

Die Haltbarmachung der Lebensmittel durch konservierende Zusätze

W. Diemair

Zusammenfassung

Es wurden im allgemeinen die Konservierungsstoffe, ihre Aufgabe und Funktion betrachtet und ihre Einflußnahme auf die Lebensmittel, deren Farbe, Geruch und Geschmack und ihre Inhaltsbestandteile. Im besonderen werden einige der neuzeitlichen Konservierungsmittel besprochen, wie das Diphenyl, das o-Phenylphenol, die Sorbinsäure, und solche, die in eigenen jüngsten Untersuchungen studiert wurden, so der Pyrokohlensäurediäthylester und die schweflige Säure. Die Einflußnahme der schwefligen Säure auf biologische Lösungen wurde eingehend bearbeitet, vor allem bei Speichel, Magen- und Darmsäften, bei Leberhomogenisaten und bei Blut. Solche Untersuchungen erforderten eine Methode, bei der die physiologischen Bedingungen möglichst erhalten blieben, um eine Veränderung der schwefligen Säure durch äußere Einflüsse auszuschalten. Es wurde daher die Hemmung der Lactatdehydrogenase durch Sulfit nach *Pfleiderer* herangezogen. Von den untersuchten Magensäften zeigten die alkalischen und ein Teil der sauren eine Sulfitoxydation, wobei die Oxydation spontan erfolgte. Von einer A-Galle werden durchschnittlich 5,6 mg, von einer B-Galle 7,5 mg oxydiert. Ein Leberhomogenisat zeigt gleichfalls eine Sulfitoxydation, wobei von 100 g Leber 40 bis 60% des zugesetzten Sulfits oxydiert werden. Des weiteren wurde das Verhalten von Blut gegenüber Sulfit verfolgt und dabei festgestellt, daß eine eindeutige spektrale Veränderung bei reduziertem Hämoglobin, Methämoglobin und Hämin durch Sulfit nicht eintritt. Es wurde aber eine Beein-

Résumé

Un aperçu général est donné sur les produits de conservation, leur tâche et leur fonction ainsi que sur leur effet sur les denrées alimentaires, leur couleur, leur odeur, leur goût et leurs composants. En particulier, certains produits de conservation modernes sont discutés, tels que le biphényle, le o-phényl-phénol, etc. et d'autres, étudiés dans nos propres investigations récentes, tels que le pyro-diéthylester d'acide carbonique et l'acide sulfureux.

Les effets de l'acide sulfureux sur les solutions biologiques furent étudiés en détail, en particulier en ce qui concerne la salive, les sucs gastriques, les homogénéisats du foie et le sang. Ces recherches demandent une méthode qui maintient, dans la mesure du possible, les conditions physiologiques afin d'éliminer une modification de l'acide sulfureux par des influences extérieures. Pour le ralentissement de la lactat-déhydrogénase par le sulfite la méthode de *Pfleiderer* a été adoptée. Parmi les sucs gastriques examinés tous les sucs alcalins et une partie des sucs acides ont produit une oxydation spontanée de sulfite. Pour une bile A l'oxydation atteint en moyenne 5,6 mg et pour une bile B 7,5 mg. Pour 100 g de foie, une proportion de 40%-60% du sulfite ajouté est oxydée. L'étude de la réaction du sang au sulfite a révélé que le sulfite ne produit pas de modification spectrale nette en cas de diminution d'hémoglobine, de méthémoglobine et d'hémine.

D'autre part, on a constaté une influence sur le spectre protoporphyrine. Aucune

flussung des Protophyrinspektrums beobachtet. Eine Reaktion von Sulfit mit den Eiweißstoffen des Blutes und dem Globin konnte nicht festgestellt werden. Es wird eine schematische Darstellung über den möglichen Weg des Sulfits im Organismus gebracht, wonach das Sulfit nach der Resorption im Duodenum oder Dünndarm von der Pfortader zur Leber transportiert wird. Falls hier keine vollständige Oxydation stattfindet, gelangt das Sulfit auf dem Blutweg in die einzelnen Organe.

réaction du sulfite avec les albumines du sang et avec la globine n'a pu être décelée.

Le chemin possible du sulfite dans l'organisme est schématiquement représenté suivant lequel le sulfite serait transporté de la veine porte vers le foie après résorption dans le duodénum ou dans l'intestin grêle. Si une oxydation complète n'a pas lieu à cet endroit, le sulfite atteint les organes par la voie du sang.

Die fortschreitende Industrialisierung und die zwangsläufig mit der Zusammenballung großer Menschenmassen in den Städten eingetretene Massenverköstigung hat starke Eingriffe in die Ernährungsweise zur Folge. Das durch ausgewogene Ernährungsgewohnheiten bedingte ursprüngliche «physiologische» Gleichgewicht und der «biologische» Rhythmus sind gestört worden, wenn man bedenkt, daß man «im Essen» nunmehr eine Unterbrechung des Arbeitsprozesses sieht, die man schnell hinter sich bringen muß, damit um so mehr Zeit für Kino, Fernsehen, Tanzsaal und Sportplatz bleibt. Ist damit nicht eine Entwicklungsrichtung vorgezeichnet, die besorgniserregend ist? Wird es aber nicht zugleich selbstverständlich, daß der moderne Mensch nicht mehr mit Handmühlen im Haushalt sein Brotmehl gewinnen, im eigenen Garten naturgedüngtes Gemüse ziehen kann?

Dies muß mit aller Deutlichkeit herausgestellt werden, will man nur einen allgemein verständlichen Einblick in die neuzeitliche lebensmittelwissenschaftliche Forschung verschaffen. Es ist ein solcher Überblick um so reizvoller, als man geneigt ist, die technische Gewinnung der Lebensmittel und die sich von der ursprünglichen Art wegbewegenden Verfahren für eine große Zahl moderner Zivilisationskrankheiten verantwortlich zu machen. Man bedenkt aber zu wenig, daß die Ernährung zwar einen nicht unwesentlichen Faktor unseres Lebens darstellt, aber nur *einen*, und daß daneben die gesamten Umweltbedingungen: Lärm, Arbeitstempo, verschmutzte Luft, Nikotin- und Koffeingenuß und die sichtbare Abkehr von den bisherigen Lebensgewohnheiten auch in die Betrachtung einbezogen werden müssen.

Versuche zu einer Diskriminierung unserer Lebensmitteltechnik werden in der Tagespresse in bisweilen unverantwortlicher Weise unternommen, was nicht gerade zur Beruhigung der Verbraucherschaft beiträgt. Es fehlt auch nicht an Bemühungen, die Gefahren einer Industrialisierung anhand einer statistischen Erhebung über die anwesenden oder fehlenden wichtigen Inhaltsbestandteile eines Lebensmittels aufzuzeigen, wobei, kritisch beleuchtet, die *Ganzheitsbetrachtung* in den meisten Fällen vergessen wird. Die Vorgänge bei der Lebensmittelherstellung können für den Mediziner und Ernährungsphysiologen von hoher Bedeutung sein. Gedacht sei nur an die Konservierung der Lebensmittel,

die den jahreszeitlichen Nahrungsrhythmus aufzuheben bestrebt ist, sowie mit der technologischen Fertigung von früher selbsterstellten Nahrungsmitteln wie Suppen, Brot, Teige zu einer Vielfältigung der Ernährungsmöglichkeiten beiträgt. Betrachtet man das Haltbarmachen, so fällt die Vielzahl der möglichen technischen Maßnahmen auf, auf deren Einzelheiten hier einzugehen nicht meine Aufgabe ist; wir wollen uns ja vielmehr mit den *chemischen* Stoffen beschäftigen, die nach mühevollen Überlegungen in allen Teilen der Welt zur Haltbarmachung Verwendung finden. Die konservierenden Stoffe im engeren Sinn sind Stoffe gegen den mikrobiellen Verderb, also Stoffe, die bei der Gewinnung, Herstellung, Zubereitung oder Aufbewahrung dazu dienen, Mikroorganismen in ihrer Entwicklung zu hemmen oder abzutöten, wodurch das Verderben des Lebensmittels verzögert wird und das Lebensmittel länger genußtauglich erhalten bleibt. Da die konservierenden Stoffe selbst Bestandteile des Lebensmittels werden, ist ihre Verwendung nicht nur vom wirtschaftlichen, sondern auch vom gesundheitlichen Standpunkt aus von großer Tragweite. Es wird daher ihre Anwendung seit Jahrzehnten von den verschiedensten Sachverständigengremien erörtert. Auch auf internationaler Ebene hat seit dem Zweiten Weltkrieg eine Reihe von Wissenschaftlern die Frage der Lebensmittelzusatzstoffe bearbeitet, so die Expertenkommission für Lebensmittelzusätze der westeuropäischen Union und viele andere mehr (FAO, WHO).

Bei der Konservierung unterscheidet man zwischen bakteriziden und fungiziden und einer bakteriostatischen und fungistatischen Wirkung. Durch die erstgenannte werden die Mikroorganismen abgetötet, durch die letztgenannte in ihrem Wachstum, ihrer Vermehrung und Lebenstätigkeit gehemmt. So spricht man von steriler Vollnahrung und von Präserven und Halbkonserven.

Das *Absterben* der Mikroorganismen unter Konservierungsmitteln entspricht einer monomolekularen Reaktion, wobei für die einzelne Population die Gleichung gilt:

$$K = \frac{1}{t} \log \frac{\text{Zahl der lebenden Zellen bei Einwirkungsbeginn}}{\text{Zahl der überlebenden Zellen nach der Zeit } t}$$

Die Schädigung der Mikrozele und ihr Absterben beruht auf einer Störung des biochemischen Ablaufs der Lebensvorgänge über verschiedene Stufen physikochemischer Art mit einer Unterbrechung einer normalen Zellfunktion oder durch eine allmähliche oder sofortige Änderung des Wachstumsprozesses. Erwähnenswert ist noch die Tatsache, daß die Wirkung eines Konservierungsmittels durch Kombination mit einem anderen oder mit an sich unwirksamen Kombinationspartnern gesteigert werden kann.

Ehe nun einzelne Konservierungsstoffe aus der Fülle der verwendeten herausgegriffen werden, soll noch kurz etwas zu ihrem Einfluß auf die *Lebensmittel* gesagt werden. Der Einfluß kann vielfältig sein, wobei auch bestimmte Eigenschaften des Substrates von Bedeutung sein können, wie z.B. Wasserstoff-

Tabelle 1 Wirkungsmechanismus von Konservierungsstoffen und ähnlichen Verbindungen

Verbindung	Wahrscheinliche Wirkung
Kationen- und anionen- oberflächenaktive Stoffe	Zerstörung der Zellmembran Denaturierung von Fermentproteinen?
Phenole, Chlorphenole, Naphtholsulfonate, Zimtsäure	Zerstörung der Zellmembran Reaktion mit Proteinen des genetischen Mechanismus (?)
Fettsäuren, Alkohole, Langkettige Aldehyde	Zerstörung der Zellmembran Kompetitive Hemmung von Fermenten durch kurzkettige Fettsäuren
Chloressigsäure	Zellmembranwirkung. Kompetitive Hemmung (?)
Benzoate, Chlorbenzoate, Hydroxybenzoate u. ihre Ester	Zellmembranwirkung Wettbewerbsreaktion mit Coenzymen
Salicylat	Zellmembranwirkung. Wettbewerbsreaktion mit Cocymase. Kompetitive Reaktion mit enzymatisch zu verwertenden Aminosäuren
Borate	Reaktion mit Enzymen des Phosphatstoffwechsels
Schwefeldioxid, Natriumsulfit oder Natriumdisulfit	Reaktion mit beim Kohlenhydratabbau entstehenden Aldehyden. Reduktion von S-S-Brücken in Fermentpro- teinen
Chlor, Chloramine, Stickstoff- trichlorid, Peroxide, Nitrate und andere oxydierende Stoffe	Zerstörung von Sulfhydrylgruppen in Fermentproteinen (oder Genproteinen?)
Äthylenoxid und andere Epoxide	Reaktion mit Carboxylgruppen und anderen aktiven Grup- pen in Fermentproteinen. Oxydationswirkung
Fluoride, Silicofluoride und Fluoborate	Reaktion mit prosthetischen Gruppen Reaktion mit aktiven Gruppen in Fermentproteinen
Formaldehyd	Reaktion mit aktiven Gruppen in Fermentproteinen (oder Genen?)
Salze	Fällung von Fermentproteinen

Tabelle 2: Der Anteil an undissoziierter (antimikrobiell wirksamer) Säure in Abhängigkeit vom pH-Wert des Substrates für verschiedene Konservierungsstoffe

Konservierungsstoff	Dissoziations- konstante	Undissoziierter Anteil in % bei:					
		pH 2	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
Schweflige Säure	$1,7 \cdot 10^{-2}$	37	5,5	0,55	0,04	0,001	0,0000
Bromessigsäure	$2,05 \cdot 10^{-3}$	83	32,8	4,65	0,48	0,049	0,0049
Salicylsäure	$1,06 \cdot 10^{-3}$	90	49	8,6	0,94	0,094	0,0094
Ameisensäure	$1,77 \cdot 10^{-4}$	98,3	85,0	36,1	5,35	0,56	0,056
p-Chlorbenzoesäure	$9,3 \cdot 10^{-5}$	99	91	52	9,7	1,06	0,107
Benzoessäure	$6,46 \cdot 10^{-5}$	99,3	93,9	60,7	13,4	1,52	0,15
p-Hydroxybenzoesäure	$3,3 \cdot 10^{-5}$	99,7	96,8	75,2	23,2	2,94	0,30
Essigsäure	$1,8 \cdot 10^{-5}$	99,8	98,2	84,7	35,7	5,26	0,55
Sorbinsäure	$1,73 \cdot 10^{-5}$	99,8	98,3	85,2	36,6	5,46	0,57
Propionsäure	$1,4 \cdot 10^{-5}$	100	99	88	42	6,7	0,71
Dehydracetsäure	$5,3 \cdot 10^{-6}$	100	100	95	65	15,8	1,9
Hydrogensulfit	$1,02 \cdot 10^{-7}$	100	100	99,9	99,0	90,7	49,5
Borsäure	$7,3 \cdot 10^{-10}$	100	100	100	100	100	100

Ionenkonzentration, Tab. 1 und 2 (*W. Diemair* und *W. Postel* [1] 1965). So können *Farbe*, *Geruch* und *Geschmack*, also sinnlich wahrnehmbare Merkmale, getroffen werden, der Einfluß kann sich aber auch in tiefgreifenden Änderungen am Eiweiß und Kohlenhydrat, an Lipoiden, Vitaminen und Enzymen äußern und kann den Nährwert oder die Ausnutzbarkeit tangieren. Änderungen an *Geruch* und *Geschmack* können durch den Eigengeruch der Konservierungsmittel hervorgerufen werden, z. B. beim Diphenyl bei Zitrusfrüchten oder beim Trockenobst durch SO_2 , bei Krabben durch Borsäure. Eiweißstoffe können durch Formaldehyd oder Hexa formyliert oder gehärtet werden, auch Salicylsäure reagiert mit Proteinen. Durch H_2O_2 wird ein Teil des Milchcaseins, wahrscheinlich unter Oxydation des Tyrosins gespalten, Kohlenhydrate reagieren mit SO_2 , Lipide können durch Additions- und oxydative Vorgänge an den Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren geändert werden. Auch die Vitamine und Enzyme können beeinflußt werden; so wird das Vitamin B_1 durch SO_2 zerstört, die Vitamine A und C und Carotinoide werden durch Peroxyde geschädigt. Borsäure schädigt das Vitamin B_6 durch Komplexbildung, bei Enzymen kann es zur Reaktion zwischen den aktiven Gruppen des Moleküls und den Konservierungsstoffen kommen.

Ich möchte hier den Einfluß der Konservierungsstoffe auf den *Menschen* ausklammern und diese Betrachtung berufenerem Munde überlassen; doch darf ich zur Abrundung des Bildes darauf hinweisen, daß bei hohen Konzentrationen toxische Wirkungen eintreten können und daß solche Stoffe bedenklich sind, die von menschlichen Organen oder Geweben gespeichert werden, z. B. Borsäure.

Auch könnten bei der Aufnahme kleinster Mengen kumulative Wirkungen kommen; co-carcinogene Wirkungen sind bei ionogenen, oberflächenaktiven Verbindungen wie Tweens und Spans möglich. Selbst auch die Antigen-Wirkung ist erwähnenswert und die sekundäre Wirkung von Konservierungsstoffen, die eine Verminderung der Resorption essentieller Stoffe bewirken und damit die Beeinflussung der Darmflora und die Hemmung von Verdauungsfermenten.

Es sollen einige Konservierungsstoffe noch genauer betrachtet werden, weil sie als moderne uns täglich begegnen, wie das Diphenyl und das *o*-Phenylphenol und die Sorbinsäure, schließlich auch den Diäthylpyrokohlensäureester und die schon bei Homer erwähnte schweflige Säure, über die wir in jüngster Zeit Versuche anstellten (Tab. 3).

Diphenyl wird in großem Umfang wie das *o*-Phenylphenol anstelle des noxenerzeugenden Thioharnstoffs zur Konservierung von Zitrusfrüchten angewandt. Es verhindert deren Verderb durch Grün- und Blauschimmel sowie durch Pilze der Gattung *Diplodia*, welche im ersten Stadium des Verderbs eine bräunliche Verfärbung und lederartige Veränderung der Schale der Früchte hervorrufen. In einer Konzentration von 0,08 mg Diphenyl/l Luft wird bereits

Tabelle 3: Zugelassene Höchstmengen an Konservierungsstoffen

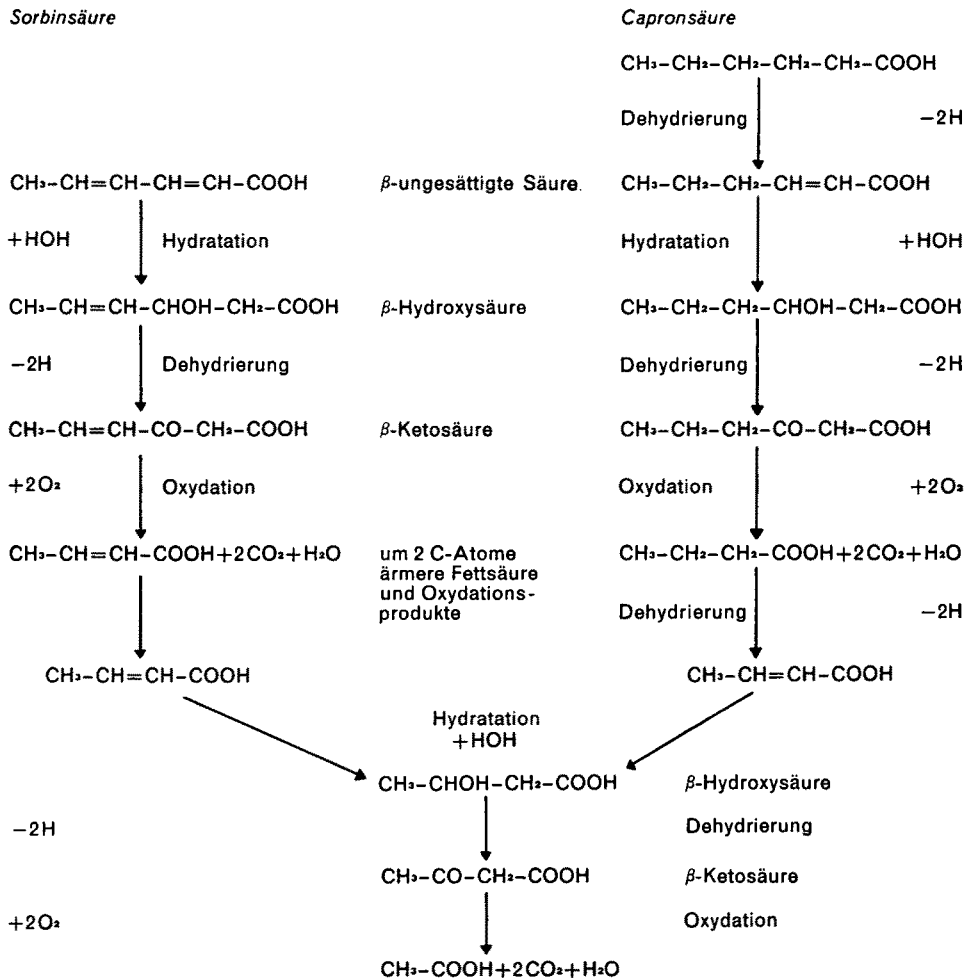
	normal (g/kg)	extrem (g/kg)	Oberfläche (g/dm ²)
Sorbinsäure.	1,0 bis 2,5	10,0 in Flüssigei 12,0 in Labpräparaten	0,1
Benzoessäure	1,0 bis 4,0	10,0 in Flüssigei 12,0 in Labpräparaten	0,1
PHB-Ester	0,6 bis 3,0	10,0 in Labpräparaten	0,1
Ameisensäure	0,3 bis 4,0	–	0,1
Hexamethylen- tetramin	0,25 bis 1,0	–	–

die Entwicklung der Mikroorganismen verhindert. Als Konservierungsmethode wird im allgemeinen die Imprägnierung des Verpackungsmaterials (Entwickler oder kragenartige Einsätze in Kisten) angewandt. Infolge seines hohen Dampfdruckes und seiner guten Löslichkeit in Wachs und in ätherischen Ölen verflüchtigt sich das Diphenyl und wird vor allem von der Schale aufgenommen. Auch im Fruchtfleisch und im Saft von mit Diphenyl behandelten Früchten können geringe Mengen an Diphenyl nachgewiesen werden. Auf Grund von Tierfütterungsversuchen kann gesagt werden, daß die von Menschen beim Genuß von geschälten Früchten aufgenommenen Mengen an Diphenyl gesundheitlich unbedenklich sind. Eine Kumulation von Diphenyl im Organismus ist nicht anzunehmen. Diphenyl wird in zahlreichen Staaten angewandt, Brasilien, Zypern, Israel, Italien, Spanien, Südamerikanische Union, Tripolis und USA. In den USA beträgt die höchst zulässige Menge 110 mg pro kg Frucht, in der Bundesrepublik darf der Gehalt 70 mg nicht überschreiten, in England darf ein Einwickler von 690 cm² nicht mehr als 40 mg Diphenyl enthalten. Beim o-Phenylphenol betragen die höchst zulässigen Konzentrationen pro kg Frucht in USA 10 mg, in England 70 mg, in Kanada 5 mg, in Schweden 5 mg, in der Bundesrepublik 10 mg. Die Anwendung erfolgt entweder durch Imprägnieren der Einwickler oder durch Tauchen der Früchte in wäßrige Lösungen oder durch Aufbringen auf die Schale mit Hilfe von Wachsen, Wachsemulsionen oder Harzen.

Die *Sorbinsäure*, die in Form ihres Lactons, der Parasorbinsäure, in den Früchten der Eberesche vorkommt, wurde vor über hundert Jahren im sogenannten «Vogelbeeröl» erstmals aufgefunden. Der Angriffspunkt der Sorbinsäure bei der Schädigung von Mikroorganismen liegt in der Hemmung lebenswichtiger Fermente und Fermentsysteme. Wegen ihrer Wirksamkeit gegen katalase-positive Schimmelpilze und Bakterien wurde die Einwirkung auf

Enzymsysteme wie Katalase, Cytochromoxydase und Glucoseoxydase studiert. An wachsenden Kulturen, intakten Zellsuspensionen und Enzympräparaten wurde eine Hemmung gegenüber der Fumarat-Oxydase und einer für den Fettstoffwechsel wichtigen Dehydrogenase sichergestellt; die letztgenannte Fermenthemmung tritt bei unphysiologisch hohen Konzentrationen auf. Im natürlichen Stoffwechsel wird Sorbinsäure ebenso wie andere Nahrungsfettsäuren verwertet und zu Kohlendioxyd und Wasser verbrannt oder zu Biosynthesen verwendet. Auf diesem gleichartigen Verhalten beruht die Unschädlichkeit der Sorbinsäure, wie sie auch aus dem Übersichtsbild hervorgeht (Abb. 1).

Abbildung 1



Die Sorbinsäure ist in zahlreichen Staaten zur Konservierung von gewissen Lebensmitteln zugelassen, so in USA, Kanada, Japan, Schweden, Norwegen, Dänemark, Belgien, Österreich und in der Bundesrepublik.

Der *Pyrokohlensäure-Diäthylester* (PKDE) wurde von *Boehm* und *Mehta* [2] 1938 zum erstenmal beschrieben und gezeigt, daß er in Kohlensäure und Diäthylcarbonat zerfällt. Mit Wasser soll die Verbindung unter Hydrolyse in Alkohol und Kohlendioxyd zerfallen, wobei aber immer geringfügige Mengen von Diäthylcarbonat verbleiben. Russische Autoren glaubten, daß PKDE in Schaumwein vorkommt und schrieben ihm eine Bedeutung bei der Bildung des Weingeschmackes zu. 1955 stellten die Bayerwerke Leverkusen eine gärfördernde Wirkung des PKDE fest, eine mikrobizide Wirkung gegen Hefen, Kahlhefen und Milchsäurebakterien und in höheren Konzentrationen auch gegen Schimmelpilze. Seit einigen Jahren beschäftigt der PKDE Chemiker, Technologen, Pharmakologen und Analytiker des In- und Auslandes, insbesondere als PKDE zur Konservierung von Getränken, vor allem von Wein, Bier, Most, Obstsaften und Fruchtsaftgetränken, vorgeschlagen wurde. Die erforderlichen Konzentrationen betragen etwa 200 bis 800 mg im Liter. Das Einbringen des PKDE in das Getränk erfolgt entweder in alkoholischer Lösung oder durch mechanische Verteilung mit besonderen Pumpen. Die antimikrobielle Wirkung des PKDE läßt nach dem Einbringen rasch nach, innerhalb einiger Stunden. Eine danach erfolgende Infektion oder ein Auskeimen vorhandener Sporen führt zum Verderb. Hier sei auch noch das Ergebnis eigener Untersuchungen erwähnt. Die infrarotspektroskopische Untersuchung zeigt, daß PKDE maximal 0,6% Diäthylcarbonat enthält. Eine gaschromatographische Reinheitsbestimmung ist nur *sehr* schwer möglich. Die quantitative gaschromatographische Bestimmung des Diäthylcarbonats in mit PKDE behandeltem Wein kann erst nach einer Anreicherung des Diäthylcarbonats erreicht werden. Seine Bestimmung in wäßrigen alkoholischen Lösungen verschiedener Konzentration ergab, daß das gebildete Diäthylcarbonat der Konzentration des Alkohols direkt proportional ist (*K. Leber* [3] 1963). Die Vermutung, daß Wein oder Schaumwein von Natur aus Diäthylcarbonat enthalten, kann eindeutig widerlegt werden. Gerade diese nebenbei entstehenden Mengen von Diäthylcarbonat und dessen Einwirkung auf die Inhaltsbestandteile von Mosten, Obstsaften, auf Eiweißstoffe und Vitamin C sind der Anlaß zu den noch bestehenden gewissen Bedenken bezüglich seiner Verwendung, so daß er zur Konservierung von Getränken in der Bundesrepublik nicht gestattet ist.

Die vor wenigen Tagen berichteten Untersuchungen medizinisch-physiologischer Art sagen aus, daß die Eiweiß- und Aminosäureaddukte im Magen-Darm-Traktus aufgespalten und die l-Ascorbinsäureaddukte im intermediären Stoffwechsel abgebaut werden.

Es bestünden daher von medizinischer Seite aus keine Bedenken gegen die Verwendung von PKDE, wenn derselbe in Wein, Bier, Obst- und Gemüse-

säften, Fruchtsäften und fruchtsafthaltigen Getränken verwendet würde und nach zehnstündiger Einwirkung nicht mehr als 1 ppm unzersetzten PKDE und 10 ppm Diäthylcarbonat im Getränk vorlägen. Trotz dieser als duldbar anzusehenden Mengen hat noch der Gesetz- und Verordnungsgeber das letzte Wort zu sagen. Hier werden sich nach meinem Dafürhalten noch nicht übersehbare Diskussionen erheben, wenn allein schon die Frage nach den unphysiologischen l-Ascorbinsäureaddukten oder diejenige nach dem technischen Bedürfnis in die Debatte geworfen wird.

Wenn auch gewerbehygienische Bedenken nicht hierher gehören, so muß doch angeführt werden, daß der unverdünnte PKDE nicht unbeträchtliche gewebescheidende Wirkung aufzeigt. Die Berührung der Substanz mit der menschlichen Haut, die Inhalation der Dämpfe sowie deren Einwirkung auf die Augenbindehaut führen zu Reizerscheinungen.

Am Schluß noch einige Betrachtungen zur *schwefligen Säure*. Über die Verträglichkeit der schwefligen Säure durch den Menschen berichtet Lang [4] 1960 anhand zahlreicher erschienener Veröffentlichungen. Wurden Beschwerden nach Einnahme der schwefligen Säure festgestellt, so waren es immer die gleichen: Magenbeschwerden, Durchfälle, Kopfschmerzen. Dabei fiel der große Unterschied in der Dosierung auf. Es wurden 2000 bis 650 mg SO_2 symptomlos vertragen, während Mengen von 500 mg bis 10 mg Beschwerden verursachten. Man schätzt daher, daß 10 bis 20% der Konsumenten auf schweflige Säure mit subjektiven Beschwerden reagieren, wenn es zu einer Erhöhung der erlaubten SO_2 -Mengen kommt. Über den Ort der Oxydation der schwefligen Säure im Organismus erschienen umfangreiche Arbeiten von amerikanischen Autoren, welche zunächst die Oxydation des S aus den S-haltigen Verbindungen verfolgten, z. B. Cystein, Cysteinsulfosäure, Sulfanyl-brenztraubensäure zum Sulfit. Fridowich und Handler [5] 1954–1961 gelang die Oxydation von SO_2 mit Leberpräparaten von Schweinen und Rindern; sie sind der Meinung, daß nur die mitochondriale Fraktion von Organen imstande sei, die SO_2 -Oxydation zu katalysieren. Das Rinderleberenzym ist ein Hämprotein, dessen Absorptionsspektrum vergleichbar ist mit dem von Cytochrom 5. Da bei der Oxydation von SO_2 H_2O_2 gebildet wird, kann ein Flavin oder eine chinoiden Gruppe an der Reduktion des Sauerstoffs teilnehmen. Sie stellten weiterhin fest, daß Xanthinoxidase die Oxydation von SO_2 in einer freien Radikalkettenreaktion auslösen kann. Bei nochmaliger Überprüfung der sulfitspezifischen Oxydase konnte gezeigt werden, daß die Sulfitoxydase das Sulfit unter H_2O -Bildung oxydiert. Hämoglobin, das auch in dem Extrakt noch enthalten ist, besitzt peroxydatische Aktivität. Wie Peroxydase in Gegenwart von Peroxyden reaktive Radikale erzeugt, so soll diese eine schnelle Kettenreaktion zwischen Sulfit und Sauerstoff auslösen können. Soviel zur Einführung, welche auf die eigenen Versuche hinweisen und diese verständlicher machen sollen. Es konnte gezeigt werden, daß innerhalb von 4 Stunden 55% der als Metabisulfit mit einer Magensonde eingebrachten

Schwefelmenge im Harn als Sulfit erscheinen. Im Gegensatz aber wurden von dem eingebrachten Thiosulfat nur 23% und vom Sulfat nur 7% im Harn ausgeschieden. Das Metabisulfit wird also schneller vom gastrointestinalen Trakt resorbiert als Thiosulfat und Sulfat. Was passiert aber mit den restlichen 45%; war die Resorptionsgeschwindigkeit doch nicht so groß, daß innerhalb von vier Stunden alles Metabisulfit resorbiert werden konnte oder erfolgte im Magen-Darm-Traktus eine Sulfitoxydation zu Sulfat, dessen Resorption erwiesen gering ist?

Zur Klärung sollten Sulfit in vitro-biologischen Flüssigkeiten, Speichel, Magen-Darmsaft, zugegeben und die Oxydation verfolgt werden. Daneben wurde auch das Verhalten von Leberhomogenisat und Blut gegenüber SO_2 studiert. Diese Untersuchungen erforderten eine Methode, bei der die physiologischen Bedingungen möglichst erhalten blieben, um eine Veränderung der schwefligen Säure durch äußere Einflüsse auszuschalten.

Es wurde die Hemmung der Laktatdehydrogenase durch Sulfit nach Pfeleiderer [6] 1957 herangezogen. LDH katalysiert die Reaktion:



Die Reaktion wird im Photometer bei 366 nm verfolgt und die Zeit gestoppt, bei der die Extinktion von DPNH um 0,1 abnahm. Die Enzymaktivität ließ sich bei 0,1–10 γ SO_2 hemmen. Je 100 ml Speichel von sechs Versuchspersonen hatten nach einer Inkubationszeit von 10 Minuten bei 37° 0,88–2,76 mg SO_2

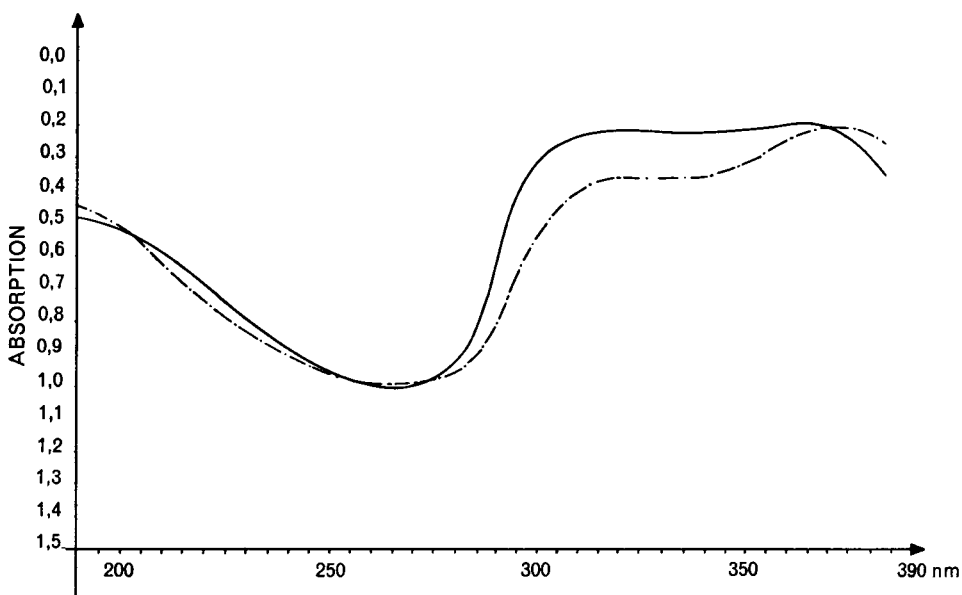


Abbildung 2 UV-Spektrum von 0,1 ml Blut in 10 ml H_2O , reduziert mit Stokes Reagenz und 1:10 verdünnt

----- ohne SO_2 ————— mit 10 mg SO_2

oxydiert; die oxydierten Mengen waren von der Art, aber nicht vom pH-Wert des Speichels abhängig.

Von den untersuchten *Magensäften* zeigten sämtliche alkalische und ein Teil der sauren eine Sulfitoxydation, wobei die Oxydation spontan erfolgte. Durchschnittlich werden 5,10 mg SO₂ oxydiert.

Von 100 ml *A-Galle* werden durchschnittlich 5,6 mg SO₂, von 100 ml *B-Galle* durchschnittlich 7,5 mg oxydiert, so daß von 100 ml *Duodenalsaft* 5–7,5 ml SO₂ oxydiert werden. Es wird angenommen, daß es sich bei der Oxydation des Sulfits um eine Autoxydation handelt, diese muß aber vom Magen- und Duodenalsaft katalysiert werden, da eine alkalische Lösung von Biliverdin und Bilirubin *keine* Sulfitoxydation, selbst nach einer dreistündigen Inkubationszeit zeigte.

Leberhomogenisat zeigt eine Sulfitoxydation, welche immer bei gleicher Lebermenge mit doppelter Sulfitoxydation um das Doppelte zunahm. Von 100 g Leber wurden 40 bis 60% des zugesetzten Sulfits oxydiert (*W. Diemair* und *I. Engelhardt* [7] 1965).

Die vom Blut oxydierten Mengen Sulfit wurden von dem Sauerstoff oxydiert, der bei der Destillation durch Denaturierung des Hämoglobinmoleküls

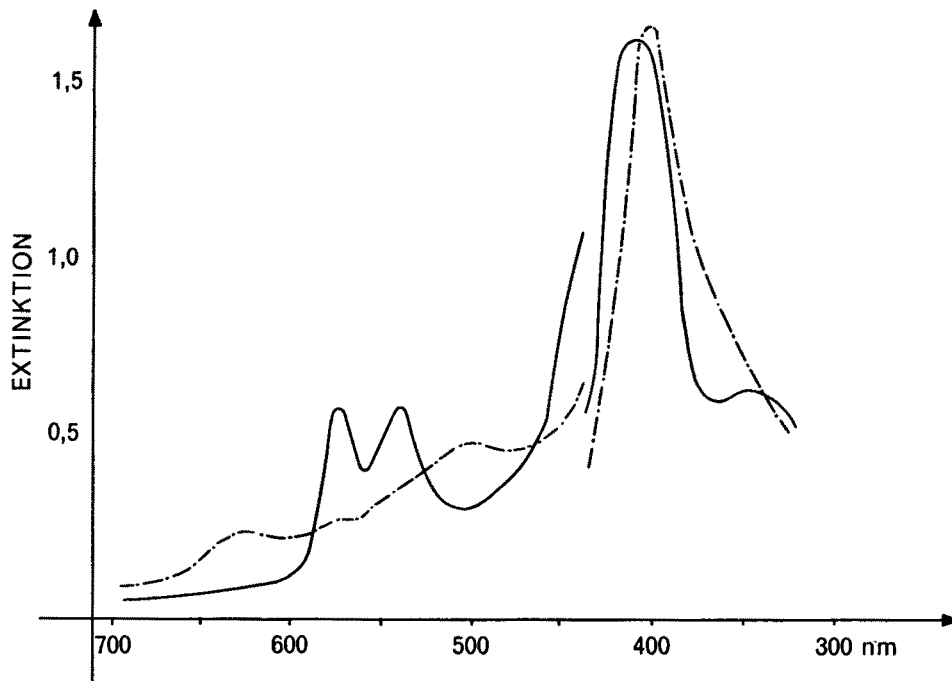


Abbildung 3 0,05 ml Blut in 10,0 ml Wasser
 ————— ohne SO₂ - - - - - mit 10 mg SO₂ nach 24 Stunden
 Soretbande 1:2 verkleinert

in Freiheit gesetzt wurde. Der freiwerdende Sauerstoff setzte sich quantitativ mit dem Sulfit um. Im Warburg-Gerät wurde bei sulfitbehandeltem Blut keine vermehrte Sauerstoffaufnahme beobachtet.

Mit Sulfit versetzte Blutproben wurden spektralphotometrisch untersucht, um nachzuweisen, ob eine Oxydation des Sulfits auch erfolgen kann, wenn das Oxyhämoglobinmolekül intakt ist. In gepufferten, verdünnten Blutlösungen wurde das Oxyhämoglobin erst ab 4,0 g SO₂ pro 100 ml Blut reduziert. Eine Oxydation des Sulfits unter physiologischen Bedingungen ist daher nicht anzunehmen (Abb. 2 und 3).

Eindeutige spektrale Veränderungen bei reduziertem Hämoglobin, Methämoglobin und Hämin durch Sulfit, die auf eine Ligandenbindung des Sulfits an das Eisenzentrum schließen lassen, konnten nicht beobachtet werden. Es wurde aber eine Beeinflussung des Protopyrinspektrums festgestellt.

Eine Reaktion von Sulfit mit den Eiweißstoffen des Blutes und dem Globin selbst, die in einer Zunahme von SH-Gruppen durch Sprengung von Disulfidverbindungen resultierte, konnte mit den angewandten Methoden nicht festgestellt werden.

Eine schematische Darstellung über den möglichen Weg des Sulfits im Organismus zeigt das Dia, wonach das Sulfit nach der Resorption im Duodenum oder Dünndarm von der Pfortader zur Leber transportiert wird. Falls hier keine vollständige Oxydation stattfindet, gelangt das Sulfit auf dem Blutweg in die *einzelnen* Organe, deren Reihenfolge punktiert gezeichnet wurde.

Literatur

- [1] Diemair W. und Postel W.: Konservierungsstoffe. Handbuch der Lebensmittelchemie, Bd. I, Springer-Verlag, 1965.
- [2] Boehm T. und Mehta D.: Ber. dtsch. chem. Ges. 71, 1797 (1938).
- [3] Leber G.: Diplomarbeit Universität Frankfurt a.M. 1963.
- [4] Lang K.: Die physiologischen Wirkungen von schwefliger Säure. Schriftenreihe des Bundes für Lebensmittelrecht und Lebensmittelkunde, Heft 31 (1960).
- [5] Fridovich I. und Handler Ph.: Fed. Proceed 13, 212 (1954); ebenda 14, 214 (1955); J. Biol. Chem. 221, 323 (1956); ebenda 223, 321 (1956); ebenda 228, 67 (1957); ebenda 233, 1581 (1958); ebenda 236, 1836 (1961).
- [6] Pfeleiderer G., Jeckel D. und Wieland Th.: Biochem. Z. 328, 187 (1956); ebenda 329, 112 (1957); ebenda 330, 296 (1958); ebenda 329, 370 (1957).
- [7] Diemair W. und Engelhardt I.: Z. f. Ernährungswissenschaft, im Druck.

Adresse des Autors: Prof. Dr. Dr. W. Diemair, Universitäts-Institut für Lebensmittelchemie, Frankfurt a.M.