Halb	65,52	11,35

Tabelle 15: Fett- und Wassergehalte in %, ermittelt durch NMR-Spektroskopie

Probennummer	Wasser	Fett	RP	BEFFE
1 – Schwein	63,34	16,91	20,40	20,27
2 - Schwein	61,28	19,11	19,71	18,80
3 – Rind	59,61	20,09	18,25	17,26
4 – Rind	58,18	22,29	18,00	16,37
5 – Halb/Halb	59,66	21,65	18,57	17,28
6 – Halb/Halb	60,71	20,86	19,79	17,42
7 – Schwein	61,29	20,92	17,36	17,00
8 – Schwein	61,24	21,65	17,39	16,72
9 – Rind	62,88	17,23	17,96	16,68
10 – Rind	62,71	16,61	17,96	17,62
11 – Halb/Halb	58,14	22,76	17,57	16,39
12 – Halb/Halb	59,78	21,87	16,58	16,11
13 – Schwein	57,17	23,01	19,12	18,35
14 – Schwein	58,4	22,55	19,30	18,29
15 – Rind	61,38	18,85	17,45	17,92
16 – Rind	59,97	20,21	17,34	16,99
17 – Halb/Halb	63,14	17,95	19,42	19,09
18 – Halb/Halb	61,33	19,5	20,03	18,66
19 – Schwein	70,58	8,66	21,50	23,12
20 – Schwein	70,9	8,23	21,85	23,33
21 – Rind	72,24	2,63	19,80	20,50
22 – Rind	73,05	1,61	21,94	20,00
23 – Halb/Halb	72,77	8,15	21,07	22,23
24 – Halb/Halb	73,75	7,37	21,66	22,43
25 – Schwein	60,69	21,53	18,54	18,53
26 – Schwein	61,38	20,37	18,17	18,47
27 – Rind	58,71	21,83	18,95	15,07
28 – Rind	59,13	21,61	19,07	15,28
29 – Halb/Halb	59,57	21,77	19,06	17,09
30 – Halb/Halb	60,29	21,26	18,79	17,24
31 – Schwein	63,38	16,96	20,49	20,14
32 – Schwein	63,24	17,1	20,39	19,84

Probennummer	Wasser	Fett	RP	BEFFE
33 – Rind	61,98	17,65	18,48	18,09
34 – Rind	57,91	23,13	17,98	16,63
35 – Halb/Halb	59,78	21,15	19,15	17,96
36 – Halb/Halb	60,65	20,51	19,20	18,28
37 – Schwein	73,8	6,02	22,78	23,23
38 – Schwein	74,61	5,06	23,25	23,25
39 – Rind	72,58	4,1	21,98	20,91
40 – Rind	72,88	3,56	21,90	21,64
41 – Halb/Halb	73,01	7,68	23,75	23,42
42 – Halb/Halb	73,24	7,25	23,69	23,30
43 – Schwein	41,77	42,78	13,38	11,13
44 – Schwein	41,2	43,37	13,42	11,28
45 – Rind	60,6	21,44	17,05	12,94
46 – Rind	60,26	21,09	16,84	13,41
47 – Halb/Halb	52,88	28,66	16,10	13,07
48 – Halb/Halb	49,92	31,57	15,50	12,66
49 – Schwein	68,5	10,34	22,58	23,38
50 – Schwein	68,15	10,72	22,63	23,05
51 – Rind	70,36	4,83	22,34	19,91
52 – Rind	70,09	6,68	21,27	18,67
53 – Halb/Halb	66,88	14,16	20,68	20,53
54 – Halb/Halb	66,67	14,43	20,95	20,34

Tabelle 16: Wasser-, Fett-, Rohprotein- und BEFFE-Gehalte in %, ermittelt durch NIR-Spektroskopie

Probe	Wasser	Asche	Fett	RP	BG	BEFFE
1 - Schwein	63,1	1,0	16,6	19,8	2,1	17,7
2 – Schwein	60,9	1,0	19,0	19,1	2,1	17,1
3 - Rind	60,4	0,8	20,9	18,7	2,6	16,1
4 – Rind	57,5	0,8	23,5	17,7	2,6	15,1
5 – Halb/Halb	60,1	0,9	21,5	18,6	2,2	16,4
6 – Halb/Halb	59,9	0,9	20,2	18,7	2,1	16,6
7 – Schwein	61,1	0,9	20,9	17,5	1,9	15,6
8 – Schwein	60,8	0,9	22,2	17,1	1,9	15,2
9 – Rind	60,9	0,9	19,4	18,8	3,0	15,8
10 – Rind	61,9	0,9	18,4	18,6	3,1	15,6
11–Halb/Halb	58,7	0,8	23,2	17,2	2,4	14,7
12–Halb/Halb	58,8	0,8	22,9	16,6	2,8	13,8
13 – Schwein	57,9	0,9	23,0	18,3	2,2	16,1
14 – Schwein	58,5	0,9	22,5	18,3	1,8	16,5
15 – Rind	58,5	0,9	22,4	18,8	2,8	16,0
16 – Rind	58,0	0,8	23,6	18,0	2,8	15,2
17–Halb/Halb	61,7	0,9	17,9	19,4	2,3	17,1
18–Halb/Halb	61,0	0,9	19,3	19,1	2,0	17,1
19 – Schwein	71,2	1,1	6,8	21,8	2,0	19,8
20 – Schwein	71,3	1,1	6,5	22,0	1,9	20,1
21 – Rind	73,1	1,0	4,0	22,7	3,6	19,1
22 – Rind	73,8	1,0	3,6	21,9	3,2	18,7
23–Halb/Halb	72,3	1,0	4,8	22,5	2,4	20,0
24–Halb/Halb	73,1	1,1	4,1	21,9	2,5	19,4
25 – Schwein	60,5	0,9	20,6	18,1	2,2	16,0
26 – Schwein	61,3	0,9	19,7	18,6	2,1	16,5
27 – Rind	58,4	0,9	21,9	19,1	4,8	14,3
28 – Rind	57,8	0,9	22,2	19,0	4,9	14,0
29–Halb/Halb	59,5	0,9	22,1	18,5	3,3	15,2
30–Halb/Halb	58,9	0,9	21,9	18,2	3,3	15,0

Proben	Wasser	Asche	Fett	RP	BG	BEFFE
31 - Schwein	63,7	1,1	15,8	20,1	1,1	19,0
32 - Schwein	63,6	1,1	16,1	19,9	1,3	18,5
33 – Rind	61,1	0,9	16,5	21,0	4,3	16,3
34 – Rind	56,3	0,8	24,6	19,0	4,2	14,8
35–Halb/Halb	59,6	0,9	20,9	19,2	2,2	17,0
36–Halb/Halb	60,6	0,9	19,4	18,9	2,3	16,6
37 – Schwein	73,6	1,3	3,8	22,4	1,3	21,1
38 – Schwein	74,2	1,3	3,0	22,7	1,1	21,5
39 – Rind	73,0	1,0	4,7	22,7	3,3	19,4
40 – Rind	73,4	1,0	4,2	23,0	3,9	19,2
41–Halb/Halb	73,2	1,1	3,0	23,7	2,9	20,8
42–Halb/Halb	73,3	1,1	2,9	23,6	1,6	21,9
43 – Schwein	43,3	0,6	44,2	12,8	1,7	11,2
44 – Schwein	43,3	0,6	44,1	12,8	1,7	11,1
45 – Rind	59,2	0,7	23,2	18,0	3,4	13,9
46 – Rind	59,1	0,8	23,0	17,7	3,5	14,2
47–Halb/Halb	52,0	0,8	32,1	16,0	2,8	13,2
48–Halb/Halb	50,3	0,7	34,8	14,8	3,0	11,8
49 – Schwein	68,3	1,1	8,8	22,0	1,3	20,7
50 – Schwein	67,8	1,1	9,1	22,1	1,2	21,0
51 – Rind	70,8	1,1	5,6	22,6	1,7	21,0
52 – Rind	69,0	1,0	9,2	21,1	1,4	19,6
53–Halb/Halb	67,1	1,0	11,4	21,3	2,0	19,3
54–Halb/Halb	66,4	1,1	12,1	21,2	1,4	19,7

Tabelle 17: Wasser-, Asche-, Fett-, Rohprotein-, Bindegewebe- und BEFFE- Gehalte in %, ermittelt durch nasschemische Analyse

LITERATURVERZEICHNIS

A

AOAC International (2000)

Official Methods of Analysis, 17th edition

AOAC International, Gaithersburg, USA

ABERLE, E.D.; FORREST, J.C.; GERRARD, D.E.; MILLS, E.W. (2001)

Principles of Meat Science, Fourth Edition

Kendall/Hunt Publishing Company, Dubuque, USA

ALOMAR, D.; GALLO, C.; CASTAÑEDA, M.; FUCHSLOCHER, R. (2003)

Chemical and Discriminant Analysis of Bovine Meat by Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS)

Meat Science **63**, 441-450

ARNETH, W. (1996)

Untersuchungen zur Bestimmung des Muskelfleischanteils in Fleischerzeugnissen mittels des 3-Methylhistidingehalts

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach **35**, Nr. 132, 192-197

ARNETH; W. (1998)

Chemisch- physikalische Analyse von Makroinhaltsstoffen

In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K (1998): Qualität in Fleisch und Fleischwaren, Band 2, 642-654

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

ARNETH, W. (1999)

Schnellanalytik, Schätz- und Messmethoden

Kulmbacher Reihe **16**, 1-12

ARNETH, W. (1999)

Beispiele chemischer Schnellmethoden

Kulmbacher Reihe **16**, 65-81

ARNETH, W. (2001)

Beispiele physikalisch-chemischer Schnellmethoden zur Fett- und Wasseranalyse

Fleischwirtschaft **81**, 75-77

ARNETH, W. (2004)

Die ernährungsphysiologische Bedeutung von Fleisch

Mitteilungsblatt der Fleischforschung Kulmbach **163**; 51-62

ARNETH, W.; HEROLD, B.; DOBROWOLSKI, A.; MÜNCH, S. (2004)

Eine neue Methode zur Berechnung des Wasserzusatzes in einem Fleischerzeugnis auf der Grundlage des Fettgehalts

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach Nr. **166**, 343-353

B

BARKER, P.J. und KOCH, A. (1995)

Niedrigauflösende Kernspinresonanzspektrometrie

In: BALTES, W. (Herausgeber):

Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen, 2. Auflage, 335– 375

Behr`s Verlag, Hamburg

BAUMGART, J. (1996)

Schnellmethoden und Automatisierung in der Lebensmittelmikrobiologie

Fleischwirtschaft **76**, 124-130

BAUMGART, J. (2000)

Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln, 4. Auflage

Behr`s Verlag, Hamburg

BELITZ, H.-D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. (2001)

Lehrbuch der Lebensmittelchemie, 5. Auflage

Springer-Verlag, Heidelberg, Berlin, New York

BERG, H. und KOLAR, K. (1991)

Rapid Method: Evaluation of Rapid Moisture, Fat, Protein and Hydroxyprolin Determination in Beef and Pork Using the Infratec Food and Feed Analyzer
Fleischwirtschaft **71**, 787-789

BIESALSKI, H.K. und GRIMM, P. (2004)

Taschenatlas der Ernährung, 3. Auflage
Georg Thieme Verlag, Stuttgart

BINKE, R. (2003)

Vom Muskel zum Fleisch
In: Chemie des Lebensmittel Fleisch
Kulmbacher Reihe **18**,57-69

BRANSCHIED, W. (1998)

Produktion, Verbrauch und Vermarktung von Fleisch
In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K
(1998): Qualität von Fleisch und Fleischwaren, Band 1, 11
Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

BRØNDUM, J.; MUNCK, L.; HENCKEL, P.; KARLSSON, A.; TORNBERG; E.;
ENGELSEN, S. B. (2000)

Prediction of Water-Holding Capacity and Composition of Porcine Meat by Comparative Spectroscopy
Meat Science **55**, 177-185

BRØNDUM, J. (2000)

Online Evaluation of Meat Quality using Multivariate Data Techniques

Department of Dairy and Food Science, Royal Veterinary and Agricultural University, Frederiksberg, Dänemark

BÜNING-PFAUE, H und URBAN, C. (1995)

Untersuchung von Fleischerzeugnissen mittels NIR-Spektrometrie und deren Leistungsparameter

GIT-Laborzeitschrift **39**, 775-782

BÜNING-PFAUE, H. (2003)

Analysis of Water in Food by Near Infrared Spectroscopy

Food Chemistry **82**, 107-115

BÜNING-PFAUE, H. (2004)

Nahe-Infrarot-spektroskopische Analysen

In: BALTES, W. und KROH, L. W. (2004): Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen, 3. Auflage, 207-216

Behr's Verlag, Hamburg

C

CHRISTENSEN, L.B. (2004)

Microwave Detection

In: Understanding Food, 73-77

New Food **7** (2)

COLQUHOUN, I.J. und GOODFELLOW; B.J. (1994)

Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy

In: WILSON; R. (1994): Spectroscopic Techniques for Food Analysis

VCH- Verlag, New York

COZZOLINO, D. und MURRAY, I. (2002)

Effect of Sample Presentation and Animal Muscle Species on the Analysis of Meat by Near Infrared Reflectance Spectroscopy

Journal of Near Infrared Spectroscopy **10**, 37-44

D

DAVENEL, A.; MARCHAL, P.; RIAUBLANC, A.; GANDEMER, G. (1999)

Magnetic Resonance Mapping of Solid Fat Content of Adipose Tissues in Meat

In: BELTON, P.S.; HILLS, B.P.; WEBB, G.A. (1999): Advances in Magnetic Resonance in Food Science

Proceedings of the Second International Conference on Applications of Magnetic Resonance in Food Science, 7-9 Sept. 1998, Norwich, UK

Royal Society of Chemistry, Cambridge, 272-279

DAVEY, C.L.; GILBERT, K.V.; CARSE, W.A. (1976)

Carcass Electrical Stimulation to Prevent Cold Shortening Toughness in Beef

New Zealand Journal of Agricultural Research **19**, 13-18

DEISS-HEMMETER, U. (2005)

Prüfung der Effektivität der Elektrostimulation auf die Fleischqualität bei Schlachtschweinen

Dissertation med.vet., Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs, München 2005

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG e.V., Bonn (2005)

Referenzwerte für die Proteinzufuhr

<http://www.dge.de/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=3&page=9>

(Zugriff am 12.04.2005)

DEUTSCHE GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG e.V., Bonn (2004)

Nährstoffversorgung, Ernährungsbericht der Deutschen Gesellschaft für Ernährung e.V. (DGE) 2004, 62-64

MedienHaus Plump, Rheinbreitbach

DRANSFIELD; E. (1994)

Tenderness of meat, poultry and fish

In: PEARSON, A.M. and DUTSON, T.R. (1994): Quality Attributes and their Measurements in Meat, Poultry and Fish Products

Blackie Academic and Professional (Chapman and Hall), London, 289-315

E

EICHINGER, H. und BECK, G. (1992)

Possibilities for Improving Breeding Value Estimation of Meat Quality in Cattle by Using the Near-Infrared Measurement Technique

Archiv für Tierzucht **35**, 41-50

ELLERBROEK, L. (2005)

Zur Prozesskontrolle bei der hygienischen Gewinnung von Geflügelfleisch

Habilitationsschrift

München 2005

ELMADFA, I. und LEITZMANN, C. (1998)

Ernährung des Menschen

UTB Verlag, Stuttgart

F

FAUHL; C und WITTKOWSKI, R. (2004)

In: BALTES, W. und KROH, L. W. (2004): Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen, 3.Auflage, 229-250

Behr's Verlag, Hamburg

FOSS (2005)

Technical specifications

In: Product presentation: FoodScan™ Meat Analyser

<http://www.foss.dk/c/p/default.asp> (Zugriff 15.04.2005)

FREUDENREICH, P. (1992)

Transmissionsmessungen im Nah-Infrarot-Bereich zur Bestimmung einzelner Fleischqualitätskriterien

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung **31**, Nr. 116, 235-243

FREUDENREICH, P. (1993)

Zur Praktikabilität der NIT-Schnellanalytik von Merkmalen der Fleischqualität

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach **32**, 238-247

FREUDENREICH, P.; LAUTENSCHLÄGER, R.; RÖDEL, W. (1996)

Zuverlässigkeit der Schnellanalytik von Fleisch und Fleischwaren

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach **35**, 136-142

FREUDENREICH, P. (1998)

Schnellanalytik von Hähnchenfleisch

Jahresbericht der Bundesanstalt für Fleischforschung 1998, 5-7

<http://www.bfa-fleisch.de/JBBAFF98FORM/DDD/JAHRESBERICHTBAFF1998FLEISCH.pdf> (Zugriff 13.05.2005)

FREUDENREICH, P. (1999)

Bedeutung der NIT-Schnellanalytik im Qualitätsmanagement

Kulmbacher Reihe **18**, 25-47

FREUDENREICH, P. und WAGNER, E. (1996)

Analysis of Meat Products (Frankfurter Sausages) by NIT-Spectrometry

In: Meat for the Consumer

42nd International Congress of Meat Science and Technology, 1-6 Sept. 1996, Lillehammer, Norwegen

FRIEBOLIN, H. (1999)

Ein- und zweidimensionale NMR-Spektroskopie: Eine Einführung, 3. Auflage

Wiley-VCH Verlag, Weinheim

FUCHS, H. und FUCHS, M. (1989)

Qualitätsfleisch aus dem Fachhandel – Zerlegung und Herrichtung der vier klassischen Fleischarten, 1.Auflage

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

G

GUNASEKARAN, S. und IRUDAYARAJ, J. (2001)

Optical Methods: Visible, NIR and FTIR Spectroscopy

In: GUNASEKARAN, J. (2001): Nondestructive Food Evaluation, Techniques to Analyze Properties and Quality

Marcel Dekker, New York

H

HAAS, U. (1988):

Die magnetische Kernresonanz

In: Physik für Mediziner und Pharmazeuten, 435 –455

Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart

HACK, K.H.; STAFFE, E.; GERHARDT; U. (1976)

GEHA-Verarbeitungsmaterial

Atlas für die Fleisch- und Wurstwarenproduktion

Firma Gewürzmüller, Stuttgart

HILSE, G. (1996)

Funktion und Zukunft der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse

In: STIEBING, A.; BARCIAGA, J.; KRELL, U.M.(1996): Handbuch Fleisch und Fleischwaren, Band 1, Kap.1.4,1-13

Behr`s Verlag

HOFMANN, K. (1986)

Ist Fleischqualität messbar?

Kulmbacher Reihe 6, 1-17

HOFMANN, K (1986)

Der pH-Wert – ein Qualitätskriterium für Fleisch

Kulmbacher Reihe 6, 134-155

HOFMANN, K. (1998)

Der Qualitätsbegriff bei Fleisch

In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K
(1998): Qualität von Fleisch und Fleischwaren, Band 1, 91-96

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

HONIKEL, K.-O (1986 a)

Chemisch-Physikalische Merkmale der Fleischqualität

Kulmbacher Reihe **6**, 20- 23

HONIKEL, K.-O. (1995)

Inhaltsstoffe von Fleisch und Fleischwaren

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung Kulmbach **34**, 373-384

HONIKEL, K.-O. (1996)

Chemische und strukturelle Veränderungen nach dem Schlachten

In: STIEBING, A.; BARCIAGA, J.; KRELL, U.M.(1996): Handbuch Fleisch und
Fleischwaren, Band 1, Kap.3

Behr`s Verlag, Hamburg

HONIKEL K.-O. (1998)

Physikalische Messmethoden zur Erfassung der Fleischqualität

In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K
(1998): Qualität von Fleisch und Fleischwaren, Band 2, 696–721

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

HONIKEL, K.-O. und SCHWÄGELE, F. (1998)

Biochemische Prozesse der Fleischbildung

In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K
(1998): Qualität von Fleisch und Fleischwaren, Band 2, 553-615

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

HONIKEL, K.-O. (1999)

Schnellanalytik, Schätz- und Messmethoden – Eine Einführung

Kulmbacher Reihe **16**, 1-11

I/J

JAHREIS, G. (2004)

Konjugierte Linolsäuren und ihre Bedeutung unter besonderer Berücksichtigung
der Fleischlipide

Kurzfassung, Informationsdienst Fleisch aus Deutschland der CMA, Ausgabe 08-
2004

JIRA, W. (2004)

Chemische Vorgänge beim Pökeln und Räuchern, 27-38

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung **43**, Nr. 163

JØNS, J. (2004)

ANN-Kalibration von FOSS für Fleisch – Der Weg zu kosteneffektiven Analysen

In Focus **28**, Dt. Ausgabe 1-2004/2005, 13-14

K

KOOLMAN, J.; RÖHM, K.-H. (1998)

Taschenatlas der Biochemie, 2. Auflage

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

KRELL, K. (1996)

Das gemeinschaftliche Lebensmittelrecht

In: STIEBING, A.; BARCIAGA, J.; KRELL, U.M.(1996): Handbuch Fleisch und Fleischwaren, Band 1, Kap. , Kap. 1.5,1-25

Behr`s Verlag, Hamburg

KROH, L.W. (1995)

Infrarotspektroskopie von Lebensmitteln

In: BALTES, W. (Herausgeber): Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen

Behr`s Verlag, Hamburg

KÜNST, R. (2005)

Umfassende Lebensmittelsicherheit vom Stall bis auf den Teller

Pressemitteilung des BmVEL, 07.09.2005

L

LAWRIE, R.A. (1991)

Meat Science, 5th edition, 1

Pergamon Press, Oxford

M

MADLUNG, W. (2000)

Vorwort des Vorsitzenden der Deutschen Lebensmittelbuch- Kommission

Deutsches Lebensmittelbuch (2000)

Bundesanzeiger Verlagsgesellschaft, Köln, 7-8

MATISSEK, R. (2004)

In: BALTES, W. und KROH, L.W. (2004): Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und ihren Rohstoffen, 3. Auflage, 1-23

Behr`s Verlag, Hamburg

McCLURE, W.F. (1994)

Near-Infrared Spectroscopy

In: WILSON, R. (1994): Spectroscopy Techniques for Food Analysis

VCH- Verlag, New York

MIKAMI, M.; SEKIKAWA, M.; MIURA, H. (1993)

Peptide and Free Amino Acid Content of Electrically Stimulated Beef

Meat Focus International **2**, 537-539

MIN, D. und BOFF, J. (2003)

Crude Fat Analysis

In: NIELSEN, S. (2003): Food Analysis, 3^d.edition

Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York

MIRNA, A. (1986)

Chemische Vorgänge beim Pökeln von Fleisch

Kulmbacher Reihe **2**, 106-117

N

NICKEL, R.; SCHUMMER, A.; SEIFERLE, E. (1987)

Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, 6. Auflage

Bewegungsapparat, Band 1

Paul Parey Verlag, Berlin und Hamburg

NIELSEN, P (2001)

Die Bedeutung einer ausgewogenen Ernährung für die Eisenversorgung des Menschen, 4-5

Informationsdienst Fleisch aus Deutschland der CMA, Ausgabe 10-2001

P/Q

PETERS, H. und SIELAFF, H. (1996)

Chemisch-physikalische, sensorische und funktionelle Eigenschaften

In: SIELAFF, H. (1996): Fleischtechnologie, 133-166

Behr's Verlag, Hamburg

POTTHAST, K. (1986)

Fleischfarbe, Farbstabilität und Umrötung

Kulmbacher Reihe **6**, 89-110

PRÄNDL, O.; FISCHER, A.; SINELL, H.J. (1998):

Fleisch- Technologie, Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung

Eugen- Ulmer Verlag, Stuttgart

R

RADTKE, G.; KNOP, K.; LIPPOLD, B. (1999)

Near Infrared (NIR) Spectroscopy - Fundamentals and Application from a Pharmaceutical Point of View.

Pharm. Ind. 1999; **61** (9): 848-857.

RISTIC, M. und FREUDENREICH, P. (2000)

NIT-Schnellanalytik - dargestellt am Beispiel des Geflügelfleisches

Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung, Nr. 147-551

ROGER RUAN, R. und CHEN, P. (2001)

Nuclear Magnetic Resonance Techniques and Their Application in Food Quality Analysis

In: GUNASEKARAN, J. (2001): Nondestructive Food Evaluation, Techniques to Analyze Properties and Quality

Marcel Dekker, New York, 165-215

ROGOWSKI, B. (1981)

Die ernährungsphysiologische Bedeutung von Fleisch und Fett

Kulmbacher Reihe **2**, 45

S

SALVETTI, F und BÜHRER, E.M. (1988)

Der Metzger, 1. Deutsche Auflage

Callwey-Verlag, München, 92

SCHEUNERT, A. und TRAUTMANN, A. (1987)

Lehrbuch der Veterinärphysiologie, 7.Auflage

Verlag Paul Parey; Berlin und Hamburg, 656- 657

SCHMIDT-LIEB, W. (1983)

Vom Tier zum Fleisch zur Wurst, 20- 26

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

SCHOLZ; H. (1996)

Mineralstoffe und Spurenelemente, 4. Auflage

Trias, Thieme-Verlagsgruppe, Stuttgart

SCHWÄGELE, F. (2003)

Struktur und Funktion des Muskels

In: Chemie des Lebensmittel Fleisch

Kulmbacher Reihe **18**, 39-56

SCHWEDT, G. (1996)

Taschenatlas der Analytik, 2. Auflage

Georg Thieme Verlag, Stuttgart

SCHWEDT, G. (2005)

Taschenatlas der Lebensmittelchemie, 2. Auflage

Wiley-VCH, Weinheim

SEIDLER, D. (1996)

Fleischgewinnung / Frischfleisch

In: SINELL, H.-J. und MEYER, H. (1996): HACCP in der Praxis, 207-208

Behr's Verlag, Hamburg

SEUSS-BAUM, I.(1998)

Ernährungsphysiologische Bedeutung von Fleisch und Fleischerzeugnissen

In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K (1998): Qualität von Fleisch und Fleischwaren, Band 2, 617-635

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

SØRLAND, G. H.; LARSEN, P. M.; LUNDBY, F.; RUDI, A.-P.; GUIHENEUF, T. (2004)

Determination of Total Fat and Moisture Content in Meat using Low Field NMR

Meat Science **66**, 534-550

SOUCI, S.W.; FACHMANN, W.; KRAUT, H. (2000)

Die Zusammensetzung der Lebensmittel - Nährwert-Tabellen

Medpharm - Verlag, CRC Press, Stuttgart

STOLLE, A. und REUTER, G. (1981)

Kriterien zur Erkennung unzulässig gewonnen Schweinefleischs

Fleischwirtschaft **61**, 1-6

STOLLE, A. (2004)

Persönliche Mitteilung, Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs, LMU München, 16.03.2004

STCHUR, P.; CLEVELAND, D.; ZHOU, J.; MICHEL, R. G. (2002)

A Review of Recent Applications of Near Infrared Spectroscopy and of the Characteristics of a Novel PbS CCD Array-Based NIR Spectrometer

Applied Spectroscopy Reviews **37** (4), 383-428

STRYER, L. (1991)

Biochemie, 4. Auflage

Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, New York

STUART, B. (2004)

Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications, 1.edition

John Wiley & Sons, Ltd, UK

SWATLAND, H.J. (1995)

Connective Tissue Fluorescence

In: SWATLAND, H.J. (1995): On-Line Evaluation of Meat, 229-257

Technomic Publishing CO., INC; Lancaster (USA), Basel

SWATLAND, H. J. (1997)

Relationships between the Back-Scatter of Polarise Light and the Fibre-Optic Detection of Connective Tissue Fluorescence in Beef

Journal of the Science of Food and Agriculture 75, 1, 45-49

SWATLAND, H. J. (1998)

Recognition of Spectra in the Automated Assessment of Pork Quality through Single Optical Fibres

Food Research International **31**, 65-71.

I

TATSUMI, R. und TAKAHASHI, K. (2003)

Structural Changes in Titin and Nebulin Filaments Specific to Calcium Ions at 0.1 mM: Factors of Meat Tenderization during Postmortem Aging

Journal of Food Science **68** (3), 756-760

TERNES, W. und QUINT, A. W. (2002)

Lebensmittelrecht für Lebensmitteltechnologien

Behr's Verlag, Hamburg

TIELMANN, J. (1992)

Fat Determination in Fresh Meat

Fleischwirtschaft **72**, (5), 756-757

TØGERSEN, G.; ARNESEN, J.F.; NILSEN, B.N.; BAKKER, E.A.; HILDRUM, K.I.
(2003)

On-line Prediction of Chemical Composition of Semi-Frozen Beef by Noninvasive
NIR Spectroscopy
Meat Science 63, 515-523

U

URBAN, C. (1996)

Untersuchungen zur Anwendbarkeit der NIR-Spektrometrie für die Analyse von
Lebensmitteln am Beispiel von Fleischerzeugnissen und zubereiteten Mahlzeiten
Dissertation rer.nat., Bonn

V

VOET, D. und VOET, J. (1992)

Biochemie, 1. Ausgabe
VCH Verlag, Weinheim

W

WARRIS, P.D. (2000)

Meat Science – An Introductory Text (2000)
CABI Publishing (CAB International), Oxon, New York

WEBER, H. (2004)

Zutaten bei der Verarbeitung - Wirkung und Wirkungsweisen, 11- 26
Mitteilungsblatt der Bundesanstalt für Fleischforschung **43**, Nr.163

WHO (2004)

Nutrient Values Intake

In: Food and Health in Europe: A New Basis for Action (2004)
WHO Regional Publications, European Series **96**, Annex 2, 344

WICKE, M.; MAAK, S.; LENGERKEN, G.v.; REHFELD, C. (1998)

Anatomisch-physiologische Grundlagen der Fleischqualität

In: BRANSCHIED, W., HONIKEL, K.- O., LENGERKEN, G. v., TROEGER, K
(1998): Qualität von Fleisch und Fleischwaren, Band 2, 555-591

Deutscher Fachverlag, Frankfurt am Main

WOLD, J. P. S. (2000)

Rapid Quality Assessment of Meat and Fish by Using Near Infrared Spectroscopy,
Autofluorescence Spectroscopy and Image Analysis

Habilitationsschrift

Agricultural University of Norway, As, Norwegen, 2000

WOLFRAM, G. (2003)

Vortrag der Deutschen Gesellschaft für Ernährungsbiologie, gehalten am Institut
für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs, München,
2003

Z

ZIOLKO, T. (2001)

Sample Preparation of Foods and Animal Feeds for NIR-Spectroscopy

Nutrition, 10 / 2001

N.N.

N.N. (1999)

Roche Medizin-Lexikon, 4. Auflager

Urban und Fischer, München, Stuttgart

N.N. (2000 A)

DUDEN - Das Große Buch der Deutschen Sprache (2000)

Duden-Verlag, Bibliographisches Institut und F. A. Brockhaus AG, Mannheim

N.N. (2000 B)

In: WIESNER; E. und RIBBEK, R. (Hrsg.)

Lexikon der Veterinärmedizin, 4. Auflage

Enke im Hippokratesverlag, Stuttgart

N.N. (2003)

Fleischkonsum

Geschäftsbericht des Deutschen Fleischer-Verbands (DFV) 2002/2003

www.fleischerhandwerk.de/presse/medien2003/gbericht/fleischverzehr.pdf

(Zugriff 24.02.2005)

N.N. (2004 A)

BAYERISCHES LANDESUNTERSUCHUNGSAMT FÜR GESUNDHEIT UND
LEBENSMITTELSICHERHEIT (LGL) (2004)

Lebensmittel-Beanstandungen, Warencodes und Rechtsgrundlagen

In. Jahresbericht des LGL

www.lgl.bayern.de/de/left/fachinformation/lebensmittel/warencodes_docs/lebensmittel_tab_2004.pdf (Zugriff am 25.07.05)

N.N. (2004 B)

Anschaffungskosten eines QuickFat Analyser® NMR-Spektroskop

Persönliche Mitteilung, Telefongespräch mit D. Cross, Vetriebsleiter Rototec Spintec GmbH, 13.07.2004

Gesetze, Verordnungen und Richtlinien sowie Amtliche Untersuchungsverfahren

VO (EG) 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

VO (EG) 882/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz

VO (EG) 852/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April

2004 über Lebensmittelhygiene

VO (EG) 853/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit spezifischen Hygienevorschriften für Lebensmittel tierischen Ursprungs

VO (EG) 854/2004 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 29. April 2004 mit besonderen Verfahrensvorschriften für die amtliche Überwachung von zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs

Verordnung zum Schutz von Tieren im Zusammenhang mit der Schlachtung oder Tötung vom 03.03.1997 (BGBl. I S. 405), zuletzt geändert durch VO vom 04.02.2004 (BGBl. I S. 214) (Tierschutz-Schlachtverordnung – TierSchIV)

Verordnung über die hygienischen Anforderungen und amtlichen Untersuchungen beim Verkehr mit Fleisch (Fleischhygiene-Verordnung – FIHV) in der Fassung vom 29.06.2001 (BGBl. I S. 1366) zuletzt geändert durch Art. 1 a VO vom 07.03.2005 (BGBl. I S. 667)

Richtlinie 2004/41/EG des Europäischen Parlaments und des Rates vom 21. April 2004 zur Aufhebung bestimmter Richtlinien über Lebensmittelhygiene und Hygienevorschriften für die Herstellung und das In-Verkehr-Bringen von bestimmten, zum menschlichen Verzehr bestimmten Erzeugnissen tierischen Ursprungs sowie zur Änderung der Richtlinien 89/662/EWG und 92/118/EWG des Rates und der Entscheidung 95/408/EG

Gesetz zur Neuordnung des Lebensmittel- und des Futtermittelrechts vom 06.09.2005, BGBl. I S 2618, in Kraft getreten am 07.09.2005 (inkl. LFGB)

Gesetz zur Neuordnung und Bereinigung des Rechts im Verkehr mit Lebensmitteln, Tabakerzeugnisse, kosmetischen Mitteln und sonstigen Bedarfgegenständen (Gesetz zur Gesamtreform des Lebensmittelrechts) vom 15.08.1974

Deutsches Lebensmittelbuch (2003)

Verkehrsbezeichnung, Qualität und Zusammensetzung

Bundesanzeiger Verlagsgesellschaft, Köln

Leitsätze des Deutschen Lebensmittelbuch (2003)

Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse

i. d. Fassung vom 27./28. November 1974 (Bek. V. 20.6.1975 GMBI S. 489)

zuletzt geändert durch Änderungsbekanntgabe vom 18.10.2001 (GMBI S. 489)

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (1980)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-1:

Vorbereitung von Fleisch und Fleischerzeugnissen zur chemischen Untersuchung

Beuth Verlag

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (1980)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-3:

Bestimmung der Trockenmasse in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Beuth Verlag

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (1980)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-4:

Bestimmung der Asche in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Beuth Verlag

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (1980)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-6:

Bestimmung des Gesamtfettgehalts in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Beuth Verlag

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (1980)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-7:

Bestimmung des Rohproteingehalts in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Beuth Verlag

Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (1980)

Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-8:

Bestimmung des Hydroxyprolinegehalts in Fleisch und Fleischerzeugnissen

Beuth Verlag

Sonstige

Resonance Instruments Ltd., www.resonance-instruments.com

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Gehalte an Protein, Fett und Wasser / 100g in ausgewählten Teilstücken (SOUCI ET AL. 2000)..... 28

Tabelle 2: Natrium-, Kalium- Calcium und Eisengehalt von Fleisch und Fleischerzeugnissen pro 100g (SOUCI ET AL., 2000) 32

Tabelle 3: Biologische Wertigkeit von ausgewählten Lebensmitteln (modifiziert nach SEUSS-BAUM, 1998; ELMADFA UND LEITZMANN, 1998)..... 34

Tabelle 4: Schnellmethoden der substantiellen Fleischanalytik (MATISSEK, 2004; ARNETH 1999) 54

Tabelle 5: Wellenlängen des Infrarot-Bereichs (HAAS, 1998; GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001) 65

Tabelle 6: Wichtige funktionelle Gruppen von Fleischbestandteilen, Grundswingungen und Anregungswellenlängen (GUNASEKARAN UND IRUDAYARAJ, 2001) 68

Tabelle 7: NIR-Absorptionspeaks von Wasser, Fett, Protein und Bindegewebe 73

Tabelle 8: Einsatzgebiete quantitativer niedrigauflösender NMR-Spektroskopie (modifiziert nach BARKER UND KOCH, 1995)..... 77

Tabelle 9: Reflektion und Fluoreszenz relativ zum Weiß-Standard von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), grob zerkleinert, (MW = Mittelwert) 94

Tabelle 10: Reflektion und Fluoreszenz relativ zum Weiß – Standard) von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), homogenisiert, 95

Tabelle 11: Irrtumswahrscheinlichkeit p und ihre Bedeutung für die Signifikanz 107

Tabelle 12: Beschreibungsstufen der Stärke des Korrelationskoeffizienten .107

Tabelle 13:	Korrelationskoeffizienten nach Pearson.....	108
Tabelle 14:	Korrelationskoeffizienten nach Pearson, gegliedert nach Probenmaterial (Rind, Schwein und Halb/Halb).....	108
Tabelle 15:	Fett- und Wassergehalte in %, ermittelt durch NMR-Spektroskopie	136
Tabelle 16:	Wasser-, Fett-, Rohprotein- und BEFFE-Gehalte in %, ermittelt durch NIR-Spektroskopie	138
Tabelle 17:	Wasser-, Asche-, Fett-, Rohprotein-, Bindegewebe- und BEFFE-Gehalte in %, ermittelt durch nasschemische Analyse.....	140

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1:	Schema der Rinder- und Schweineschlachtung, modifiziert nach SEIDLER (1996)	44
Abbildung 2:	Wellenlängen und Energiegehalte elektromagnetischer Strahlung nach CHRISTENSEN (2004)	64
Abbildung 3:	Graphische Darstellung der Reflektionsintensität von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), grob zerkleinert, relativ zum Weiß-Standard .	90
Abbildung 4:	Graphische Darstellung der Reflektionsintensität von Probe Nr. 37 (Schweinefleisch), homogenisiert, relativ zum Weiß-Standard ...	90
Abbildung 5:	Mittelwerte des Wassergehalts für Probenmaterial Rind.....	97
Abbildung 6:	Mittelwerte des Wassergehalts für Probenmaterial Schwein	98
Abbildung 7:	Mittelwerte des Wassergehalts für Probenmaterial Halb/Halb	98
Abbildung 8:	Mittelwerte des Fettgehalts für Probenmaterial Rind	99
Abbildung 9:	Mittelwerte des Fettgehalts für Probenmaterial Schwein	100
Abbildung 10:	Mittelwerte des Fettgehalts für Probenmaterial Halb/Halb	100
Abbildung 11:	Mittelwerte des Rohproteingehalts für Probenmaterial Rind	102
Abbildung 12:	Mittelwerte des Rohproteingehalts für Probenmaterial Schwein	103
Abbildung 13:	Mittelwerte des Rohproteins für Probenmaterial Halb/Halb.....	103
Abbildung 14:	Mittelwerte des BEFFE- Gehaltes für Probenmaterial Rind	104
Abbildung 15:	Mittelwerte des BEFFE- Gehalts für Probenmaterial Schwein ...	105
Abbildung 16:	Mittelwerte des BEFFE- Gehalts für Probenmaterial Halb/Halb.	105
Abbildung 17:	Streuung der Wassergehalte aus NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation r= 0,993	110

Abbildung 18: Streuung der Wassergehalte aus NMR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 30), Korrelation $r = 0,998$111

Abbildung 19: Streuung der Fettgehalte aus der NIR – Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,974$112

Abbildung 20: Streuung der Fettgehalte aus NMR – Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 30), Korrelation $r = 0,998$ 113

Abbildung 21: Streuung der Rohproteingehalte aus NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,949$114

Abbildung 22: Streuung der BEFFE- Gehalte aus der NIR-Spektroskopie um die Werte der Nasschemie (n = 54), Korrelation $r = 0,954$115

DANKSAGUNG

Mein besonderer Dank gilt

Herrn Univ.- Prof. Dr. Dr. h.c. A. Stolle für die großzügige Unterstützung bei der Bearbeitung des Themas, die Bereitstellung des Arbeitsplatzes, seine immer freundliche Beratung und motivierenden Worte,

Frau Dr. S. Forster für ihre in allen Fragen kompetente und unermüdliche Betreuung,

allen Mitarbeitern des Institutes für die stets liebenswürdige und hilfsbereite Zusammenarbeit, allen voran den „Rettern in der Not“, Frau Dr. B. Sperner und Herrn Dr. M. Bucher, für ihre außergewöhnliche Hilfsbereitschaft in besonderen Lagen,

Frau M. Freitag und Herrn H. Ziemann für die geduldige Einarbeitung und versierte Hilfestellung in allen nasschemischen Belangen,

Herrn Dr. Danz und Herrn Buss für ihre Unterstützung bei der praktischen Durchführung der optischen Messungen und für die flexible Bereitstellung ihres Labors,

der Firma Resonance Instruments Ltd., GB und allen ihren Mitarbeitern für die großzügige und entgegenkommene Durchführung der NMR-spektroskopischen Analysen

Herrn D. Cross für die rasche und unkomplizierte Lösung logistischer Probleme,

allen, die durch ihren geistigen und materiellen Beistand diese Arbeit und mein Studium ermöglicht haben.

LEBENS LAUF

Persönliche Daten:

Name: Sybille Christina Hohenester
Geburtsdatum: 05.07.1976
Geburtsort: Altötting
Eltern: Ilse Hohenester (geb. Baumann)
Dr. Hermann Hohenester

Schulbildung:

1982-1986 Grundschule Burgkirchen / Alz
1986-1995 Gymnasium der Englischen Fräulein, Altötting
1995 Allgemeine Hochschulreife

Studium:

1997 Studium der Pharmazie an der LMU München
1997-2003 Studium der Veterinärmedizin an der LMU München
1998 Vorphysikum
1999 Physikum
09.09.2003 Staatsexamen
04.11.2003 Approbation

Beruf:

seit November 2003 Doktorandin am Institut für Hygiene und Technologie
der Lebensmittel tierischen Ursprungs, LMU München
seit Februar 2005 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am o.g. Institut