

# Indol als möglicher Indikator für nicht einwandfreie hygienische Be- bzw. Verarbeitung tropischer Garnelen

Katrin Oetjen; Jörg Oehlenschläger, Institut für Biochemie und Technologie

Wie verschiedene andere Lebensmittel, z.B. Kaffee, Tee und exotische Früchte, werden tropische Garnelen aus Ländern importiert, deren ökonomische und technologische Entwicklung teilweise unter dem Standard der EU liegt. Im Gegensatz zu Kaffee oder Tee handelt es sich bei Garnelen um eine extrem leicht verderbliche Ware. Um Qualitätseinbußen insbesondere durch mikrobiellen Verderb zu vermeiden, sind auf dem Weg der Garnelen vom Fang bis zum Endprodukt hohe Anforderungen an die hygienischen Bedingungen und an die Kühlkette zu stellen. Sind die Garnelen jedoch erst einmal im Bestimmungsland, kann die Einhaltung dieser Anforderungen bei der Herstellung rückwirkend nicht mehr direkt überprüft werden. Es bleibt lediglich die Möglichkeit, auf indirektem Wege mittels chemischer, mikrobieller und sensorischer Untersuchungen am Enderzeugnis Hinweise auf Mängel zu erhalten.

Tropische Garnelen sind auch in Deutschland ein beliebtes Lebensmittel. Wie der Name bereits sagt, werden diese Garnelen in tropischen und subtropischen Ländern wie Thailand, Indonesien, Bangladesch, Burma, Chile usw. gefangen bzw. in Aquakulturen gezüchtet. Da Garnelen einerseits sehr rasch verderben, andererseits die Umgebungstemperaturen in diesen Ländern recht hoch sind, ist es besonders wichtig, vor und während der Verarbeitung eine lückenlose Kühlkette einzuhalten sowie mikrobielle Kontaminationen der empfindlichen Ware zu vermeiden.

Bei einer Unterbrechung der Kühlkette kommt es sehr schnell zur Vermehrung von Bakterien. Diese zersetzen die einzelnen Bestandteile der Garnelen wie z.B. das Eiweiß, d. h. daß die Garnelen verderben. Durch Verarbeitungsverfahren wie Kochen und Tiefgefrieren wird ein Großteil der Bakterien jedoch getötet, so dass beim Import der Garnelen ehemals hohe Keimzahlen oft nicht mehr nachweisbar sind. Anders ist es mit chemischen Substanzen wie z.B. Indol, welche im Bakterienstoffwechsel gebildet worden sind, bevor die Bakterien abgetötet wurden. So wird der Indolgehalt von Garnelen – abgesehen von sehr hohen Gehalten – durch Kochen oder Tiefgefrieren nicht wesentlich beeinflusst (Chang et al. 1993; Duggan und Strasburger 1946). Indol wird bevorzugt von einigen Bakterien-Arten wie z. B. *Escherichia coli*, *Vibrio parahaemolyticus* oder *Proteus vulgaris* beim Abbau des Eiweißes gebildet. Dabei wird ein Eiweißbaustein, die Aminosäure Tryptophan, in Indol und andere Zersetzungsprodukte wie Ammoniak gespalten (Abbildung 1). Eine Bildung von Indol in sterilen Garnelen konnte dagegen nicht nachgewiesen werden (Smith et al. 1984). Wie aus der Literatur hervorgeht, findet die Indolbildung verstärkt bei erhöh-

ten Temperaturen (Temperaturen über 10 °C) statt. Während bei der Lagerung auf Eis bzw. bei 0 °C von frischen Garnelen Indolgehalte von 180 µg/kg erst nach 13 Tagen oder sogar 50 µg/kg erst nach 16 bzw. 22 Tagen erreicht wurden (Shamshad et al. 1990; Thomas et al. 1995), wurden bei Lagertemperaturen von 20 bis 25 °C Indolgehalte von 250 µg/kg bereits nach 12 bis 18 bzw. nach 24 Stunden (Chang et al. 1983; Shamshad et al. 1990; Thomas et al. 1995) erreicht. Zu diesem Zeitpunkt wurden die Garnelen aufgrund der sensorischen Beurteilung, der Keimzahl und / oder des TVB-N-Wertes als verdorben eingestuft.

Aufgrund der verstärkten Indolproduktion bei erhöhten Temperaturen kann ein hoher Indolgehalt als Indikator für eine deutliche Unterbrechung der Kühlkette vor oder während der Verarbeitung, aber auch als Hinweis auf nicht hygienisch einwandfreie Be- und Verarbeitung dienen. Ein niedriger Indolgehalt bedeutet da-

## Indole as a possible indicator for a deficiently hygienic treatment of tropical shrimps

Indole concentrations of 114 samples of tropical shrimp, 3 samples of crayfish, and 3 samples of cold water crustaceans were determined. Cold water crustaceans contained less than 15 µg/kg indole, whereas crayfish contained between 62 and 123 µg indole/kg. In 81 samples (70 %) of tropical shrimp indole content was less than 50 µg/kg, but in 12 samples (11 %) indole content exceeded 250 µg/kg. Different batches of some products with high indole levels as well as of some products with low indole levels were analysed. Except for one sample high as well as low indole levels could be confirmed. Highest indole concentrations were determined in samples which origin was specified as South Pacific, Indo-Pacific, Malaysia, India and India/Vietnam.

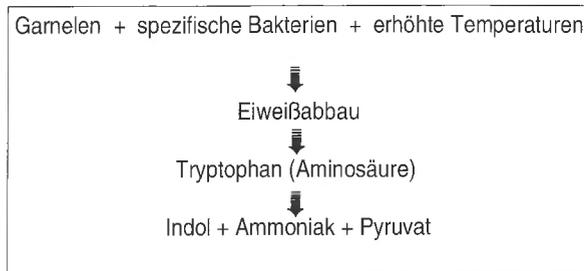


Abbildung 1: Entstehung von Indol.  
Generation of indole.

gegen nicht, dass die Garnelen frisch sind oder am Ende der Verarbeitung einen geringen Keimgehalt hatten, da nicht alle Bakterien Indol bilden und die Indolbildung bei tiefen Temperaturen nur gering ist.

Weder in der EU noch in Deutschland gibt es einen Grenzwert für den Indolgehalt. In den USA wird der Indolgehalt jedoch zur Bestätigung der sensorischen Beurteilung von Garnelen herangezogen. Dabei unterstützen Indolgehalte über 250 µg/kg den sensorischen Befund „verdorben“.

## Material

Insgesamt wurden 114 Proben tropischer Garnelen, 3 Proben Flusskrebsfleisch, 1 Probe Nordmeergarnelen (*Pandalus borealis*), 1 Probe Nordseegarnelen (*Crangon crangon*) sowie 1 Probe Kaisergranat (*Nephrops norvegicus*) untersucht. Ein Großteil der Proben wurden vom Hamburger Fischmarkt bezogen bzw. von verschiedenen Firmen zur Verfügung gestellt. Insgesamt 13 Proben wurden dem Einzelhandel entnommen.

Die Warmwasser-Garnelen kamen zum großen Teil aus Thailand (36 Proben). Weitere Herkunftsländer waren Bangladesch (6), Burma (4), Indien (7), Indonesien (9), Malaysia (8), China (1), Sri Lanka (1), Vietnam (2), die Philippinen (1), Chile (7) und Senegal (1). Bei einigen Produkten war die Herkunftsangabe nicht angegeben oder ungenau (z.B. Ostasien). Die untersuchten Garnelenprodukte umfassten die Verarbeitungsstufen roh, ganz – roh, ohne Kopf, mit Schale – roh, geschält sowie gekocht, geschält. Der überwiegende Teil der tropischen Garnelen war tiefgefroren (glasiert oder als Block), einige waren auf Eis (8) oder mit Konservierungsstoffen versehen und gekühlt gelagert (11).

Unter den tropischen Garnelen befanden sich einige Proben, die sich lediglich in der Chargen-Nummer oder dem Mindesthaltbarkeitsdatums (MHD) unterschieden, während alle übrigen Parameter wie Größe, Verarbeitung, Herkunft und insbesondere die Exportregister-Nummer gleich waren. Diese Proben wurden als ge-

trennte Proben behandelt, da bei unterschiedlichen Chargen durchaus verschiedene Einflüsse wirksam werden können. Proben, die sich auch in den Chargennummern und / oder dem MHD nicht unterschieden, wurden als eine Probe gezählt und für die Auswertung wurde der Mittelwert herangezogen.

## Methode

Zur Bestimmung der Indolgehalte wurde die AOAC-Methode von Chambers und Staruszkiewicz modifiziert (Chambers und Staruszkiewicz 1981; AOAC International 1995). Sie basiert auf der Extraktion des homogenisierten Garnelenfleisches mit Methanol und anschließender Bestimmung mittels Reversed-Phase-Hochleistungsflüssigchromatographie und Fluoreszenz-Detektion. Die Angabe der Indolgehalte erfolgt in µg/kg Feuchtgewicht bezogen auf den essbaren Anteil.

## Ergebnisse und Diskussion

### Übersicht

Die Indolgehalte der Krebstiere aus kalten Gewässern (Nordseegarnele, Nordmeergarnele und Kaisergranat) lagen unter der Bestimmungsgrenze von 15 µg/kg. Bei den 3 Proben Flusskrebsfleisch waren mit 62–123 µg/kg bereits höhere Indolwerte feststellbar. Um die Ergebnisse der tropischen Garnelen übersichtlicher darzustellen, wurden die Proben nach ihrem Indolgehalt in 4 Klassen eingeteilt (Indolgehalte < 50 µg/kg, 50–100 µg/kg, 101–250 µg/kg und > 250 µg/kg). Abbildung 2 zeigt, wieviel Proben den einzelnen Klassen zuzuordnen sind bzw. deren prozentuale Anteile.

81 Proben (70 %) hatten mit weniger als 50 µg/kg nur geringe Indolgehalte. 10 Proben (9 %) enthielten 100 bis 250 µg/kg Indol, 12 Proben (11 %) über 250 µg/kg.

Tabelle 1 zeigt die einzelnen Proben mit einem hohen Indolgehalt. Es ist zu sehen, dass bei einigen Produkten (in verschiedenen Chargen) wiederholt hohe Indolge-

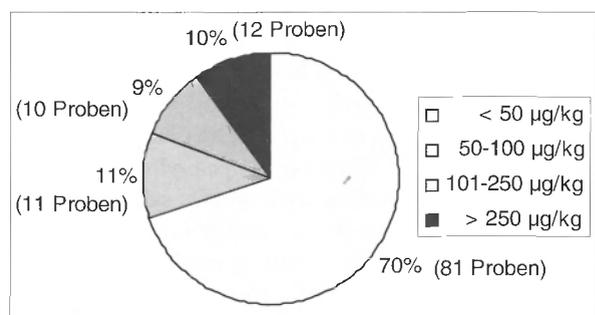


Abbildung 2: Verteilung der Indolgehalte, n = 114.  
Distribution of the indole concentrations, n = 114.

Tabelle 1: Proben, deren Indolgehalt über 250 µg/kg überstieg. *Samples with an indole content of more than 250 µg/kg.*

Bezeichnung	Größe	Angebotsform	Lagerung	Herkunft	Indolgehalt [µg/kg FG]
Cocktail-Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Indien	289
Cocktail-Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Indien / Vietnam	451
Cocktail-Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Indien / Vietnam	259
Cocktail-Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Süd-Pazifik	704
Krabben in Lake	200/300	gekocht, geschält	0° - +5°C in Lake	Indien	384
Krabben in Lake	200/300	gekocht, geschält	0° - +5°C in Lake	Indien	272
Pacific-Krabben		gekocht, geschält	+2° - +7°C	Indo-Pazifik	285
Riesen-Tiefsee-Shrimps	100/200	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Süd-Pazifik	284
Tiefsee Pazifik Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Malaysia, gekocht in Belgien	1000
Tiefsee Pazifik Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Malaysia, gekocht in Belgien	894
Tiefsee Pazifik Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Malaysia, gekocht in Belgien	500
Tiefsee Pazifik Shrimps	300/500	gekocht, geschält	tiefgefroren, glasiert	Malaysia, gekocht in Belgien	540

halte nachgewiesen worden sind, was das Gesamtbild ein wenig verzerrt. Andererseits gibt es auch im Bereich der niedrigen Indolgehalte Produkte, bei denen die Untersuchung unterschiedlicher Chargen wiederholt niedrige Indolgehalte ergab (Oetjen und Oehlenschläger 2000). Werden alle Ergebnisse zusammengefasst, die eindeutig von unterschiedlichen Chargen des gleichen Produktes stammen, so wird die Probenzahl auf 93 tropische Garnelen reduziert, von denen bei 6 Produkten (6 %) Indolwerte über 250 µg/kg ermittelt wurden. Da jedoch aufgrund fehlender Informationen eine derartige Zusammenfassung von Ergebnissen nicht vollständig ist, ergibt auch diese Vorgehensweise kein repräsentatives Bild.

Im Vergleich zu Untersuchungen, die 1991 vom niederländischen Regional Inspectorate for Health Protection durchgeführt wurden, bei denen von 186 auf Indol untersuchten Proben 45 % Indolgehalte über 250 µg/kg aufwiesen (Jonker et al. 1992), ist bei der vorliegenden Untersuchung der Anteil von Garnelen mit einem hohen Indolgehalt relativ gering. Dagegen entsprechen die vorliegenden Ergebnisse eher einer umfangreichen Untersuchung, die in Belgien im Auftrag des Instituut voor

Veterinaire Keuring von 1989 bis 1991 durchgeführt wurde (Vanhuynne et al. 1992). In dieser Studie wurden bei 13 % (65 Proben) der untersuchten tropischen Garnelen Indol-Gehalte über 250 µg/kg nachgewiesen. In keiner dieser Veröffentlichungen werden jedoch Informationen gegeben, ob oder in welchem Ausmaß verschiedene Chargen eines Produktes untersucht worden sind und ob gezielt bestimmte Proben für die Indoluntersuchung ausgewählt wurden.

**Untersuchung verschiedener Chargen eines Produktes**

Der Untersuchung verschiedener Chargen eines Produktes kann zwar einerseits das Gesamtbild etwas verzerren, andererseits geben diese Wiederholungsuntersuchungen wichtige Hinweise, ob es sich bei erhöhten Indolgehalten um einmalige Fehler vor oder während der Verarbeitung handelt, oder aber ob grundsätzliche Mängel als Ursache in Betracht kommen. Mit einer Ausnahme konnten in dieser Untersuchungsreihe alle Wiederholungsmessungen die zuvor gemessenen Indolwerte bestätigen, d.h. entweder waren die Werte eines Produktes immer niedrig oder immer hoch. Dies deutet eher auf grundsätzliche als auf zufällige Mängel hin.

**Indolgehalte - Herkunft**

Bei den Garnelen mit Indolgehalten über 250 µg/kg handelte es sich um gekochte und geschälte Ware mit kleinen Größensortierungen. Als Herkunftsländer waren Indien, Vietnam, Malaysia oder die unspezifischen Regionen Indo- oder Süd-Pazifik angegeben. Um einen möglichen Zusammenhang zwischen der Herkunft und dem Indolgehalt der Garnelen zu erkennen, wurden die Indolgehalte der Garnelen nach Ländern zusammengefasst. Diese Zusammenstellung ist in Tabelle 2 zu sehen. Auch wenn die Probenzahlen für die einzelnen Ländern z.T. sehr niedrig sind, deuten die Ergebnisse daraufhin, dass die Wahrscheinlichkeit, eine Probe mit einem hohen Indolgehalt aus Thailand zu bekommen geringer ist, als aus Indien oder Malaysia. Dies entspricht den Ergebnissen der bereits zitierten belgischen Untersuchung (Vanhuynne et al. 1992), bei der alle 23 thailändischen Proben weniger als 250 µg Indol/kg enthielten, während in 5 (31 %) von 16 Proben aus Malaysia und in 2 (17 %) von 12 Proben aus Indien Indolgehalte über 250 µg/kg nachgewiesen werden konnten. Allerdings wurden auch bei 28 (18 %) von 156 Proben aus Bangladesch Indolgehalte über 250 µg/kg festgestellt. Dagegen lagen in der vorliegenden Untersuchung die Indolgehalte aller 6 Proben aus Bangladesch mit einem Maximalwert von 39 µg/kg deutlich unter 250 µg/kg. Eine mögliche Ursache könnte sein, dass die hygienischen Bedingungen sich in Bangladesch aufgrund des EU-Importverbotes vom 30. Juli 1997 deutlich verbessert haben (Cato und Lima dos Santos 1998).

Tabelle 2: Zusammenstellung der Indolgehalte nach Ländern.  
 Overview of indole concentrations by countries.

	Malaysia	Indien / Vietnam	Süd-Pazifik	Indien	Indo-Pazifik	Sri Lanka	Vietnam	Indonesien	China	Ostasien	Chile	Bangladesch	Burma	Thailand	Senegal	Philippinen	ohne Angabe
Mittelwert [µg/kg FG]	404	355	316	194	123	97	45	53	29	29	20	19	17	16	6	2	32
Minimum [µg/kg FG]	2	259	102	10	44	97	2	5	29	10	2	2	2	2	6	2	2
Maximum [µg/kg FG]	1000	451	704	384	285	97	124	165	29	53	45	39	47	74	6	2	177
N	8	2	4	7	5	1	3	9	1	6	7	6	4	30	1	1	19

## Weitere Untersuchungen

Um die bisherigen Ergebnisse zu überprüfen und um mögliche Zusammenhänge zwischen dem Indolgehalt und weiteren Parametern (Aquakultur, Wildfänge, Jahreszeit der Verarbeitung, Verarbeitungsform, den sensorischen Eigenschaften der Garnelen etc.) aufzudecken, sollen weitere Untersuchungen durchgeführt werden. Dabei ist es sehr wichtig, zu überprüfen, inwieweit beim Verkauf der Garnelen im Bestimmungsland eine Korrelation zwischen dem Indolgehalt und der sensorischen Qualität vorhanden ist.

## Zusammenfassung

Es wurden insgesamt 114 Proben tropischer Garnelen, 3 Proben Flusskrebisfleisch, 1 Probe Nordseegarnelen, 1 Probe Kaisergranat und 1 Probe Nordmeergarnelen auf ihren Indolgehalt untersucht. Die 3 Produkte mit Krebstieren aus kalten bzw. gemäßigten Gewässern hatten Indolgehalte unter 15 µg/kg. Dagegen konnten in den 3 Proben Flusskrebisfleisch Indolkonzentrationen zwischen 62 und 123 µg/kg nachgewiesen werden. Bei den tropischen Garnelen wurde in 81 Proben (70 %) weniger als 50 µg Indol/kg bestimmt, während in 12 Proben (11 %) der Indolgehalt über 250 µg/kg lag. Sowohl von einigen Produkten mit hohen als auch von einigen Produkten mit niedrigen Indolgehalten wurden verschiedene Chargen untersucht, welche – mit einer Ausnahme – die erhöhten bzw. niedrigen Indolkonzentrationen bestätigen konnten. Die höchsten Indolgehalte wurden aus Proben mit den Herkunftsangaben Süd- bzw. Indopazifik, Malaysia, Indien und Indien/Vietnam festgestellt.

## Zitierte Literatur

AOAC International: Fish and other Marine Products., In: Cunniff, P. (ed.): Official methods of Analysis of AOAC International, 16<sup>th</sup> Edition, 3<sup>rd</sup> Revision.. Gaithersburg (Maryland): AOAC International, 1995, Supplement March 1997, p. 20.

Cato, J.C.; Lima dos Santos, C.A.: Bangladesch seafood exports – safety, hygiene and the EU ban. INFOFISH International 16 (6): 52–56, 1998.

Chambers, T.L.; Staruszkiewicz, W.F.: High Pressure Liquid Chromatographic Method for Indole in Shrimp: Development of a Method and Collaborative Study. J. Assoc. Official Anal. Chemists 64 (3): 592–602, 1981.

Chang, O.; Cheuk, W.L.; Nickelson, R.; Martin, R.; Finne, G.: Indole in Shrimp: Effect of Fresh Storage Temperature, Freezing and Boiling. J. Food Sci. 48: 813–816, 1983.

Duggan, R.E.; Strasburger, L.W.: Indole in Shrimp. Assoc. Official Agr. Chemists 29 (2): 177–188, 1946.

Jonker, K.M.; Roessink, G.L.; Hamerlinck, E.M.; Schout, L.J.: Chemisch en microbiologisch onderzoek van Noordzee- en Noor(d)se an tropische garnalen. De Ware(n)-Chemicus 22: 193–207, 1992.

Oetjen, K.; Oehlschläger, J.: Indolgehalte tropischer Garnelen als Indikator für auf mangelhafter Hygiene beruhende Qualitätsabweichungen. Lebensmittelchemie 54 (1): 12, 2000.

Shamshad, S.I.; Kher-Un-Nisa; Riaz, M; Zuberi, R.; Finne, G.: Shelf Life of Shrimp (*Penaeus merguensis*) Stored at Different Temperatures. J. Food Sci. 55 (5): 1201–1205 + 1242, 1990.

Smith, R.; Nickelson, R.; Martin, R.; Finne, G.: Bacteriology of Indole Production in Shrimp Homogenates held at Different Temperatures. J. Food Protection 47 (11): 861–864, 1984.

Thomas F.; Iyer, T.S.G.; Varma, P.R.G.: The Suitability of Indole as an Index of Spoilage of Prawns. Fish. Technol. 32 (2): 108–112, 1995

Vanhuynne, R.; Moor, L.; Noyen, J.; van de Visel, L.: Evaluatie van de consumptiegeschiktheid van tropische garnalen volgens importerend land, an de hand van chemische, fysische en microbiologische parameters. Instituut voor Veterinaire Keuring, Brüssel, 1992.