

# Proteinzusätze – histologisches Erscheinungsbild und rechtliche Aspekte

Untersuchung von Fleischerzeugnissen zum Nachweis von tierischen und pflanzlichen Eiweißen

Von Birgit Beneke, Tanja Grünewald, Regina Seideneck und Matthias Upmann

Proteine können aufgrund ihrer besonderen Molekülstruktur in Lebensmitteln unter anderem zur Textur- und Gelbildung, zur Emulgierung und zur Wasser-, Fett-, Aromabindung eingesetzt werden. Für Fleischprodukte kommen Einsatzbereiche wie das Zusammenfügen von kleinstückigem Fleisch zu größeren Einheiten (z.B. einheitliche Fleischportionen für die Gastronomie) und das Färben (z.B. Patties für die Burgerherstellung, Rohwurst) hinzu. Proteine oder deren Spaltprodukte können zudem – z.B. in Form von Speisewürzen – zur Beeinflussung des Geschmacksprofils Verwendung finden. Generell ist der Einsatz tierischer und pflanzlicher Proteine in Fleischprodukten möglich, es bedarf jedoch der Kennzeichnung. Dabei werden Eiweiße, die nicht von geschlachteten, warmblütigen Tieren stammen, als „Fremdeiweiß“ bezeichnet. Zur Überprüfung der Kennzeichnungspflicht ist die Etablierung geeigneter Analysemethoden notwendig. Die bisher entwickelten chemischen Methoden sind für einen routinemäßigen Einsatz zum Teil zu aufwändig. Mit dem vorliegenden Beitrag werden daher die Erscheinungsbilder verschiedener Eiweiße bei der histologischen Routineanalytik von Fleischerzeugnissen vorgestellt. Sie umfassen histologische Befunde von Fleischerzeugnissen mit kenntlich gemachten Fremdeiweißen, von Produkten mit Verdacht auf den Zusatz fremder Eiweiße und von Produkten mit bekannter Zusammensetzung. Zudem wird der aktuelle Stand der rechtlichen Bewertung dargestellt.

## Zusammensetzung und Funktion von Eiweißzusätzen

Als Lebensmittelkomponenten besitzen Proteine nutritive und funktionelle Eigenschaften. Aufgrund ihrer besonderen Molekülstruktur werden sie nach WESTPHAL et al. (2003) genutzt, um gewünschte Veränderungen von Lebensmitteln herbeizuführen: Sie tragen in Lebensmitteln zur Strukturbildung (Textur) bei, sind Ausgangsstoffe für die Geruchs-, Geschmacks- und Farbbildung und werden zur Gel-, Emulsions- und Schaumbildung genutzt.

In der Praxis werden Proteine unterschiedlicher Herkunft verwendet. Dabei wird nach Ziffer I. Nr. 1.75 der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse (2019) „Eiweiß, das nicht von geschlachteten oder erlegten warmblütigen Tieren ... stammt (z.B. Eiklar, Milcheiweiß, Fischeiweiß, Sojaeiweiß, Weizeneiweiß)“ unter dem Begriff „Fremdeiweiß“ zusammengefasst. Trockenprodukte tierischer Herkunft wie Fleisch- und Schwanpulver, Trockenblutplasma, Fischeiweiß-Isolate und Speisegelatine werden dem Fremdeiweiß gleichgestellt.

Als Rohstoffe tierischer Herkunft können z.B. Blut (Plasmaproteine, Hämoglobinpräparate), Schwan, kollagenes Bindegewebe und Nebenprodukte der Schlachtung dienen. Produkte pflanzlicher Herkunft werden aus Soja, Weizen und Erbsen, aber auch aus anderen Leguminosen und „exotischeren“ Ausgangsstoffen wie Reis, Bambus oder Pilzkulturen gewonnen. Als Eiweißzubereitungen auf pflanzlicher Basis sind neben strukturiertem pflanzlichem Protein (*textured vegetable protein* oder TVP) auch sogenannte Mehle, Konzentrate, Isolate oder Hydrolysate in Verkehr. Bei diesen Varianten handelt es sich um Pulver mit unterschiedlichen Proteingehalten, die aus dem entsprechenden Pflanzenmehl durch diverse Extraktions- und Filtrationsverfahren gewonnen werden oder die u.a. als Nebenprodukt in der Stärkeindustrie anfallen. Originäres Soja-

## SCHLÜSSELWÖRTER

- » Fleischerzeugnisse
- » Fremdeiweiß
- » Tierische und pflanzliche Eiweißpräparate
- » Histologischer Nachweis
- » Lebensmittelrechtliche Beurteilung

mehl beispielsweise weist einen Proteinanteil von etwa 40 bis 60% auf. Durch diverse Extraktions- und Filtrationsvorgänge erhält Sojaprotein-Konzentrat bereits einen Proteinanteil von etwa 70 bis 80%; Sojaprotein-Isolat schließlich ist mit mindestens 90% Proteinanteil und sehr geringem Kohlenhydratanteil (etwa 1 bis 3%) hochwertiger als ein Konzentrat.

Durch hydrolytische Spaltung von Proteinen unter anderem durch Erhitzen, meist im sauren pH-Bereich, durch enzymatische Spaltung oder

## Eigenschaften

### Beispiele funktioneller Eigenschaften von Proteinen für die Fleischwirtschaft

Examples of functional properties of proteins for the meat industry

Proteinhaltiges Lebensmittel	Genutzte funktionelle Eigenschaften
Fleisch und Fleischwaren, Wurst	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Gelbildung</li> <li>■ Emulgieraktivität, Emulsionskapazität, -stabilität</li> <li>■ Texturbildung, Elastizität</li> <li>■ Kohäsion, Adhäsion</li> <li>■ Viskosität</li> <li>■ Wasser-, Fett-, Aromabindung</li> </ul>
Fleischsubstitute, Fleischimitate	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Kohäsion, Adhäsion</li> <li>■ Texturierung</li> <li>■ Fett- und Flavorbildung</li> </ul>

Quelle: nach WESTPHAL et al. (2003)

FLEISCHWIRTSCHAFT 8\_2019

durch Fermentation entstehen Hydrolysate oder Teilhydrolysate; dadurch wird die Bioverfügbarkeit der Proteine sowie deren Gesamtgehalt erhöht (GRÜNEWALD, 2019).

Proteine und Hydrolysate, die aus anfallenden Nebenstoffströmen der Lebensmittelindustrie gewonnen werden, sind preiswert, verfügen häufig über ein hohes Wasserbindungsvermögen und können zu einer Verbesserung der sensorischen Eigenschaften von Fleisch und Fleischerzeugnissen eingesetzt werden. Zu diesem Zweck genutzte funktionelle Eigenschaften von Proteinzusätzen sind in der Tabelle aufgeführt.

Derartige Eiweiße werden weltweit vermarktet und können als Bestandteil von Kombi-Würzpräparaten, Kutterhilfsmitteln o.ä. zum Einsatz kommen. Unter Umständen werden sie im Zutatenverzeichnis bzw. Spezifikation solcher Präparate nicht oder nur als Aroma bzw. Würze deklariert. Möglicherweise gelangen sie daher auch in Fleischprodukte, ohne dass sich der Anwender dessen bewusst ist.

In Fleischerzeugnissen beeinflussen wasserbindende Eiweißpräparate das Wasser-Fleischeiweiß-Verhältnis und den BEFFE-Wert (bindegewebsfreies Fleischeiweiß). Obwohl das Produkt eine erhöhte Wassermenge bindet, erscheint das Wasser-Fleischeiweiß-Verhältnis vielfach unauffällig. Speziell bei Verwendung Hydroxyprolin-frei hergestellter Eiweißhydrolysate steigt der wertbestimmende BEFFE-Gehalt bzw. BEFFE im FE [Fleischeiweiß] an, ohne dass Auffälligkeiten bei der chemischen Routineanalytik entstehen. Eine solche Verwendung in Fleisch und Fleischerzeugnissen ist kritisch zu bewerten, da ohne eine entsprechende Kennzeichnung eine bessere Produktqualität vorgetäuscht wird als tatsächlich vorhanden ist. Das ZDF-Magazin Frontal21 (2018) unterstellte eine breite Anwendung dieser Vorgehensweise und damit eine systematische Verbrauchertäuschung. Auch wenn man von der Redaktion eines Verbrauchermagazins im öffentlich-rechtlichen Rundfunk eine weniger tendenziöse Berichterstattung erwartet, so hat der Bericht dennoch alle Marktbeteiligten für das Thema sensibilisiert.

## Analysemethoden zum Nachweis von Proteinzusätzen

Der oben genannte Frontal21-Beitrag unterstellte eine Machtlosigkeit der Lebensmittelkontrollbehörden hinsichtlich solcher Eiweißzusätze aufgrund fehlender laboranalytischer Nachweismöglichkeiten. Zumindest in Teilbereichen ist diese Ansicht unzutreffend.

Nach den Autoren des Workshops „Integrität und Authentizität von Lebensmitteln – Aktuelles aus dem MRI Kulmbach“ bei der 59. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz der DVG (2018) gelingt die Detektion des Zusatzes sowohl einiger pflanzlicher als auch tierischer Eiweißpräparate in nativem Fleisch mittels chemisch-physikalischer Analyse (BRÜGGEMANN et al., 2018). Mit dem Aufbau eines „Nationalen Referenzzentrums für die Echtheit und Integrität der Lebensmittelkette“ ist aktuell das Max-Rubner-Institut (MRI) in Kulmbach beauftragt. Zum Nachweis von Fremdeiweißen in Fleischerzeugnissen werden dort unter anderem **chromatographische oder massenspektrometrische** Methoden vorangetrieben, mit denen die Zugabe von pflanzlichen und tierischen Aminosäuren, Peptiden und Proteinen in Lebensmitteln nachgewiesen werden kann. Allerdings stößt der Nachweis mittels instrumenteller Analytik an Grenzen, wenn sich z.B. die freien Aminosäuren der

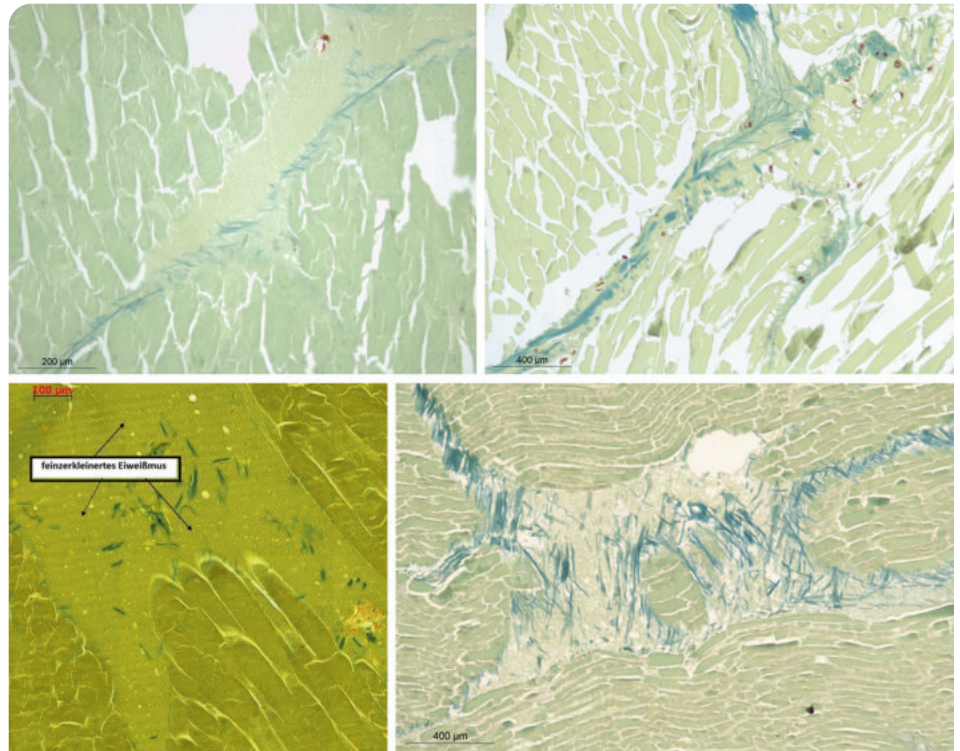


Abb. 1: Straßenartig, feingranulierte Proteineinschlüsse zwischen intakten Muskelfasern in Hähnchenschnitzel (oben links), Schweineschnitzel (oben rechts), Kochpökelware aus Putenfleisch (unten links) und Entenbrustfilet (unten rechts). In allen Bildern sind neben feingranulierter Masse striemen- oder gitterartige, blaue Bindegewebsstrukturen erkennbar, im Bild oben rechts zudem bräunliche Stärkepartikel.  
Fig. 1: Street-shaped, finely-granulated protein inclusions between intact muscle fibers in chicken breast (top left), pork schnitzel (top right), cured turkey meat product (bottom left) and duck breast fillet (bottom right). In all pictures striation or lattice-like collagen structures are visible beside finely-granulated mass containing striation or lattice-like, blue inclusions is visible, in the top right picture also brownish starch particles.

eingesetzten Eiweißpräparate in ihren Gehalten nicht oder nur gering von der natürlichen Zusammensetzung von Fleisch unterscheiden.

Basierend auf **molekularbiologischen** Methoden wie der quantitativen real-time Polymerasekettenreaktion (qPCR) kann der Zusatz von bestimmten Eiweißpräparaten und Eiweißhydrolysaten erfolgen. Tierartenrein bzw. völlig DNA-frei hergestellte Eiweißpräparate können mit molekularbiologischen Methoden jedoch nicht nachgewiesen werden.

Im Hinblick auf ihre Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit verdienen auch neuere, nicht-gerichtete Analysemethoden wie z.B. die **Kernspinresonanz-Spektroskopie (NMR)** Beachtung (BRÜGGEMANN et al., 2018). Wie zielführend und erfolgsversprechend diese Methoden sind, wird derzeit geprüft.

Hilfreich zum Nachweis von Fremdproteinen kann auch die direkte mikroskopische Überprüfung der feingeweblichen Zusammensetzung sein. Mit **histologischen Verfahren** sind die charakteristischen Gewebetypen tierischer Herkunft differenzierbar: Die wertgebende Skelettmuskulatur lässt sich mit ihren technologisch bedingten Strukturveränderungen darstellen (BENEKE, 2018) und von weiteren tierischen Bestandteilen wie Knochen, Knorpel oder Sehnen- und Drüsengewebe abgrenzen. Fleischfremde, unübliche oder nur für bestimmte Erzeugnisse typische Zutaten bzw. Zusätze wie z.B. Innereien, Gewürze, Stärke, oder Käse sind i.d.R. anhand von Farbe, Form, Struktur und Anfärbbarkeit nachweisbar. Die Detektion pflanzlicher Eiweißzubereitungen, Dichtungsmitteln und Blutpulver lässt sich direkt führen (HORN, 1987; HORN, 1988). In Kochschinken waren histologisch sowohl nieder- als auch hochmolekulare Kollagenhydrolysate nachweisbar (ISLAM et al., 2008). Auch andere Fremdproteine tierischer Herkunft können nach BENEKE et al. (2019) – abhängig von Protein und Matrix – prinzipiell mit Hilfe lebensmittelhistologischer Untersuchungen nachgewiesen werden.

## Histologische Befunde im Zusammenhang mit Proteinzusätzen

Im feingeweblichen Schnittbild stellen sich tierische und pflanzliche Eiweiße als Eiweiße mit unüblicher bzw. untypischer Struktur dar. BENEKE et al. (2019) untersuchten histologische Schnitte von Eiweißpräparaten tierischer Herkunft (Plasmaproteine, Hämoglobinpulver, Proteine auf kollagener Basis, Eiweißhydrolysat ohne Hydroxyprolin) und zwar sowohl nativ in Wasser gelöst als auch eingearbeitet in zerkleinertes Magerfleisch oder in Brühwurst. Grundsätzlich waren alle Proteine nachweisbar. Für einige Proteine bzw. Proteingruppen wurden typische Strukturen identifiziert, anhand derer ihr Nachweis möglich ist. Die Proteine waren in den untersuchten Matrices als untypische Strukturen sichtbar, eine

Übertragbarkeit auf andere Matrices bedarf gegebenenfalls der weiteren Untersuchung. Im vorliegenden Beitrag werden histologische Bilder von Produkten gezeigt, bei denen ein Eiweißzusatz deklariert oder rezepturmäßig bekannt war. Auch Bilder von Produkten ohne deklarierten Eiweißzusatz, die jedoch ähnliche Strukturen aufwiesen wie von BENEKE et al. (2019) beschrieben oder in kenntlich gemachten Produkten vorgefunden wurden, werden gezeigt.

Die Proben wurden für die histologische Untersuchung mittels Paraffineinbettung vorbereitet oder für die Gefrierschnitttechnik nativ belassen und gemäß ASU-Methode L 06.00-13 „Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleisch, Fleischerzeugnissen und Wurstwaren“ geschnitten und gefärbt. Zur Auswertung wurden sowohl Übersichtsfärbungen wie die Calleja(-Lugol)- und HE-Färbung als auch Spezialfärbungen wie Charvát-, Alizarin- und TVP-Färbung herangezogen. Die mikroskopische Bewertung erfolgte bei einer mindestens 50-fachen Vergrößerung, die Dokumentation des histologischen Befundes in der Regel bei 100- oder 200-facher Vergrößerung. Bei der Bewertung von Eiweißstrukturen als auffällig oder unüblich wurden sowohl ihre Erscheinungsform als auch die Produktart und die Herstellungstechnologie des Fleischerzeugnisses beachtet.

### Eiweißpräparate tierischer Herkunft

In Routineanalysen von Proben aus gegartem Muskelfleisch (Hähnchenschnitzel, Schweineschnitzel, Puten-Kochpökelerzeugnis, Schweinegulasch) finden sich – wie in Abbildung 1 dargestellt – des Öfteren fein-granulierte, kompakte Eiweißeinschlüsse zwischen den Muskelfasern. Für ein Produkt aus gewachsener Muskulatur ist dies untypisch. Im Gegensatz zu einem durch Tumbeln bedingten Muskelabrieb, bei dem aufgrund der mechanischen Einwirkung fließende Übergänge zwischen intakten und zerstörten Muskelfasern bis hin zu feinschaumig oder brätartig aussehendem Abrieb bestehen, ist eine strikte Trennung zwischen intakter Muskulatur und kompakter, detritusartiger Proteinmasse festzustellen (Abb. 1). Dies spricht für einen Zusatz eiweißhaltiger Lake ins Produkt, z.B. mittels Pökelinjektor.

Die histologischen Bilder können sich je nach Zusammensetzung der Lake unterscheiden. Zum Erreichen einer guten Verarbeitungsfähigkeit können der Lake neben Salz und Wasser auch viskositätsbeeinflussende und/oder schaumstabilisierende Stoffe zugesetzt werden. Die Lake des Produkts in Abbildung 1 (im Bild oben rechts) enthielt beispielsweise eine geringe Menge an Stärkekörnern. Striemen- und/oder gitterartige Strukturen wie in Abbildung 1 (insbesondere Bild unten rechts) sind für natürlich gewachsenes Bindegewebe untypisch und können z.B. bei der Verwendung von Enzymen wie Transglutaminase oder Genussäuren wie gemildertem Branntweinessig entstehen. Dass es sich bei den kompakt fein granulierten Eiweißstrukturen mit straßenartigem Verlauf um einen Proteinzusatz handelt und nicht das Lösen von nativem Muskelweiß in Lake ein ähnliches Erscheinungsbild erzeugt, bedarf der Absicherung. BENEKE et al. (2019) zeigten, dass sich sowohl **Plasmaproteine** als auch hydroxyprolinfreie Hydrolysate aus Schweineprotein als fein granulierte, hellgrün-gelbliche, detritusartige, homogene Eiweiß-

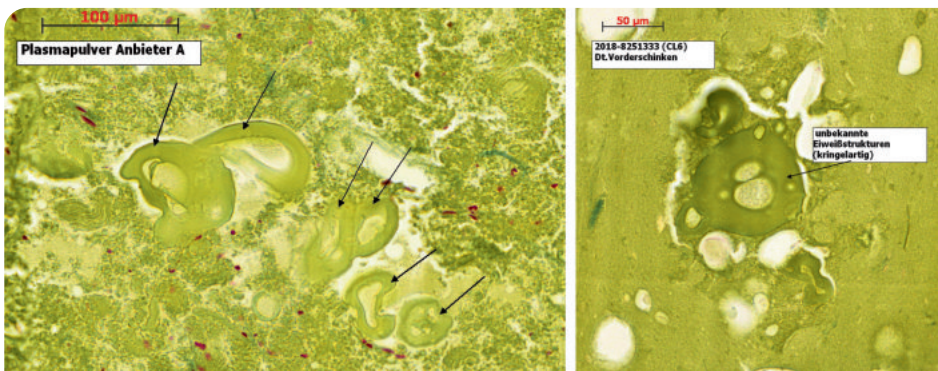


Abb. 2: Ringförmige Eiweißstrukturen von Plasmapulver, eingearbeitet in zerkleinertes Magerfleisch (links; siehe auch BENEKE et al., 2019) und in Vorderschinken (rechts)

Fig. 2: Ring-shaped protein structures of plasma powder, incorporated into lean meat (left, see also BENEKE et al., 2019) and in shoulder ham (right)

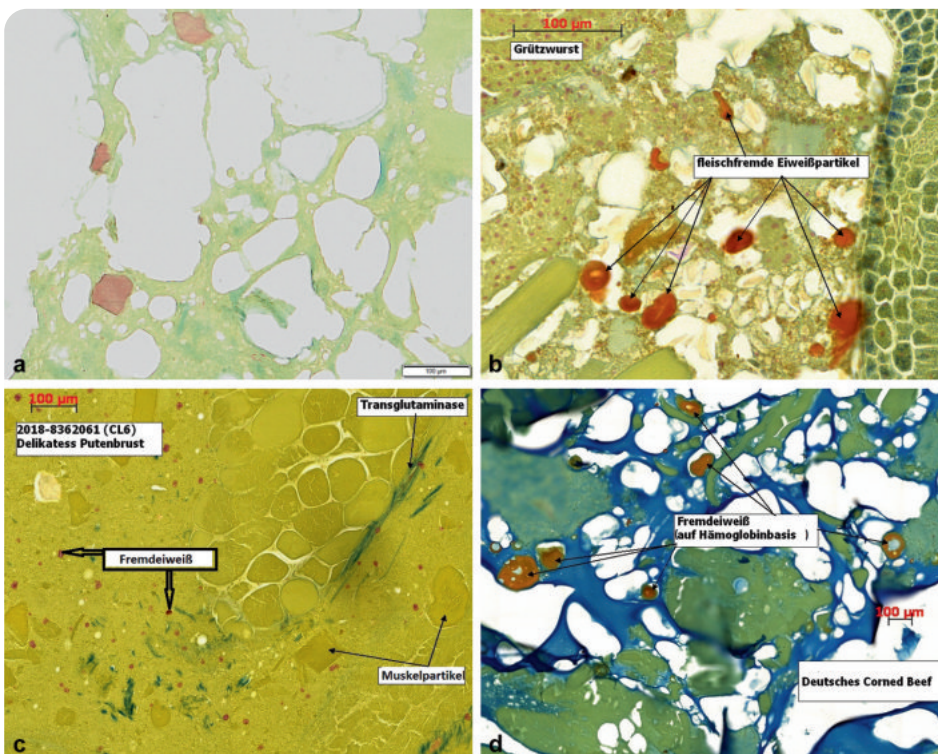


Abb. 3: Produkte mit Verdacht auf den Einsatz hämoglobinhaltiger Präparate in Calleja-Färbung: a) Wiener Würstchen, b) Grützwurst, c) Putenbrust-Kochpökelerzeugnis, d) Deutsches Corned Beef.

Fig. 3: Products with suspected use of hemoglobin-containing protein preparations in Calleja stain: a) Vienna sausages, b) "Grützwurst", c) cured turkey breast product, d) German Corned Beef.

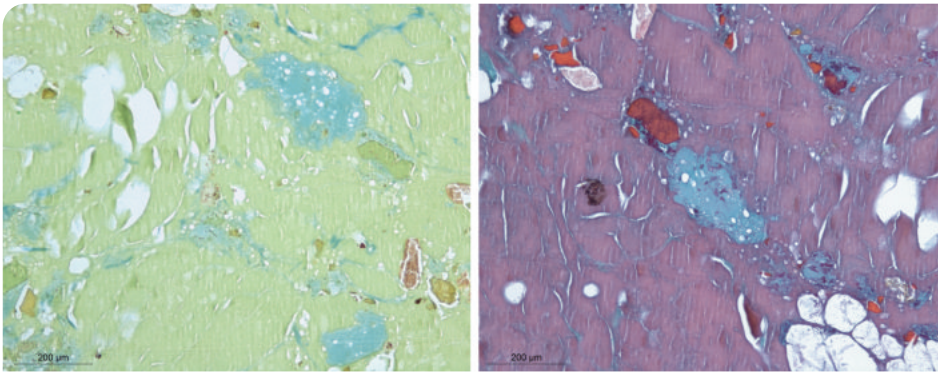


Abb. 4: Salami mit im Zutatenverzeichnis kenntlich gemachter Verwendung von „Schweineprotein aus Kollagen und Plasma“ in Calleja-Lugol-Färbung (links) und Charvát-Färbung (rechts), jeweils in 100-facher Vergrößerung.

Fig. 4: Salami with indicated use of "pig protein from collagen and plasma" in the ingredients list; Calleja-Lugol staining (left) and Charvát staining (right), each in 100x magnification.

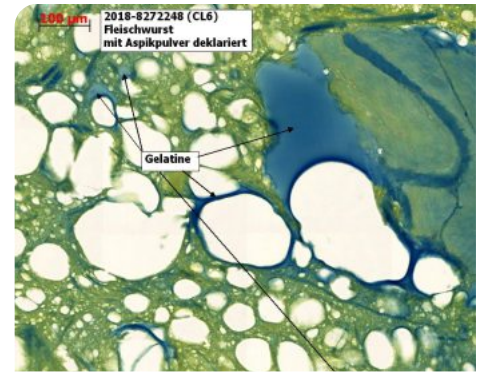


Abb. 5: Fleischwurst mit Aspikpulver (gem. Zutatenverzeichnis) aus dem Lebensmitteleinzelhandel (Calleja-Färbung)

Fig. 5: Bologna type sausage with aspic powder (according to the list of ingredients) from the retail trade (Calleja stain)

masse nahezu identischen Aussehens darstellen. Bei keinem der betreffenden Produkte war ein Eiweißzusatz gekennzeichnet.

In Abbildung 2 sind ringförmige Eiweißstrukturen („Kringel“) dargestellt, deren Vorkommen in Fleisch untypisch sind. Diese Strukturen wurden in der Routineprobe eines deutschen Vorderschinkens detektiert. Da BENEKE et al. (2019) gleichartige „Kringel“ in einem Plasmapulver mit ansonsten detritusartiger, feingranulierter Eiweißmasse nachwies, liegt der Verdacht nahe, dass dem Produkt Plasmapulver beigefügt wurde. Das Zutatenverzeichnis des Produkts lieferte keinen Hinweis auf die Verwendung eines derartigen Eiweißzusatzes.

Die Verwendung von Dickblut in Fleischerzeugnissen ist nach Abschnitt I. Nr. 1.61 der Leitsätze (2019) nicht üblich. Gleiches gilt für Blutprodukte, bei denen eine Anreicherung des Hämoglobins erfolgt, um die technologische Wirkung des Färbens zu erzielen. Gemäß Art. 3 Abs. 2 Buchst. a) iii i.V.m. Erwägungsgrund 5) der VO (EG) Nr. 1333/2008 werden solche Produkte als Zusatzstoffe eingestuft, für die es derzeit allerdings keine Zulassung gibt (UPMANN und WEYLAND, 2018).

Hämoglobinpräparate zeigen sich nach BENEKE et al. (2019) aufgrund ihrer Eigenfarbe i.d.R. als rostbraune, rostrote oder dunkelorange Partikel mit vorwiegend homogener, zum Teil löchriger Struktur. Die Form

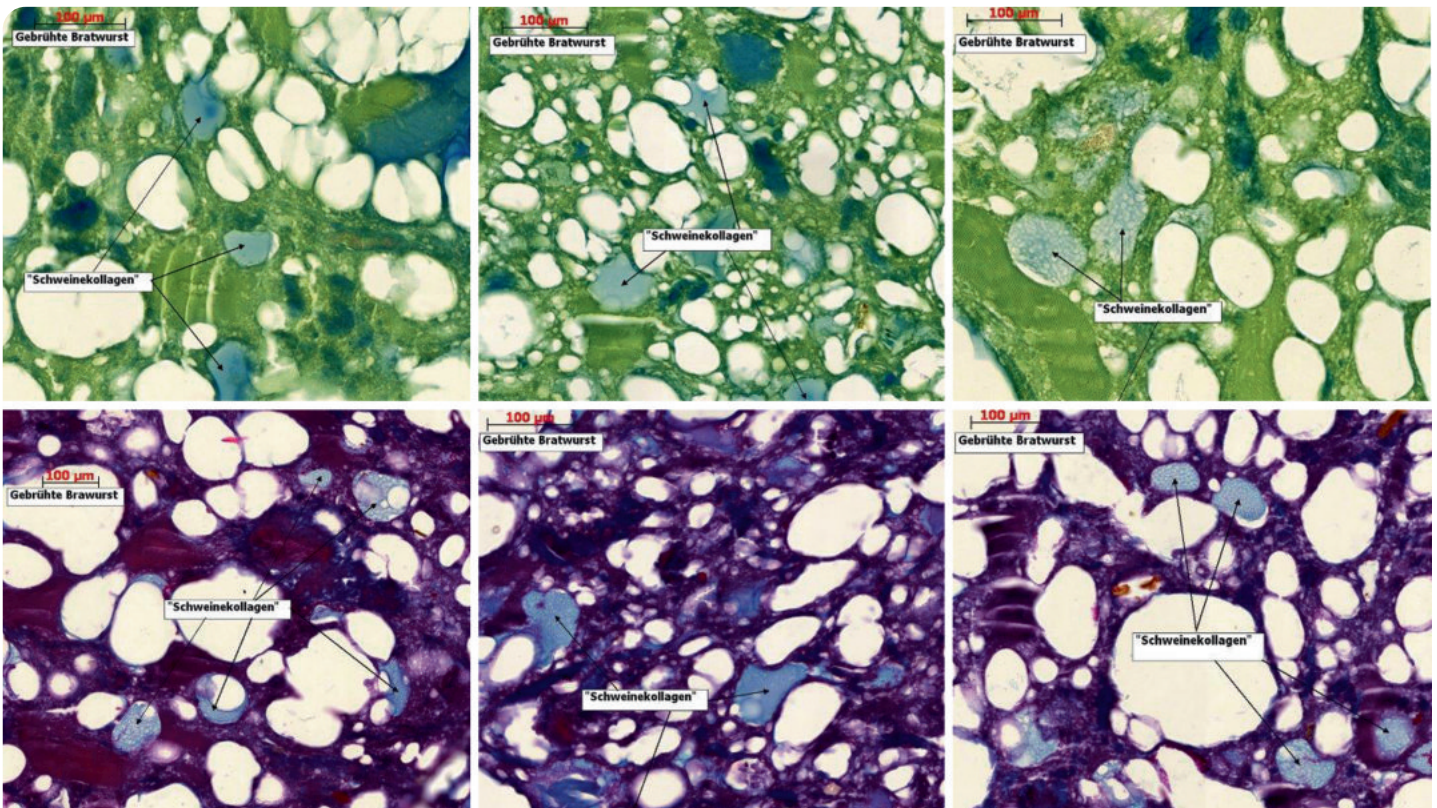


Abb. 6: Gegrühte Bratwürste mit deklariertem Zusatz von "Schweinekollagen" gem. Zutatenverzeichnis. Obere Reihe: Calleja-Färbung; untere Reihe: Charvát-Färbung.

Fig. 6: Frying sausages with declared addition of "pork collagen" acc. to the List of ingredients. Upper row: Calleja stain; bottom row: Charvát stain.

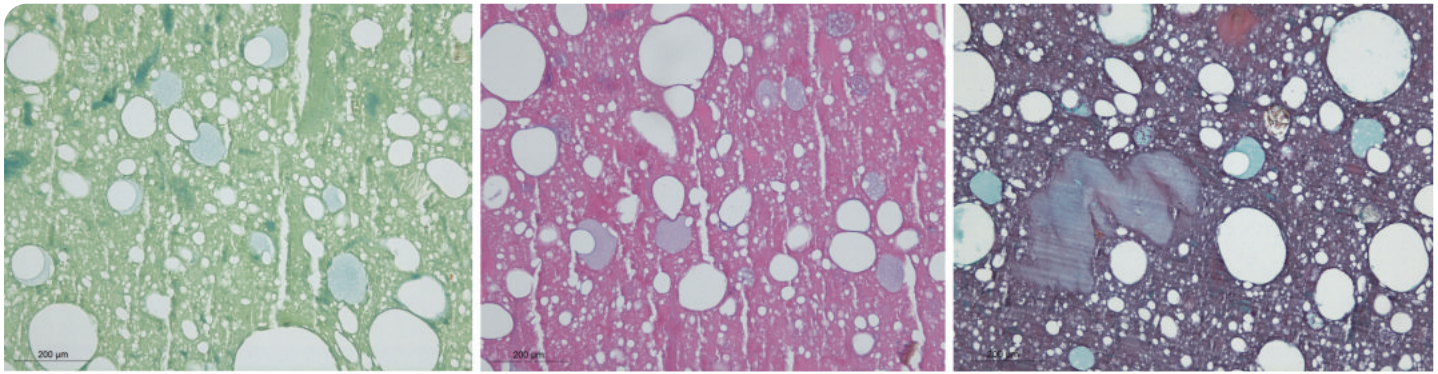


Abb. 7: Fleischkäse aus dem Lebensmitteleinzelhandel mit gelatinösen, bläschenartigen Partikeln in Calleja-Färbung (links), HE-Färbung (Mitte) und Charvát-Färbung (rechts).  
Fig. 7: Bologna type meat loaf from the retail trade with gelatinous, vesicular particles in Calleja stain (left), HE stain (center) and Charvát stain (right).

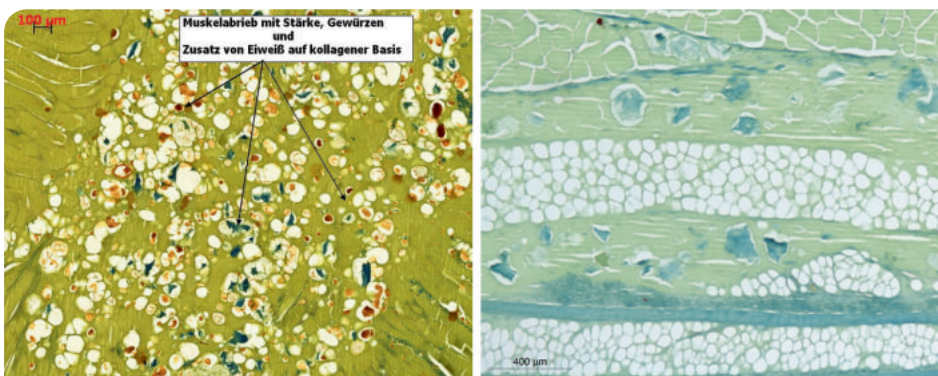


Abb. 8: Vorderschinken mit Zusatz von „Eiweiß“ gemäß Zutatenverzeichnis (links) und ähnliche, gelatinöse Partikel in einem Kochschinkenerzeugnis der Spitzenqualität ohne deklarierten Eiweißzusatz (rechts)  
Fig. 8: Shoulder ham with the addition of Protein according to the list of ingredients (left) and similar, gelatinous particles in a top-quality cooked ham product without declared protein supplement (right)

der Partikel kann rundlich bis länglich-kantig, die Größe unterschiedlich sein. In der Alizarin-S-Färbung zeigen sie sich eher gelb-grünlich bis orange-bräunlich. In der Calleja-Färbung mehrerer Fleischerzeugnisse aus der Routineanalytik wurden ähnliche Strukturen gefunden (Abb. 3). Abbildung 3a zeigt das Bild eines Wiener Würstchens, bei dem im Zuge der Rückverfolgbarkeit der Zusatz eines Hämoglobinpräparats belegt wurde. Gleichartige auffällige Strukturen wurden in einer Grützwurst (Abb. 3b), in einer Putenbrust-Kochpökelware (Abb. 3c) sowie in einem Deutschen Corned Beef (Abb. 3d) vorgefunden.

**Kollagenes Bindegewebe** und dessen Hydrolysate lassen sich mit Hilfe histologischer Färbemethoden spezifisch darstellen. Die kollagenen Fasern nicht erhitzten Bindegewebes präsentieren sich im Calleja(Lugol)-gefärbten Schnitt kräftig blau mit dichter und lockenartiger Struktur. Farbintensität und Eigenstruktur nehmen mit zunehmendem Hydrolysegrad des Kollagens ab, sodass sich gelatineartige Strukturen als amorphe, zunehmend hellblaue Masse darstellt (BENEKE et al., 2019). Neben der Calleja-Färbung eignen sich auch die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung), in der sich gelatinöse Strukturen in Flieder-Farbtönen zeigen, oder die Charvát-Färbung, in der sie sich hellblau bis leuchtend-türkisblau färben (Abb. 7).

BENEKE et al. (2019) zeigten Bilder gelatinierter und teilgelatinierter Eiweißpräparate auf Kollagenbasis. Die Zusätze kollagener Herkunft zeigten sich schlieren-, wolken- und/oder bläschenartig. Sie können homogen bläulich gefärbt oder unterschiedliche Blautöne aufweisen, wobei sich intensivere Blautöne in der Calleja-Färbung aufgrund unterschiedlicher Gelatinierungsgrade dann eher in der Partikel-Kernzone, blässere Blautöne in der Randzone befinden; ein gleichartiges Phänomen

wurde in der Charvát-Färbung vorgefunden. Die Eiweißpräparate enthielten zum Teil auch weitere Gewebestrukturen wie Gefäße, Muskelstücke oder Geflügelhaut.

In Rohwürsten sind solche Präparate auf Gelatine-/Kollagenbasis deutlich von nicht verleimtem (nativem) Bindegewebe abgrenzbar. Abbildung 4 zeigt Bilder einer Salami, in deren Zutatenverzeichnis der Zusatz von Eiweißkomponenten als „Schweineprotein aus Kollagen und Plasma“ kenntlich gemacht wurde. Im Gegensatz zum natürlichen, nativem Bindegewebe in einer Rohwurst, welches sich tiefblau mit lockenartiger Faserstruktur darstellt, ist der Zusatz des thermisch behandelten kollagenen Proteins als inselartige, amorphe, mit Bläschen durchsetzte, hellblaue Struktur erkennbar; im zugesetzten Eiweiß zeigen sich in der Calleja-Färbung zudem Einschüsse von dunkler grünen und in der Charvát-Färbung von dunkelorange-roten Strukturen, die wie mehrfach erhitzte Muskelstückchen (Rework) aussehen.

Die Nachweisbarkeit kollagener Partikel bei stark homogenisierten und erhitzten Produkten (z.B. Brühwurst) hängt vom verwendeten Eiweißpräparat-Typ und der Herstellungstechnologie ab. Abbildung 5 zeigt das histologische Bild einer Fleischwurst aus dem Lebensmitteleinzelhandel, in der gemäß Zutatenverzeichnis Aspikpulver verarbeitet wurde. Das Aspikpulver stellt sich als hell- bis dunkelblaue, strukturlos homogene, gelatinöse, teils flächig zerfließende Masse dar.

Die in Abbildung 6 dargestellten gebrühten Bratwürste enthielten im Zutatenverzeichnis einen Hinweis auf die Verwendung von „Schweinekollagen“. Ähnlich wie bei der Verwendung von Aspikpulver sind im histologischen Schnitt regelmäßig verteilte, hellblaue, größtenteils runde Strukturen sichtbar, die zum Teil homogen, zum Teil bläschenartig sind.

Ähnliche Partikel wurden auch in einer Fleischkäseprobe aus dem Handel gefunden, ohne dass ein Hinweis auf den Zusatz kollagener Eiweißpräparate im Zutatenverzeichnis enthalten war (Abb. 7). In allen drei Färbungen fallen die für Brühwurst untypischen, in mäßiger Menge gleichmäßig über den Schnitt verteilten, gelatinösen, bläschenartigen Partikel auf. Sie sind von relativ einheitlicher Größe und färben sich in der Calleja-Färbung hellblau, in der HE-Färbung fliederfarben und in der Charvát-Färbung hellblau bis leuchtend türkis. Die Abgrenzung zu natürlichen Bindegewebsstrukturen erfolgt durch ihre Form und Farbe und den fehlenden Zusammenhang bzw. fehlenden Übergang zum natürlichen Bindegewebe. In der Charvát-Färbung ist der Unterschied zum natürlichen Bindegewebe (hellgrau-bläulich bis lila, linker unterer Quadrant) gut erkennbar. Bei Untersuchungen von BENEKE et al. (2019) stellte

sich Hähncheneiweißpulver mit einem 90%igen Proteingehalt auf Kollagenbasis in einer feinerzkleinerten Brühwurst ähnlich dar.

Die Abbildung 8 (linkes Bild) zeigt das histologische Bild eines Vordereschinkens, dem laut Zutatenverzeichnis „Eiweiß“ zugesetzt wurde. Beim verwendeten Protein handelt es sich gemäß histologischem Befund um ein Präparat kollagener Natur: In der Calleja-Lugol-Färbung sind in einer stärkehaltigen, schaumig-wabigen Brätmasse kantige, homogene, blaue Strukturen erkennbar.

Gleichartige Partikel wurden auch in einem Kochschinken der Spitzenqualität detektiert, allerdings ohne eine entsprechende Kenntlichmachung. Die Calleja-Lugol-Abbildung 8 (rechtes Bild) zeigt die gleichen verleimten, kollagenen Strukturen in einer wie Abrieb erscheinenden Masse.

In einer Rindersalami der Spitzenqualität wurden – untypisch für eine Rohwurst – kantige Partikel mit der Farbe verleimten Kollagens und bräunlichen Einschlüssen festgestellt (Abb. 9, linkes Bild). Die Produktkennzeichnung enthielt keinen Hinweis auf die Verarbeitung von Eiweißzusätzen. Der Befund wies Ähnlichkeit mit dem von BENEKE et al. (2019) untersuchten **Griebenproteinpulver** auf, welches sich histologisch wie erhitzte Schwarte darstellte, in die Muskelstückchen und feingranulierte Eiweißmasse eingelagert waren (Abb. 9, rechtes Bild).

Eine Geflügelfleischwurst enthielt untypische, heterogen zusammengesetzte, sehr kernreiche Partikel (Abb. 10). Gemäß Rezeptur war ein funktionelles Geflügeleiweiß zur Herstellung verwendet worden. Dessen Erscheinungsbild ähnelte dem von BENEKE et al. (2019) geprüften **funktionalen Geflügelprotein** aus Fleischfettresten (Abb. 10, rechtes Bild).

Die Abbildung 11 zeigt das Bild einer Rohwurst, in der gemäß Zutatenverzeichnis **Magermilchpulver** verarbeitet wurde. Zusätze von Milchprotein stellen sich in der Calleja-Färbung als überwiegend kugelige Strukturen mit dunklem, granulierten Inhalt dar.

## Pflanzliche Eiweißpräparate

Pflanzenproteinzusätze lassen sich in Fleischerzeugnissen ebenfalls histologisch darstellen. Unterschieden werden üblicherweise texturiertes vegetables Protein (TVP), Pflanzenprotein-Konzentrate und -Isolate, die sich anhand ihrer Form von tierischen Eiweißisolaten unterscheiden lassen (Abb. 12).

Für den Nachweis kann die TVP-Färbung nach BAUER und CALLEJA (Amtliche Methode nach § 64 LFGB, L 06.00-13, Nr. 7.1.5.12) verwendet

werden. Hiermit werden kohlenhydrathaltige Partikel aus der Pflanzenzellwand, die bei der Gewinnung der Proteine aus dem jeweiligen pflanzlichen Ausgangsmaterial nicht komplett entfernt werden können, innerhalb der grün oder grün-braunen pflanzlichen Proteinstrukturen lila bis fliederfarben angefärbt. Auf diese Weise kann die pflanzliche Herkunft der betreffenden Struktur eindeutig belegt werden und zur Abgrenzung gegenüber tierischen Proteinzusätzen dienen.

Bei der Verwendung von pflanzlichen Protein-Konzentraten finden sich im Rest des Schnittes – losgelöst von den Proteinstrukturen – oft Palisadenzellen mit dem für die Pflanzenart typischen Aussehen.

Bei **texturiertem vegetabilen (pflanzlichem) Protein (TVP)** handelt es sich um ein aus seiner ursprünglichen globulären Struktur in eine fleischartige Faserstruktur überführtes pflanzliches Eiweiß. Die Herkunft der Proteine ist vielfältig; sie werden u.a. aus Soja, Erbse, Weizen, Lupine, Erdnuss, Sesam, Raps, Hefe oder Pilzkulturen gewonnen. Die Herstellung kann mittels Spinn- oder Extrusionsprozess erfolgen und wird als Texturierung bezeichnet. Verarbeitet in Fleischerzeugnissen lassen sich solche strukturierten Eiweiße histologisch in den unterschiedlichsten Färbungen darstellen und sind an ihrer typischen, oft geschichteten Struktur erkennbar. Das TVP weist zumeist dieselbe Farbe auf wie das umgebende Muskeleiweiß; je nach verwendetem Eiweiß kann die Farbe leicht variieren. In Abbildung 13 ist Weizen-TVP, Soja-Isolat und Erbsen-TVP dargestellt.

Bei **Pflanzenprotein-Konzentraten und -Isolaten** lassen sich – ähnlich wie bei TVP – je nach Produkt noch verbliebene Kohlenhydratanteile

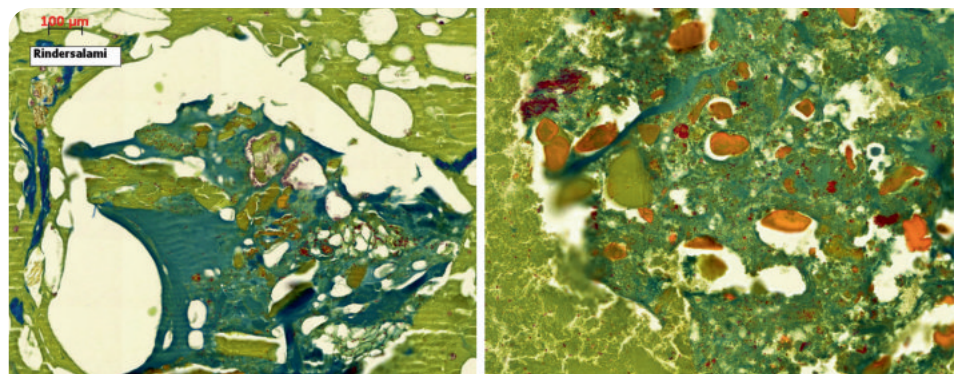


Abb. 9: Rindersalami der Spitzenqualität mit Verdacht auf Zusatz von Griebenprotein (links) und Griebenprotein eingemischt in eine Hackfleischmatrix (rechts; nach BENEKE et al., 2019).

Fig. 9: Top quality beef salami with suspected addition of grape protein (left) and grape protein mixed into a minced meat matrix (right, according to BENEKE et al., 2019).

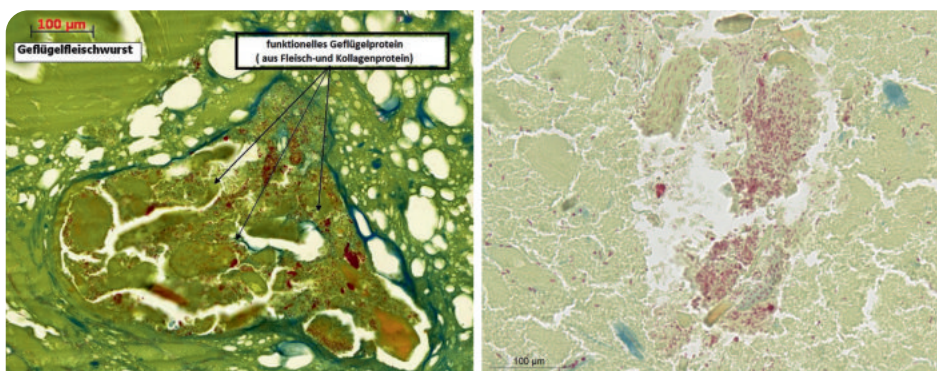


Abb. 10: Geflügelfleischwurst mit zugesetztem funktionellem Geflügelprotein (links) und funktionelles Geflügelproteinpulver in hackfleischartige Matrix eingearbeitet (rechts; BENEKE et al., 2019) in Calleja-Färbung  
Fig. 10: Poultry bologna type sausage with added functional poultry protein (left) and functional poultry protein powder in a minced meat matrix (right, BENEKE et al., 2019) in Calleja stain.

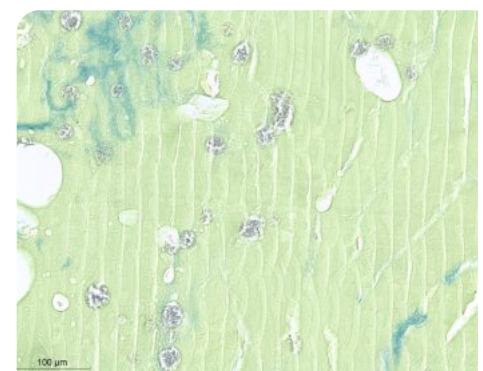


Abb. 11: Rohwurst mit Zusatz von Magermilchpulver; Calleja-Färbung.  
Fig. 11: Salami type sausage with added skim milk powder; Calleja staining.

## Formunterschiede

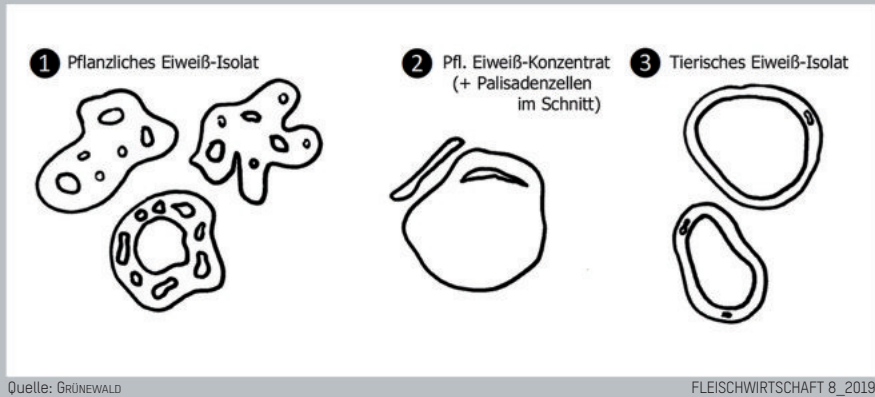


Abb. 12: Schematisch dargestellte Formunterschiede pflanzlicher und tierischer Eiweiß-Isolate im histologischen Schnitt: (1) pflanzliche Eiweiß-Isolate stellen sich schwammartig bis kringleförmig dar, wobei immer mehrere Bläschen innerhalb der Schwamm- oder dicken Kringlestrukturen vorhanden sind; (2) pflanzliche Eiweiß-Konzentrate zeigen dahingegen meist eher als kompakte Gebilde, manchmal mit kleinen „Rissen“ im Randbereich, mit derartigen Strukturen vergesellschaftet finden sich im übrigen Schnitt oft Palisadenzellen der betreffenden Pflanzenart; (3) tierische Eiweiß-Isolate stellen sich als schmalwandige Kringle dar, in denen ebenfalls wenige Bläschen erkennbar sein können. Evtl. Zwischenformen können hinsichtlich ihres tierischen oder pflanzlichen Ursprungs mittels TVP-Färbung differenziert werden.

Fig. 12: Schematic differences in the shape of vegetable and animal protein isolates in histological section: (1) vegetable protein isolates are spongy to wrinkled, with multiple vesicles within the sponge or thick doughnut-like structures; (2) vegetable protein concentrates tend to show more compact formations, sometimes with small "cracks" in the margins; such structures appear often together with palisade cells of the respective plant species; (3) animal protein isolates represent as narrow-walled rings, in which also a few vesicles may be recognizable. Possible intermediate forms can be differentiated with regard to their animal or plant origin by means of TVP staining.

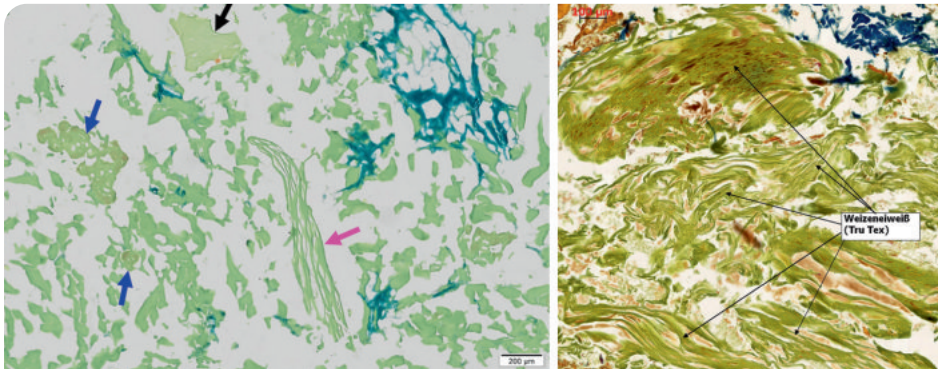


Abb. 13: Links: Drei verschiedene, in Fleisch eingearbeitete Pflanzeiweiße (Referenzmaterial, Calleja-Färbung): Weizen-TVP (unten, rosa Pfeil), Soja-Isolat (Schwammstruktur links, blaue Pfeile) und Erbsen-TVP (oben, schwarzer Pfeil). Rechts: 3-mm-Schweinefleischrohstoff zur Frikadellenherstellung mit faserigem Weizeneiweiß-Textur, durchsetzt mit stärkehaltigen Einschlüssen (Calleja-Lugol-Färbung).

Fig. 13: Left: Three different vegetable proteins incorporated in meat (reference material, Calleja stain): Wheat TVP (bottom, pink arrow), soy isolate (sponge structure left, blue arrows) and pea TVP (top, black arrow), Right: 3 mm pork raw material for meatball production with fibrous wheat protein texture, interspersed with starchy inclusions (Calleja-Lugol staining).

innerhalb der Eiweißstrukturen mittels TVP-Färbung fliederfarben bis lila/pink anfärben. Auch ohne Spezialfärbung sind derartige Protein-zusätze häufig anhand ihrer typischen Struktur zu erkennen: Sie stellen sich als kompakte (Konzentrate), unregelmäßig rundliche bis ringförmige („Kringel“) oder vakuolig-blasige Proteinstrukturen (Isolate) dar (Abb. 12, Abb. 13, Abb. 14). Als Beispiel ist in Abbildung 14 die ringförmige Erbsenprotein-Struktur bei einem 2%igen Zusatz zu einer Brühwurst

(Referenzmaterial) und zu einem asiatischen Hackfleischklöschen (deklariert) dargestellt. In allen Färbungen sind die kompakten Eiweiß-ringe erkennbar, im Hackfleischkloß ist daneben noch Kartoffelstärke als runde, homogene, pinkfarbene Gebilde zu sehen. In den schwammförmigen Erbsenprotein-Strukturen (siehe unterster Pfeil in Abb. 14) sind Kohlenhydratreste im Erbsenprotein als deutliche pinkfarbene Einschlüsse erkennbar.

Eine Sonderstellung scheint **Mykoprotein** einzunehmen. Hierbei handelt es sich um ein Protein, das aus Pilzen gewonnen wird und in pflanzlichen Brotaufstrichen und anderen vegetarischen und vegetarischen Alternativprodukten Verwendung findet. Mittlerweile scheint es auch Anwendungen im Fleischbereich zu geben. Sein Aufbau erinnert an myzelartige Strukturen, die v.a. in der HE-Färbung gut darstellbar sind (Abb. 15). In der Calleja-Färbung unterscheidet es sich farblich nicht und strukturell kaum erkennbar vom umliegenden Gewebe.

Im Zutatenverzeichnis von Drehspießen aller Art wird oft **Sojaprotein** gekennzeichnet, welches ebenfalls Bestandteil der Bezeichnung ist. Das linke Bild in Abbildung 16 zeigt das histologische Bild eines deklarierten Sojaprotein-Isolats in einem Drehspieß. Die ringförmige Struktur mit eingelagerten Blasen fällt auch in der Alizarin-S-Färbung auf, die üblicherweise zur Detektion von Knochenpartikeln eingesetzt wird.

Wie die Bilder einer Rohwurst mit deklariertem Soja- und Milcheiweiß-Zusatz zeigen (Abb. 16, mittleres und rechtes Bild), ist das Sojaweiweiß in der Calleja-Färbung weniger augenfällig. Es ist etwas kräftiger gefärbt als die Fleischproteine und weist dieselbe Struktur auf. Vereinzelt ist Milcheiweiß erkennbar. Im rechten Bild haben sich die kompakten Soja-„Kringel“ zu einer schwammartigen Struktur zusammengeschlossen.

Zusätze von **Reisprotein** erscheinen in der Calleja(-Lugol)-Färbung als kompakte, leicht granuliert Partikel von bis zu 100 µm Länge. Im umgebenden Brühwurstbrät sind sie anhand ihres etwas dunkleren grünen Farbtons erkennbar (Abb. 17). Auch in der HE-Färbung stellen sich die Partikel im Brät kompakt und dunkler gefärbt dar, eine Granulierung ist jedoch nicht erkennbar.

### Rechtliche Aspekte des Proteinzusatzes

Proteinpräparate pflanzlicher und tierischer Herkunft verfügen über vielfältige funktionelle Eigenschaften. Wie bereits in der Tabelle aufgeführt, können sie nach WESTPHAL et al. (2003) aufgrund ihrer Moleküleigenschaften Wechselwirkungen sowohl mit hydrophilen als auch mit hydrophoben Lebensmittelinhaltsstoffen ein-

gehen und lassen sich in viele Richtungen modifizieren. Insofern sind ihre technologischen Einsatzgebiete äußerst umfangreich. Eiweiße oder ihre Komponenten können direkt eingesetzt werden oder dienen als Ausgangsstoff zur Herstellung anderer Zutaten wie zum Beispiel Würzen und Aromen.

Für einen rechtskonformen Einsatz sind jedoch die Verwendungs- und Kennzeichnungsanforderungen zu beachten.

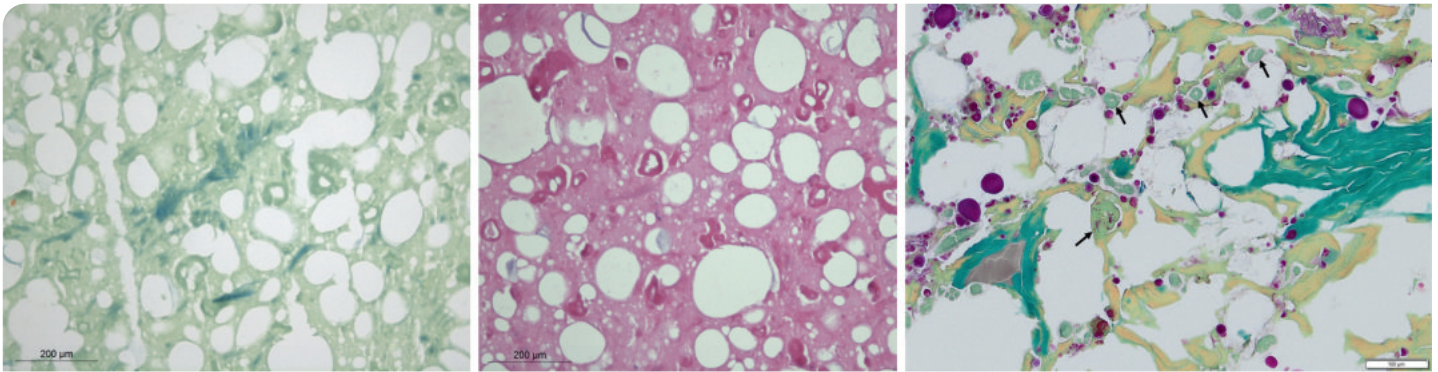


Abb. 14: Erbsenprotein verarbeitet in Brühwurst (Links: Calleja-Färbung; Mitte: HE-Färbung) und in einem asiatischen Hackfleischklößchen (rechts: TVP-Färbung). Das Erbsenprotein stellt sich als kompakte, ringförmige Eiweißstruktur dar. Im rechten Bild ist eine teilweise schwammförmige Struktur mit deutlichen pinkfarbenen Kohlenhydrateinschlüssen erkennbar (unterster Pfeil)

Fig. 14: Pea protein processed in boiled sausage (left: Calleja stain, center: HE stain) and in an Asian minced meatball (right: TVP stain). The pea protein turns out to be a compact, ring-shaped protein structure. The right picture shows a partially spongy structure with distinct pink carbohydrate inclusions (bottom arrow)

Klare Regelungen hierzu finden sich in der VO (EU) Nr. 1169/2011 (LMIV). Nach Maßgabe des Art. 18 Abs. 2 LMIV sind alle Zutaten mit einer geeigneten Bezeichnung im Zutatenverzeichnis aufzuführen. Diese liegt immer dann vor, wenn sie hinreichend genau ist, wenn also anhand der Bezeichnung sowohl die Tierart bzw. die botanische Herkunft, als auch der Ursprung und der Verarbeitungsgrad der Zutat erkennbar ist, z.B. Schweineblutplasma-Eiweißpulver (ALTS, 2014; UPMANN und WEYLAND, 2018). Ergänzend dazu müssen gemäß Anh. VI Teil A Nr. 4 LMIV alle Zutaten, die als Fleischersatz dienen, in unmittelbarer Nähe zum Produktnamen angegeben werden. Von einem Ersetzen des Fleischanteils ist in der Regel auszugehen, wenn der Anteil der Zutaten 2% überschreitet (Ziffer I. Nr. 2.11.7 der Leitsätze).

Die Kennzeichnung von Eiweißpräparaten, deren Gehalte unter 2% liegen, ist abhängig vom Verwendungszweck. Die Verwendung von Zusätzen sollte geschmacklich und/oder technologisch begründet sein und richtet sich nach der allgemeinen Verkehrsauffassung (Ziffer I. Nr. 1.8; 2.11.6 der Leitsätze).

Zu den verkehrsüblichen eiweißhaltigen Zutaten zählen Lebensmittel wie Milcheiweiß, Eiprodukte, aber auch pflanzliches Eiweiß wie Soja- oder Weizenprotein.

Bei einem Zusatz pflanzlicher Eiweißpräparate unter 2% geht man derzeit von einem technologisch bedingten Einsatz aus. Die Angabe im Zutatenverzeichnis gemäß Art. 18 Abs. 2 LMIV wird in der Regel als ausreichend erachtet. Mit der Frage, ob die in den Leitsätzen genannte Grenze von 2% für alle Pflanzenprotein-Präparate, auch wenn sie sich im Proteingehalt deutlich unterscheiden, weiterhin für sinnvoll erachtet wird, beschäftigt sich derzeit der ALTS.

Nicht verkehrsüblich hingegen ist die Verwendung von aus Tierteilen gewonnenen eiweißhaltigen Präparaten, welche zum größten Teil den Fremdeiweißen bzw. fremden Nichteiweißstickstoffverbindungen zuzurechnen sind (Ziffer I. Nr. 1.75 und 1.76 der Leitsätze). Ungeachtet der zugesetzten Menge ist deren Verwendung kenntlich zu machen, um eine Irreführung des Verbrauchers gemäß Art. 7 Abs. 2 LMIV zu vermeiden. Die Bezeichnung des Lebensmittels muss um die Angabe dieser Zutaten ergänzt werden (Ziffer I. Nr. 2.11.8 der Leitsätze). Ausnahmeregelungen, z.B. für Speisegelatine, sind dabei zu berücksichtigen. Die Ergänzung zur Bezeichnung sollte das zugesetzte Eiweiß hinreichend genau beschreiben, damit der Verbraucher das Fleischerzeugnis von verwechselbaren Erzeugnissen unterscheiden und eine qualifizierte Kaufentscheidung treffen kann.

Dienen Proteinpräparate pflanzlicher und tierischer Herkunft als Ausgangsmaterial zur Herstellung von Aromen und Würzen, ist in einigen wenigen Fällen eine Kennzeichnung des eiweißhaltigen Präparates als „Aroma“ im Zutatenverzeichnis möglich. Wird ein Präparat verwendet, um dem Lebensmittel einen besonderen Geruch und/oder Geschmack zu verleihen oder um diesen zu verändern, handelt es sich gem. Art. 3 Abs. 2

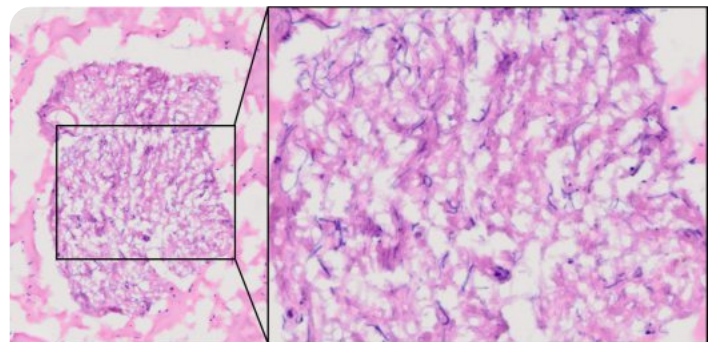


Abb. 15: Mykoprotein in Hackfleisch (Ringversuchsprobe, HE-Färbung): die genaue Struktur tritt erst bei höheren Vergrößerungen deutlich zu Tage (links 100-fach, Ausschnitt rechts 200-fach).

Fig. 15: Mycoprotein in minced meat (interlaboratory comparative test, HE staining): the exact structure only becomes apparent at higher magnifications (100x left, 200x right).

Buchstabe a) der VO (EG) Nr. 1334/2008 um einen Aromastoff. Bei der Verwendung sind die Anforderungen der EU-Aromen Verordnung zu erfüllen.

Eine Kennzeichnung von Produkten als „Würze“ kommt in Betracht, wenn das Produkt der Geschmacksgebung dient und der Definition gemäß Abschnitt I. Buchstabe A Nr. 8 der Leitsätze für Gewürze und andere würzende Zutaten (1998) genügt. Nach dem Code of Practice for Bouillons and Consommés werden Würzen durch Hydrolyse eiweißreicher Stoffe hergestellt und enthalten mindestens 4% Gesamtstickstoff sowie mindestens 1,3% Aminosäurestickstoff und maximal 50% Kochsalz bezogen auf die Trockenmasse (Kulinaria Deutschland e.V. und Culinaria Europe, 2015). Es wird darauf hingewiesen, dass gebrauchsfertige Würzen, welche mehr als 4,5% Gesamtstickstoff, davon mindestens ein Drittel Aminosäurestickstoff, enthalten, als Eiweißhydrolysate und somit auch als fremde Nichteiweißstickstoffverbindungen einzuordnen sind (Ziffer I. Nr. 1.76 der Leitsätze).

Auch wenn die technologischen Einsatzgebiete für die aus Tierteilen gewonnenen eiweißhaltigen Präparate äußerst vielfältig sind, werden diese meist nicht als **Zusatzstoffe** im Sinne des Zusatzstoffrechts eingestuft: Blutplasma, Speisegelatine, Proteinhydrolysate und deren Salze gelten gemäß Art. 3 Abs. 2 Buchstabe a) Ziffer viii) VO (EG) Nr. 1333/2008 nicht als Zusatzstoffe. Gleiches gilt gemäß Ziffer ix) für Aminosäuren und deren Salze (außer Glutaminsäure, Glycin, Cystein und Cystin sowie deren Salze), die nicht die Funktion eines Zusatzstoffes haben. Eine Ausnahme stellt jedoch Hämoglobinpulver dar. Nach dem Erwägungsgrund 5 der

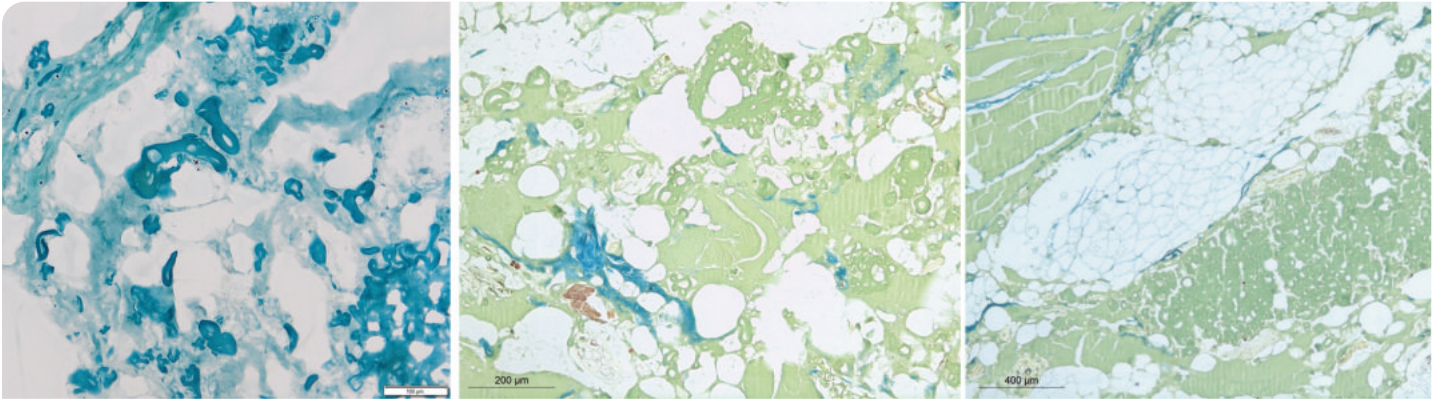


Abb. 16: Sojaprotein in Fleischprodukten. Links: Sojaprotein-Isolat (deklariert) in einem Drehspieß; Alizarin-S-Färbung. Mitte und rechts: Sojaweiß (deklariert) in Rohwurst mit vereinzelt Milchproteinpartikeln; Calleja-Lugol-Färbung.

Fig. 16: Soy protein in meat products. Left: soy protein isolate (declared) in a kebab meat skewer; Alizarin S staining. Center and right: soy protein (declared) in salami type sausage with isolated milk protein particles; Calleja-Lugol staining.

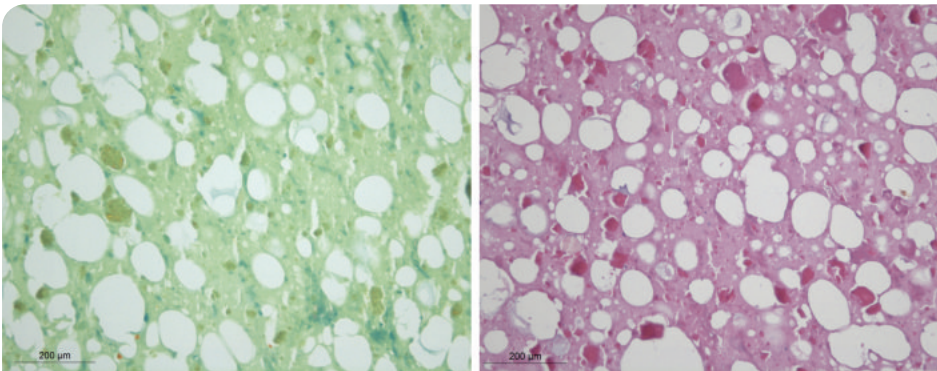


Abb. 17: Brühwurst mit 2% Reisprotein. Calleja-Lugol- (links) und HE-Färbung (rechts).

Fig. 17: Bologna type sausage with 2% rice protein. Calleja-Lugol (left) and HE staining (right).

VO(EG) Nr. 1333/2008 gelten „Zubereitungen aus Lebensmitteln und anderen natürlichen Ausgangsstoffen, die in dem Enderzeugnis eine technologische Funktion erfüllen und die durch selektive Extraktion von Bestandteilen (z.B. Pigmenten) im Vergleich zu ihren ernährungsphysiologischen oder aromatisierenden Bestandteilen gewonnen werden, jedoch als Zusatzstoffe im Sinne dieser Verordnung“. Ungeachtet des Verarbeitungsverbot von Dickblut (LS Nr. I. 1.61) werden Zubereitungen aus Blut (LS Nr. I. 1.41), die im Hämoglobingehalt angereichert sind und zwecks Färbung eingesetzt werden, als Zusatzstoffe eingestuft. Diese bedürfen einer Zulassung (UPMANN und WEYLAND, 2018).

Zu beachten ist, dass eine fehlende Kenntlichmachung nicht nur einen reinen Kennzeichnungsverstoß beinhalten kann. Wenn der hohe Eiweißgehalt der eingesetzten Präparate auf das Binden von Wasser (Addition) und den Ersatz von Fleisch (Substitution) mit dem vordergründigen Ziel der Gewinnmaximierung abzielt, handelt es sich gemäß der vorläufigen Definition der EU für „Lebensmittelbetrug“ um „Food Fraud“ (BVL, 2018).

Im Hinblick auf die rechtliche Beurteilung des Zusatzes von tierischen und/oder pflanzlichen Eiweißpräparaten ist in Abhängigkeit von der Art des Lebensmittels und der Art des vorgefundenen Eiweißes eine Einzelfallprüfung ratsam. Allerdings ist generell von einer Kennzeichnungspflicht des Zusatzes auszugehen.

## Methodische Aspekte

Bereits vor über hundert Jahren gaben gefärbte Schnittpräparate „interessanten Aufschluss darüber, was alles an tierischen Geweben zur

Wurstfabrikation verwendet wird“ (JAEGER, 1910). Der direkte mikroskopische Blick ins Lebensmittel ermöglicht eine Aussage über die Zusammensetzung und Verkehrsfähigkeit von Fleischerzeugnissen und ergänzt damit sensorische, chemische, serologische und molekularbiologische Analysen. Verschiedene Fragestellungen können derzeit nur unter Verwendung histologischer Untersuchungen geklärt werden (SCHERING, 2015).

Beim histologischen Nachweis mittels ASU-Methode L 06.00-13 „Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleisch, Fleischerzeugnissen und Wurstwaren“ handelt es sich um ein validiertes Standardverfahren, welches sowohl in amtlichen als auch in privaten Laboratorien etabliert und akkreditiert ist.

Nach den vorliegenden Untersuchungen stellt es ein geeignetes Mittel dar, um Zusätze

von Fremdeiweißen tierischer oder pflanzlicher Herkunft nachzuweisen oder einen Hinweis auf deren mögliche Verwendung zu liefern (ALTS, 2018; BENEKE et al., 2019). Neben den Standardfärbungen Calleja(-Lugol) und HE sind zur Absicherung von Befunden Spezialfärbungen wie Charvát-, Alizarin- oder TVP-Färbung empfehlenswert. Da ihr Nachweis sowohl mit Hilfe verschiedener Färbungen als auch in unterschiedlichen Matrices gelingt, können Artefakte ausgeschlossen werden. Wenn das histologische Bild die Abweichung von der verkehrsüblichen Zusammensetzung belegt, ist ein direkter Stoffnachweis aus hiesiger Sicht nicht erforderlich.

Auch die vorgestellten Untersuchungen von Produkten mit entsprechender Deklaration zeigen, dass Eiweißpräparate zur Herstellung von Fleischerzeugnissen Verwendung finden und sich diese histologisch nachweisen lassen. Nicht alle Proteinzusätze präsentieren sich mit gleicher Deutlichkeit. In der Regel ist eine Charakterisierung des unüblichen Eiweißzusatzes anhand seiner Farbe, Struktur und Anfärbbarkeit möglich (z.B. Proteinpräparat auf Gelatine- oder Hämoglobinbasis), eine Identifizierung des eingesetzten Eiweißpräparates gelingt eher selten. Auch kann es sich um Mischungen verschiedener Präparate handeln.

Aus diesem Grunde sind das Beschaffen von histologischem Referenz- und Vergleichsmaterial und das Anfertigen der dazugehörigen histologischen Bilder für die Routineanalytik sehr hilfreich (BENEKE et al., 2019). Eine Übereinstimmung mit derartigem „Referenzmaterial“ ist als deutlicher Hinweis auf den Einsatz von Fremdproteinen einzustufen. Ohne eine entsprechende Deklaration ist dieser Befund als abweichende (fein-)gewebliche Beschaffenheit zu beanstanden.

## Ausblick

Die Lebensmittelhistologie bietet Antworten auf viele Fragen der Zusammensetzung von Fleischerzeugnissen. Nachgewiesen werden können z.B. der Einsatz von Verdickungsmitteln (UPMANN, 2006; UPMANN et al., 2016), Blutpulver (HORN, 1988), Knochenpartikel (BIJKER et al., 1985; SCHULTE-SUTRUM et al., 2003) oder Wiederverarbeitung von Brühwurst (CHARVÁT, 1955). Auch der histologische Nachweis und die Beurteilung der Verarbeitung von Fremdeiweißen waren bereits vor mehreren Jahrzehnten ein Thema (LINKE, 1969; KUSCHFELDT, 1979; HORN, 1987). So steht außer Frage, dass das histologische Bild als brauchbares und belastbares Analyseergebnis Abweichungen von der verkehrsüblichen Beschaffenheit von Fleisch- und Wurstwaren sichtbar machen kann (HORN, 2019).

Im Rahmen der technologischen Entwicklung bei der Lebensmittelproduktion führen neue Herstellungstechnologien zu Veränderungen des histologischen Schnittbildes (BENEKE, 2018). Die Lebensmittelhistologie muss sich mit neuen Marktsortimenten wie veganen und vegetarischen Fleischersatzprodukten, mit neuartigen Convenience-Erzeugnissen oder mit Produkten, die neuartige Zutaten enthalten, beschäftigen. Zu solchen Produkten sind histologische Kenndaten zu ermitteln. Eine Sammlung histologischer Bilder, die kontinuierlich erweitert wird und die allen Interessierten zur Verfügung steht, ist daher sinnvoll (ALTS, 2018). Gleichzeitig ist eine Vernetzung sinnvoll, um das Wissen über den Fortschritt in der Herstellungstechnologie und Zusammensetzung von Fleisch- und Wurstwaren und das Know-how über diese Analysetechnik zu streuen und bei aktuellen Themen auszubauen.

Um histologische Auffälligkeiten im Zusammenhang mit dem möglichen Zusatz von Eiweißzusätzen zu Fleischprodukten verifizieren bzw. rückverfolgen zu können, sind Stufenkontrollen zu empfehlen, die neben den Rohstoffen auch weitere Zutaten wie Lake oder Gewürz- und Zusatzstoff-Compounds einschließen. Dazu gehört auch ein Abgleich mit Rezepturen sowie Spezifikationen.

Dieses Vorgehen erfordert den konstruktiven Dialog zwischen Herstellern, Lebensmittelkontrolle und Wissenschaft, damit das Vertrauen der Verbraucher in die Qualität der Lebensmittel gefördert wird. Eine verbesserte Transparenz kann allerdings nur gelingen, wenn alle Beteiligten dazu bereit sind.

### Danksagung

Die Autoren danken den technischen Assistentinnen Petra Schubrikoff, Katharina Moser-Gomer, Sandra Wolf und Elke Kießling für die technische Durchführung beim Anfertigen der histologischen Präparate.

### Literatur

- ALTS (2014): LMIV-Regelung Anhang VI Teil A Nr. 5 Kenntlichmachung von Eiweißen und hydrolysierten Proteinen unterschiedlicher tierischer Herkunft. TOP 13 der 73. Arbeitstagung des ALTS vom 23.–25.06.2014 in Berlin. – 2. ALTS (2018): Zusatz von tierischen Eiweißpräparaten in Fleischerzeugnissen: Histologischer Nachweis, rechtliche Bewertung. TOP 24 der 81. Arbeitstagung des ALTS, Berlin: 18.–20.6.2018. J. Verbr. Lebensm. 13 (4), 424. – 3. ASU L 06.00-13: Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB: Untersuchung von Lebensmitteln, Methode L 06.00-13 von 1989: Bestimmung der geweblichen Zusammensetzung von Fleisch, Fleischerzeugnissen und Wurstwaren, Beuth-Verlag. – 4. BENEKE, B. (2018): Technologie verändert Muskelstruktur; Histologische Identifikation und Beurteilung bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft 98 (2), 62–68. – 5. BENEKE, B., C. SCHWARZKOPF und M. UPMANN (2019): Histologischer Nachweis von proteinhaltigen Zusätzen in Fleischprodukten – Studie unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Fremdeiweißen tierischer Herkunft. Fleischwirtschaft 99 (7), 86–95. – 6. BIJKER, P.G.H., P.A. KOLMEES und J. TUINSTRAM-MELGERS (1985): Histological detection of mechanically deboned meat in meat products. Archiv für Lebensmittelhygiene. (36), 71–74. – 7. BRÜGGEMANN, D. A., K. DOLCH, S. MÜNCH, W. JIRA, M. PEUCKERT, C. STADER, L. WAGNER, S. ANDREE, F. SCHWÄGELE und B. KRANZ (2018): Nachweis nicht deklarierter Zugaben in Fleisch und Fleischerzeugnisse; Workshop „Integrität und Authentizität von Lebensmitteln – Aktuelles aus dem MRI Kulmbach“. 59. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelsicherheit und Verbraucherschutz der DVG, Garmisch-Partenkirchen 25.–28.09.2018. – 8. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (2018): Innerbehördliche Zusammenarbeit und Informationssysteme bei der Bekämpfung von Lebensmittelbetrug. Vortrag: I.-D. Gaden, Referat 121 im Rahmen der Fortbildung des LANUV am 05.06.2018 in Essen. – 9. CHARVÁT, Z. (1955): Eine zur Darstellung der glatten Muskulatur und des Bindegewebes geeignete Modifikation der Goldnerschen Trichrom-Methode. Československá morfologie 3, 184–186. – 10. Culinaria Europe (2015) Vereinigung der Verbände und Hersteller kulinarischer Lebensmittel in Europa (Culinaria Europe e.V.; 2015): Code of Practice für Bouillons and Consommés. <https://www.culinaria-europe.eu/index-culinaria-europe.html/downloads>, Zugriff: 2.6.2019. – 11. Frontal21 (2019): [<https://www.zdf.de/politik/frontal-21/videos/die-fleischpanscher-100.html> (20.03.18); <https://www.zdf.de/politik/frontal-21/videos/wurstpanschen-leicht-gemacht-100.html> (10.04.18); <https://www.zdf.de/politik/frontal-21/videos/nachgehakt-reaktion-der-dlg-100.html> (24.04.18)]. – 12. Grünewald, T. (2019): Bildatlas Histologie Fleisch und Fleischerzeugnisse; Befunde beurteilen – Ergebnisse sicher bewerten. Behr's Verlag Hamburg (im Druck). – 13. HORN, D. (1987): Zum Nachweis pflanzlicher Eiweißzubereitungen in Fleischerzeugnissen mit histologischen Untersuchungsverfahren. Fleischwirtschaft 67, 616–618. – 13. HORN, D. (1988): Zum histologischen Nachweis von Blutpulver in Fleischerzeugnissen. Fleischwirtschaft 68, 669–670. – 14. HORN, D. (2019): Bildatlas Histologie Fleisch und Fleischerzeugnisse; Befunde beurteilen – Ergebnisse sicher bewerten. Behr's Verlag Hamburg (im Druck). – 15. ISLAM, R. und G. HILDEBRANDT (2008): Ergebnisse des Ringversuchs „Verfälschungen von Kochschinken“. TOP 33, 61. Arbeitstagung des ALTS, 100–104. – 16. JAEGER, A. (1910): Zur Verarbeitung von „Kalbsgekrösen“ in die Leberwurst. Zschr. Fleisch- und Milchhyg. (20), 360. – 17. KUSCHFELDT, D. (1979): Der histologische Nachweis von Fremdeiweiß in Wurstwaren. Berlin: 29. Arbeitstagung des ALTS, Protokoll 28–29. – 18. LINKE, H. (1969): Histologischer Nachweis von „TVP“. Fleischwirtschaft 49 (4), 469–471. – 19. Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse (2019): Neufassung der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse vom 25.11.2015 (BAnz AT 23.12.2015 B4, GMBL 2015 S. 1357), zuletzt geändert durch Bekanntmachung der Änderung der Leitsätze für Fleisch und Fleischerzeugnisse vom 17. April 2019, BAnz AT 09.05.2019 B1, 1. – 20. Leitsätze für Gewürze und andere würzende Zutaten (1998): Neufassung vom 27.05.1998 (BAnz. Nr. 183a vom 30.9.1998, GMBL. Nr. 30 S. 577 vom 30.9.1998. – 21. SCHERING, B. (2015): Zur aktuellen Bedeutung der Lebensmittelhistologie. Fleischwirtschaft 95 (5), 103–107, und 95 (6), 94–98, und 95 (7), 94–97. – 22. SCHULTE-SUTRUM, M. und D. HORN (2003): Separatorenfleisch – Eignungsprüfung. Fleischwirtschaft 83, 78–81. – 23. UPMANN, M., A. RÖSER und N. KAUFELD (2016): Histologischer Nachweis von Dickungsmitteln, Färbestrategie zur Unterscheidung verschiedener Stoffe. Garmisch-Partenkirchen: 57. Arbeitstagung des Arbeitsgebietes Lebensmittelsicherheit der DVG, 27.–30.09.2016, Poster. – 24. UPMANN, M. (2006): Nachweis von Verdickungsmitteln. Vortrag bei der Fortbildung Lebensmittelhistologie im CVUA Ostwestfalen-Lippe. – 25. UPMANN, M. und G. WEYLAND (2018): Was ist erlaubt, was verboten? 14. Lemgoer Lebensmittelrechtstagung Fleisch + Feinkost. Fleischwirtschaft 98 (9), 52–54; 98 (10), 57–58; 98 (11), 64–68. – 26. VO (EU) Nr. 1169/2011: Verordnung (EU) Nr. 1169/2011 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 25. Oktober 2011 betreffend die Information der Verbraucher über Lebensmittel und zur Änderung der Verordnungen (EG) Nr. 1924/2006 und (EG) Nr. 1925/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates und zur Aufhebung der Richtlinie 87/250/EWG der Kommission, der Richtlinie 90/496/EWG des Rates, der Richtlinie 1999/10/EG der Kommission, der Richtlinie 2000/13/EG des Europäischen Parlaments und des Rates, der Richtlinien 2002/67/EG und 2008/5/EG der Kommission und der Verordnung (EG) Nr. 608/2004 der Kommission. ABl. L 304 vom 22.11.2011, 18. Zuletzt geändert durch Verordnung (EU) 2015/2283 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 25. November 2015, ABl. L 327 vom 11.12.2015, 1. – 27. VO (EG) Nr. 1333/2008: Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Lebensmittelzusatzstoffe. ABl. L 354 vom 31.12.2008, S. 16. zuletzt geändert durch VO (EU) 2018/97 vom 22. Januar 2018 ABl. L 17 vom 23.1.2018, 11. – 28. VO (EG) Nr. 1334/2008: Verordnung (EG) Nr. 1334/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Aromen und bestimmte Lebensmittelzutaten mit Aromaeigenschaften zur Verwendung in und auf Lebensmitteln sowie zur Änderung der Verordnung (EWG) Nr. 1601/91 des Rates, der Verordnungen (EG) Nr. 2232/96 und (EG) Nr. 110/2008 und der Richtlinie 2000/13/EG. ABl. L 354/34 vom 31.12.2008. – 29. WESTPHAL, G., G. GERBER und B. LIPKE (2003): Proteine – nutritive und funktionelle Eigenschaften. Berlin: Springer-Verlag.

## Summary

### Histological analysis of meat products for the detection of animal and vegetable protein additives

Birgit Beneke und Regina Seideneck – Detmold, Tanja Grünewald – Erlangen, and M. Upmann – Lemgo/Germany

Meat products | Meat proteins | Non meat proteins |  
Powered protein products of animal or plant origin |  
Histological detection | Food regulatory aspects

Due to their special molecular structure, proteins in foods can be used i.a. for texture and gel formation, for emulsification and for water, fat and aroma binding. For meat products, applications such as forming meat products from small pieces (e.g. production of uniform meat portions for the catering industry) and coloring (e.g. patties for the production of burgers, salami type sausage) are added. Proteins or their cleavage products can also be used – for example in the form of hydrolysed protein products – to influence the flavor

profile. In general, the use of animal and vegetable proteins in meat products is possible, but labeling is required. Proteins not deriving from slaughtered, warm-blooded animals, are referred to as "foreign protein". To verify the labeling obligation, the establishment of suitable analysis methods is necessary. The chemical methods developed so far are sometimes costly for routine use. The present article therefore presents the appearance of various proteins in the routine histological analysis of meat products. They include histological findings of meat products with labeled foreign proteins, of products suspected of adding foreign proteins and of products of known composition. In addition, the current status of the legal assessment is presented.

#### Anschriften der Verfasser

Dr. Birgit Beneke und Dr. Regina Seideneck, CVUA – OWL, Westerfeldstraße 1, 32758 Detmold, birgit.beneke@cvua-owl.de; regina.seideneck@cvua-owl.de; Dr. Matthias Upmann, Technische Hochschule Ostwestfalen – Lippe, Fachbereich Life Science Technologies, Fleischtechnologie, Campusallee 12, 32657 Lemgo, matthias.upmann@th-owl.de; Dr. Tanja Grünewald, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Eggenreuther Weg 43, 91058 Erlangen, tanja.gruenewald@lgl.bayern.de

## Niedersachsen

### Mehr Tierschutz für Schweine fördern

Knapp 360 000 € für Forschung im Bereich Tierschutz stellt das Land Niedersachsen der Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover (TiHo) zur Verfügung.

Mit den Fördermitteln sollen zwei Forschungsvorhaben im Bereich der Schweinehaltung realisiert werden. Die Landwirtschaftsministerin Barbara Otte-Kinast gratulierte zum Start der Projekte den Wissenschaftlern Prof. Dr. Elisabeth große Beilage, Prof. Dr. Karl-Heinz Waldmann und Prof. Dr. Sabine Kästner. Auch TiHo-Präsident Dr. Gerhard Greif bedankte sich für die Unterstützung durch das Land Niedersachsen.

Knapp 150 000 € hat das Land Niedersachsen daher für die Studie „Sofortmaßnahmen zur Vermeidung länger anhaltender erheblicher Schmerzen und Leiden bei Schweinen“ von Prof. Dr. Elisabeth große

Beilage bewilligt. Das Team will daher für die Akteure im Betrieb eine Entscheidungshilfe erarbeiten, die bei der Einschätzung des gesundheitlichen Zustands und der Prognose sowie bei der Beurteilung, ob erhebliche Schmerzen und Leiden vorliegen, helfen soll. Ziel des begonnenen Projekts ist es, Kriterien zu definieren, die im Einzelfall bei Schweinen die Feststellung der Unausweichlichkeit einer Tötung erlauben und den richtigen Zeitpunkt für das Erlösen erkrankter Schweine darzustellen.

Die Forschergruppe um Prof. Dr. Karl-Heinz Waldmann und Prof. Dr. Sabine Kästner unterstützt das Land Niedersachsen mit rund 210 000 € bei „Untersuchungen zur wirksamen Schmerzausschaltung bei der Saugferkelkastration mittels Lokalanästhesie“. Während des ge-

planten Forschungsvorhabens soll in mehreren Teilschritten überprüft werden, ob und wie eine Kastration unter lokaler Anästhesie bei Saugferkeln durchgeführt werden kann. Während dieser sogenannte „vierte Weg“ in einigen europäischen Nachbarländern aufgrund der dortigen Rechtslage zulässig ist, bestehen in Deutschland durch die strengen Vorgaben des Tierschutzgesetzes hohe fachliche Hürden für einen Einsatz. „Bisher fehlen belastbare wissenschaftliche Erkenntnisse darüber, ob die Lokalanästhesie in der Lage ist, eine vollständige Schmerzausschaltung zu erreichen. Nach geltendem Tierschutzgesetz ist das aber eine grundlegende Voraussetzung für den Einsatz des Verfahrens“, so Prof. Waldmann.

//www.ml.niedersachsen.de

## Wageningen

### Start zur schnelleren Integration von Robotik

Die Anwendung neuer Robotik-Technologien im europäischen Agrar- und Ernährungssektor ist Ziel des gestarteten Verbundprojekts „agROBOfood“. Experimente in sieben regionalen Clustern sollen Innovationen in dem Bereich demonstrieren und dabei auch die Reproduzierbarkeit und Adaption fördern. Als Beispiele nannte die Hochschule ein Pallettiergerät, das in Minustemperaturen arbeiten soll, gefolgt von vielen weiteren. Ein Gremium mit Beratern aus der Industrie soll strategische Leitfäden im Projekt geben. Insgesamt wird das Projekt mit 16 Mio. € unterstützt. Das Projektnetzwerk setzt sich derzeit aus 49 digitalen Knoten („Hubs“) sowie zwölf Kompetenzzentren zusammen.

//www.wur.eu/agrobofood

## Heinrich-Stockmeyer-Stiftung

### Bakterien, die bei der Herstellung von Milchpulver die Reinigung überleben

Bestimmte Bakterien können mit Hilfe ihrer Sporen in Ablagerungen aus Milcheiweiß alle Reinigungs- und Desinfektionsprozesse überdauern, dies hat **Theresa Konsense** im Rahmen ihrer Masterarbeit herausgefunden, die sie im September 2018 an der Universität Hohenheim vorlegte. Für die Arbeit „Thermally induced milk fouling as a reservoir for thermophilic spore

formers: Survival during cleaning and disinfection“ erhält Konsense den mit 2500 € dotierten Nachwuchspreis der Heinrich-Stockmeyer-Stiftung. Im Technikum der Universität Hohenheim erzeugte sie gezielt Foulingschichten mit Magermilch, in die sie kontrollierte Mengen von Sporen der Bakterien *Anoxy-bacillus flavithermus* einlagerte. Dann simulierte sie auto-

matische, unvollständige Reinigungsschritte. Jedoch gelang es nicht, die Sporen vollständig zu vernichten.

Konsense untersuchte die Ablagerungen mit dem Elektronenmikroskop und fand zerklüftete Oberflächen mit Vertiefungen, in denen die Sporen Schutz finden konnten. Diesen Strukturen konnten wiederum die sauren Reiniger

wenig anhaben, nur bei alkalischen Mitteln veränderte sich die Eiweißstrukturen, schollen an und ließen sich leichter entfernen. Basierend auf diesen Forschungsarbeiten gilt es nun, verbesserte Reinigungsverfahren zu entwickeln, die die Sporenablagerung wirksam reduzieren können.

//www.heinrich-stockmeyer-stiftung.de