

Bericht von VdLUFA und CEMA

K. WAGNER

Nachweis tierischer Fette

Auswertung des Ringversuchs 309M „Fettsäuremuster in MAT“ (SCHEU/Oldenburg)

- Es wurden nur jene Fettsäuren in die Auswertung einbezogen, die von allen 12 Teilnehmern erkannt wurden (Tabelle 1).
- Die Fettextraktion erfolgte nach Säurehydrolyse.
- Zur Berechnung der Kennzahl wurde mittels Diskriminanzanalyse für jede Fettsäure ein eigener Faktor sowie eine Konstante errechnet (Tabelle 2). Pflanzliche Fette (Fett oder Einzelfuttermittel) zeigen deutlich negative Werte: -3 bis -7, tierische Fette deutlich positive Werte: 3,5 – 9 (Abbildung 1).
- Ein neuer Ringversuch (316M) mit 4 Proben (Futterfettmischungen unterschiedlicher pflanzlicher Basis und verschiedenen Gehalten an Tierfett) ist derzeit im Laufen.

Verfahren zur Erkennung von Wiederkäuerfett (MUFA Kempten; TOBER)

- Die EU will nicht „tierisches Fett“ generell verbieten sondern „Fett von Wiederkäuern“, natürlich mit Ausnahme von Milchfett.
- Das vorgestellte Verfahren beruht auf der Bestimmung der Fettsäuren: C15 iso und ante iso, C16 iso, C17 iso und ante iso sowie der Buttersäure.
- Die iso-Fettsäuren machen jeweils <1% der Gesamtfettsäuren aus, ihre Gehalte im Milchfett liegen konstant zwischen 0,2 und 0,6%. Isfettsäuren fehlen in Pflanzenfetten.
- Als Standard für iso-Fettsäuren muss BCR 164 14.4 (Milchfett) verwendet werden. 5% Rindertalg in einem MAT können noch festgestellt werden.
- Beträgt die Summe der Iso-Fettsäuren

in einer Fettmischung > 0,14 besteht der Verdacht auf Beimischung von tierischem Fett. 2-5% Rindertalg in pflanzlichem Fett sind erkennbar.

- Das Verhältnis Buttersäure/Σ iso-Fettsäuren sinkt mit zunehmenden Talggehalt. Werte <1,5 weisen auf Tierfett hin.

Nachweis tierischer Bestandteile

Mikroskopie (ECKSTEIN)

- Immer wieder Angriffe Tenor: LUFEN seien unfähig. Eckstein antwortete mit einem Vergleich zwischen chemischen Analysen (es gibt ein Rauschen, Peak etc) und dem Sehen eines Knochensplitters. Bei der Mikroskopie gibt es keine NG/BG. Was gesehen wird, kann nicht verschwiegen werden. Wie aber die Überwachungsbehörde das Ergebnis beurteilt, ist deren Sache.
- Offene Deklaration: Eckstein hat einen Vorschlag zur Befundformulierung gemacht, der von den Mikroskopikern noch absegnet werden muss.

Carnosin-Ringversuch 310M (SCHÖNHERR/Leipzig)

- Das Muskeldipeptid Carnosin (β-Alanylhistidin) eignet sich zum Nachweis von tierischem Gewebe.
- Bestimmung: Nach wässriger Extraktion und Fällung der Proteine Reinigung über Festphase (Propylsulfonsäure). Derivatisierung mittels N-chloroformylcarbazol und Messung mittels HPLC (RP-18, Gradientenelution, FL-Detektor)
- 3 Proben untersucht (Fleischknochenmehl >0,1%, 0,1% und 0,02%). Nur 6 von 10 Laborergebnissen waren verwertbar. 0,02% war nicht mehr nachweisbar.
- Die Methode wurde verbessert und veröffentlicht (J.Agric.Food. Chem. 2002 50 1945-1959). Gradientenelu-

Tabelle 1: 309. Enquete „Fettsäuremuster in MAT“ (LUFA Nord-West)

Anzahl der Labore, die diese Fettsäuren gemeldet haben (Gesamtzahl: 12):

C4:0	C4:0	Buttersäure	6
	C5:0	Valeriansäure	1
C6:0	C6:0	Capronsäure	10
	C7:0	Önanthsäure	2
C8:0	C8:0	Caprylsäure	12
	C9:0	Nonansäure	1
C10:0	C10:0	Caprinsäure	12
	C10:1		1
	C11:0	Undekansäure	4
C12:0	C12:0	Laurinsäure	12
	C13:0	Tridekansäure	6
C14:0	C14:0	Myristinsäure	12
C14:1	C14:1	Myristoeinsäure	12
C15:0	C15:0	Pentadekansäure	12
	C15:0 iso *		1
	C15:0 ante iso *		1
	C15:1		4
C16:0	C16:0	Palmitinsäure	12
	C16:0 iso *		1
	C16:1 gesamt		
C16:1c	C16:1c	Palmitoleinsäure	12
C16:1t	C16:1t		1
C17:0	C17:0	Margarinsäure	12
	C17:0 iso *		1
	C17:0 ante iso *		1
	C17:1		8
C18:0	C18:0	Stearinsäure	12
	C18:1 gesamt		
C18:1n9c	C18:1c	Ölsäure	12
C18:1n9t	C18:1t		6
	C18:1n7		1
C18:2n6c	C18:2	Linolsäure	12
	C18:2;9t12t		2
	C19:0	Nonadekansäure	1
C18:3n6c	C18:3	Linolensäure	12
C18:3n3g	C18:3n6		8
C20:0	C20:0	Arachinsäure	12
C20:1	C20:1	Eicosensäure	12
C20:2	C20:2		11
C20:3n3	C20:3		10
C20:4n6	C20:4		10
C20:5n3	C20:5		8
C21:0	C21:0		6
C22:0	C22:0	Behensäure	12
C22:1n9	C22:1	Erucasäure	12
C22:4	C22:4		4
C22:6n3	C22:6		9
C24:0	C24:0		11
C24:1	C24:1		10
C27:0	C27:0		1

tion; Anserin 15^c, Carnosin 20^c und Histidin bei 24,7^c.

- Vorteil der Carnosinmethode liegt dar

Autor: Dr. Karl WAGNER, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191, A-1226 WIEN



Tabelle 2: 309. Enquete „Fettsäuremuster in MAT“ (LUFA Nord-West)

Probe 3		1	2	3	4	5	6	7	8
Fettgehalt (%) Fett B		16,38	16,54	16,79	16,39		16,7	16,41	
C8:0	C8:0 Caprylsäure	1,42	0,91	0,92	1,31	1,40	1,22	1,80	3,52
C10:0	C10:0 Caprinsäure	1,17	0,20	0,89	1,09	1,12	1,06	1,42	1,79
C12:0	C12:0 Laurinsäure	8,28	7,19	7,28	7,98	8,41	7,99	9,50	11,05
C14:0	C14:0 Myristinsäure	4,43	4,18	4,27	4,35	4,47	4,45	4,72	2,43
C14:1	C14:1 Myristoleinsäure	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05
C15:0	C15:0 Pentadekansäure	0,10	0,10	0,09	0,10	0,05	0,11	0,09	0,05
C16:0	C16:0 Palmitinsäure	36,48	37,68	36,95	37,012	37,05	36,02	35,60	33,63
C16:1c	C16:1 c Palmitoleinsäure	0,22	0,40	0,19	0,22	0,19	0,23	0,20	0,57
C17:0	C17:0 Margarinsäure	0,13	0,10	0,11	0,14	0,05	0,12	0,11	0,20
C18:0	C18:0 Stearinsäure	5,09	2,21	5,02	5,06	4,93	5,31	4,67	5,05
C18:1n9c	C18:1 c Ölsäure	31,56	34,36	32,97	31,13	31,47	32,24	31,30	29,93
C18:2n6c	C18:2 Linolsäure	10,11	12,47	10,35	10,38	9,73	10,13	9,73	9,76
C18:3n6c	C18:3 Linolensäure	0,48	0,05	0,44	0,50	0,53	0,44	0,39	1,23
C20:0	C20:0 Arachinsäure	0,33	0,05	0,35	0,39	0,33	0,39	0,28	0,46
C22 :0	C22 :0 Behensäure	0,13	0,05	0,10	0,29	0,21	0,23	0,12	0,29
C12/C10		7,08	35,75	8,15	7,34	7,49	7,55	6,71	6,19
C14/C12		0,53	0,58	0,59	0,54	0,53	0,56	0,50	0,22
C16/C12		4,40	5,24	5,08	4,64	4,40	4,51	3,75	3,04
C 16/C14			8,23	9,02	8,65	8,52	8,30	8,10	7,54
13,84									
Kennzahl OL		-5,620	-8,141	-5,411	-5,790	-5,665	-5,558	-5,884	-7,312

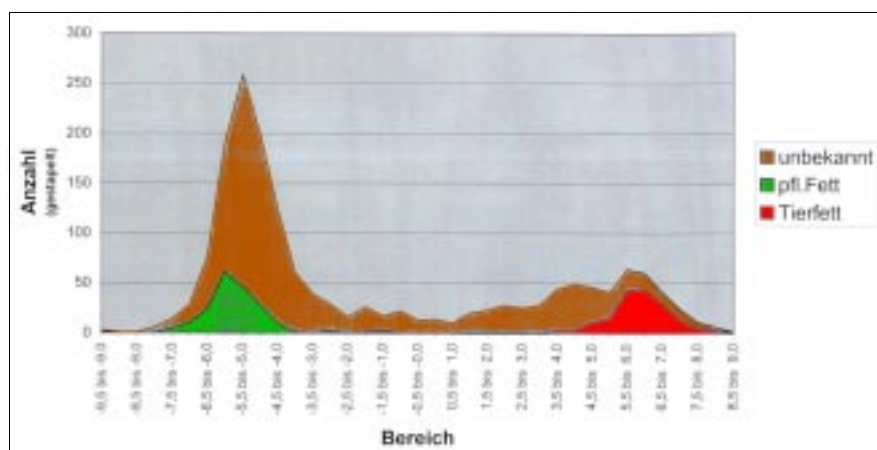


Abbildung 1: Kennzahlen Tierfett-Pflanzenfett (LUFA Nord-West)

in, dass Innereien bei der Mikroskopie Probleme machen (fehlende Knochensplitter). Carnosin Gehalt geringer als im Muskel. 0,5% Rinderinnereien werden erkannt. Ab 0,1% Muskel gibt es auch keine Probleme mehr. NG wurde verbessert.

- Verschiedene Verfahren sind grundsätzlich von Vorteil, liefern aber auch unterschiedliche Ergebnisse, die interpretiert werden müssen.
- Die Carnosin-Methode wird als Buchmethode veröffentlicht.

PCR (EGERT/Hamel)

- Es wurden 13 Mischfuttermittel und 4 Fettmuster untersucht.

- Den Futtermitteln waren unterschiedliche Konzentrationen definierter Tiermehle (Rind, Schwein, Huhn, Schaf und Hering) zugesetzt.
- Es wurde ein universeller und ein tierartenspezifischer Nachweis versucht.
- Das Screening erfolgte mittels 3er Primerpaare. Es sollten immer verschiedene Primerpaare und mehrere Ansätze verwendet werden.
- Universeller Nachweis: Probleme gab es nur beim Nachweis von Hering (0,1 und 0,5%). Fischmehl selbst machte kein Problem. Bei der Negativprobe kam es zu Verschleppungen. Wurde durch Hinweise in der Methode bereinigt. 2 falsche Ergeb-

nisse bei 0,1% Schwein vermutlich aufgrund mangelnder Routine eines Labors.

Ohne der Heringsproben wurden 92% der Proben richtig erkannt!

- Tierartenspezifischer Nachweis: Bei Schaf gewisse Probleme, da nur Restriktionsverdau aber keine spezif. Primer vorhanden. 92,4% richtig.
- Fettproben: Ergebnisse deutlich schlechter. Sehr viel falsch negative Ergebnisse. Liegt wahrscheinlich an der Extraktion der DNA.
- Vergleich der Ergebnisse mit Mikroskopie: Probleme bei Verwendung von Innereien (siehe Carnosin). Bei Heringsmehl lieferte aber Mikroskopie richtige Ergebnisse.
- RFLP erfordert mehr Erfahrung, ist zeitaufwendiger. Spezifische Primer einfacher.

Weitere Ringversuche

311Q - Bonner Enquete (Bonn/POTTAST)

- Es gab diesmal bei vielen Parametern und in allen Proben Probleme mit dem Analysenspielraum.

Tabelle 3: Bestimmung der B-Vitamine

VR [%]:					
Probe	B6	B2	B1	Nicotinsäureamid	Nicotinsäure
Blend	4	4	7		
Prämix	5	4	4	4	7
Spurenelementfutter	7	7	30	15	9,8

- Das Mineralfutter wird daher wiederholt (Lys, Met, Thr) und bereits vermahlen verschickt (0,5mm). Extraktion oder Aufschluss. Abgabe bis Ende Mai.

- Neue Bonner Enquete: 317Q Mineral-, Milchleistungs- und Putenfutter

314M - Nachweis von Mycotoxinen mittels ELISA (Freising/DANIER)

- Allgemeine Probleme stellen die Repräsentativität bzw. die Homogenität der Proben dar. Angaben zum mikrobiellen Status einer Probe sind oft aussagekräftiger. Mycotoxine liegen oft

gebunden vor und werden erst im Tier freigesetzt.

- Im Ringversuch wurden 9 Proben (18 Labors) untersucht. Gute Übereinstimmung HPLC/ELISA. Negative ELISA-Werte stimmten mit HPLC überein.

- DON: ELISA-Werte oft höher als die HPLC-Werte. 3 falsch positive Ergebnisse

- ZEA: NG liegt bei 50µg/kg. Mehr falsch + Ergebnisse.

- Streuung bei ELISA viel höher als bei HPLC: VR% 30 (DON) 40% (ZEA). Keine falsch negativen Proben.

- Coring-Test auf ZEA empfindlicher als R-Biopharm. NG für ZEA sollte auf 25µg/kg gesenkt werden. Platzierung der Proben und Kontrollen auf der Platte wichtig. Einwaage sollte an HPLC-Methode angepasst werden. Es ist nicht klar, ob die Tests auch für Mischfutter geeignet sind.

- Neuer Ringversuch 318M DON/ZEA

315M - Bestimmung von Nifursol (Hohenheim/SCHWADORF)

Methode ist ausformuliert. Neuer Ringversuch (319M) möglichst bald, da reges Interesse gegeben ist. 2 Proben (hoher und niedriger Gehalt). Besprechung bereits in Leipzig.

Bestimmung der B-Vitamine (Tab. 3)

- Die Ergebnisse aller Labors lagen < Referenzwert.

- B1/B6 mit FL-Detektor gut meßbar. Weniger Probleme als bei UV oder DAD.



