

ÜBER DEN NACHWEIS THERMISCHER VERÄNDERUNGEN IN DER MUSKULATUR DURCH DIE VAN-GIESON-FÄRBUNG

Von OTTOKAR H. HENNEBERG

Die Tatsache, daß bei vorsichtigem Erhitzen in Wasser die Struktur von Muskeln und Organen nicht so erheblich verändert wird, daß ihre Erkennung wesentlich erschwert würde, hat sich vor allem die pathologische Histologie für rasche Diagnosestellungen zunutze gemacht.

Auch bei der histologischen Untersuchung von Lebensmitteln, die aus Fleisch und Organteilen von Tieren erzeugt wurden, kann man immer wieder beobachten, daß die Temperaturen, welche innerhalb gewisser Einwirkungszeiten bei gewerblichen und bei industriellen Produktionsverfahren üblich sind, das Gefüge tierischer Gewebe meist nicht sehr sinnfällig verändern.

Bei solchen Erfahrungen war es naheliegend, daran zu denken, ob es wohl möglich sei, sich im gegebenen Falle verantwortlich darüber zu äußern, ob ein Fleischgemenge rohes oder nicht entsprechend erhitztes Muskelgewebe enthält, ob — um ein Beispiel anzuführen — eine aus gepökeltem Fleische hergestellte geräucherte Wurst bis die innersten Anteile gut durcherhitzt ist oder ob noch rohe Fleischteilchen im Wurstkern vorhanden sind.

Es schien uns geboten, Untersuchungen in dieser Richtung anzustellen. Zunächst übernahm es W. CHRASTNY, die Veränderungen nachzuweisen, die sich durch Hitzeinwirkung (Kochen, Dünsten, Braten) in küchenmäßig zubereitetem Rindermuskel ergaben. In mit Hämatoxylin + Eosin gefärbten Schnitten machte er die erwartete und zum Teil bekannte Feststellung, daß die Folgen der Hitzeinwirkung fast ausschließlich im Bindegewebe nachweisbar sind. Man sieht hier teils feinnetzige, teils feinkörnige, grießlige Gerinnsel, aber auch größere (schollige) Veränderungen, die ebenfalls das Bild der Gerinnung zeigen; in breiteren Bindegewebszügen, wie sie sich um Nerven und Gefäße vorfinden, sieht man nicht selten das Bild einer homogenen Gerinnung. Es sind da breite, sich homogen blauviolett bis blau färbende Züge wahrzunehmen, die das infolge intensiver und länger dauernder Erhitzung verleimte Bindegewebe kennzeichnen. Man sieht diese blauen Bindegewebszüge vor allem in stark gekochtem Fleisch.

Eine Beobachtung sei hier noch erwähnt, die auch als Zeichen der Erhitzung des Gewebes anzusehen ist: Es sind dies die verschieden weiten Zwischenräume zwischen den Faserzügen des breiteren, lockeren Bindegewebes, die z. B. in Schnitten durch gebratenes Fleisch festzustellen und offenbar durch die Auswirkung der inneren Dampfspannung entstanden sind.

Neben den sinnfälligeren Anzeichen im Bindegewebe sind gleichwohl auch öfter thermisch bedingte Veränderungen in der Skelettmuskulatur selbst sichtbar, die sich teils in einer Inhomogenität des Sarkoplasmas, durch Bildung netzförmiger Zeichnungen in Muskelquerschnitten aus gebratenem Fleisch zu erkennen geben, teils in Farbunterschieden zum Ausdruck kommen, indem das mit Eosin gefärbte Muskelplasma in den stark erhitzten (gebratenen) oberflächlichen Anteilen hellrot bis orange-rot erscheint, im Gegensatz zu der gewohnten (normalen) Eosinfarbe im Inneren von Muskelstücken, in welchen die Brathitze wegen des schlechten Wärmeleitungsvermögens der Muskulatur in geringerem Grade zur Geltung kommt als an der Oberfläche.

Die bei Hämatoxylin + Eosin gemachten Feststellungen schienen aber für eine verantwortliche Entscheidung doch nicht ausreichend klar beweisend, weshalb wir W. CHRASTNY für weitere Untersuchungen die Van-Gieson-Methode empfahlen. Mit diesem Färbeverfahren gelang eine völlig sichere Beweisführung.

Es zeigte sich, daß breite Bindegewebszüge in den (stark erhitzten) Randpartien von gebratenem Muskel teils zart rötlichgelb, teils bräunlich- bis graugelb gefärbt erschienen, während in den von den breiten Zügen ausstrahlenden dünnen Strängen des Bindegewebes ein rötlicher Farbton in verschiedener Intensität vorherrschte, ähnlich dem in Van-Gieson-Präparaten bekannten Fuchsinrot, ohne aber das intensive Rot der Vergleichspräparate von nicht erhitztem Fleisch zu erreichen. Zu dieser Beobachtung schien die Vorstellung gut zu passen, daß die Hitze des Bratprozesses in den breiteren Bindegewebszügen besser in die Tiefe der Muskulatur weitergeleitet wird als in den oft sehr dünnen, straffen Zügen zwischen den einzelnen Muskelbündeln. (Von den Theorien über das Wesen der Van-Gieson-Färbung hatten wir damals noch keine Kenntnis.)

Gebratenes Fleisch erwies sich zur Prüfung der Van-Gieson-Färbung für den beabsichtigten Zweck als besonders geeignet; wir legten Wert darauf, daß nur richtig küchenmäßig zubereitetes Fleisch untersucht wurde. Es liegt im Wesen des Bratprozesses und in der Art seiner Durchführung, daß man im histologischen Präparat alle Übergänge von stark bis schwach erhitztem oder in rohem Zustande fixiertem Gewebe zu sehen bekommt. Die rasche Erhitzung, die z. B. im Hauptversuch von einem ersten Wiener Küchenfachmann¹⁾ gewählt wurde, ließ es begreiflich erscheinen, daß es bei der ungleichmäßigen Verteilung der Hitze im Innern des gebratenen Fleisches neben stärker erhitzten (graugelben) auch weniger erhitzte (rötliche und rote) Bindegewebszüge geben müsse. Vor allem spielt hier die erreichte Temperatur und die Dauer der Erhitzung eine Hauptrolle; die verschiedene Färbung des Bindegewebes wird vielfach auch davon abhängen, ob bei dem zu bratenden Fleischstücke die Hitze etwa durch breite Spalträume leichter in die Tiefe geleitet wird als von nicht zerklüfteter, straff geschlossener Fleischoberfläche aus. Die genannten Umstände dürften maßgeblich dafür sein, ob man stärker oder zarter rot gefärbte Bindegewebszüge neben bräunlich-bis graugelben Stellen im Bindegewebe vorfindet.

Bei Durchsichtung histologischer Präparate durch gedünstetes oder durch gekochtes Fleisch ergeben sich keine neuen Gesichtspunkte.

Haben wir somit die Van-Gieson-Färbung als ein Verfahren kennengelernt, um in verschiedenem Grade erhitztes Bindegewebe im histologischen Schnitt zu erkennen, so war nun durch weitere Prüfungen festzustellen, ob das Pökeln und das Räuchern des Fleisches die Reaktion des Bindegewebes nach dieser Färbung nicht etwa in einem anderen Sinne beeinflusse, als dies für nichtkonserviertes Fleisch erwiesen wurde. Bei diesen Versuchen konnte auch die Frage beantwortet werden, ob — wie zu erwarten — die beim Rindermuskel gemachten Feststellungen auch für Schweinefleisch gelten, bei dem ja die genannten Konservierungsverfahren besonders häufig angewendet werden. Dies zu prüfen übernahm J. BLEICH.

Er konnte die ihm gestellten Fragen eindeutig beantworten: Die Reaktion fällt in nichtkonserviertem Schweinefleisch stets mit unzweifelhafter Klarheit so aus wie bei Rindfleisch, gleichgültig, ob es sich um gekochtes, gedünstetes oder um gebratenes Fleisch handelt. Das Pökeln und das Räuchern beeinflussen den Ausfall der Van-Gieson-Färbung nicht.

Schließlich haben wir durch Untersuchungen von F. PEKALA den Eindruck gewonnen, daß die Van-Gieson-Färbung auch bei küchenmäßig zubereitetem (gekochtem oder gebratenem) Fischfleisch und bei (sterilisierten) Fischkonserven in ähnlicher Weise

¹⁾ Dankbar vermerken wir, daß sich Herr Küchenchef F. RUHM für diese Versuche bereitwillig zur Verfügung stellte.

für den Nachweis der Erhitzung des Muskels herangezogen werden kann wie bei Warmblüterfleisch.

Unsere Erfahrungen haben sich darüber hinaus durch vereinzelte Beobachtungen insofern erweitert, als wir feststellen konnten, daß im Inhalt einer Dosenfleischkonserve nach Van-Gieson-Färbung keinerlei rote Farbtöne nachzuweisen sind, daß rohes und gekochtes Hühnerfleisch deutlich durch die Reaktion unterschieden werden kann, daß in sogenannter „Polnischer Wurst“, die im Laufe des Erzeugungsprozesses durch Brühen oder Heißbräuchern eine gewisse Haltbarkeit erhält, das Bindegewebe zum überwiegend größten Teil gelb gefärbt ist und nur vereinzelte rötliche bis fuchsinrote Bindegewebszüge das unvollständige Eindringen der Hitze den schlechten Wärmeleiter Fleisch anzeigen. Auf die geschilderte Weise dürfte es auch — wie Schnittpräparate durch verschieden stark erhitztes und durch zur Kontrolle roh belassenes Freibankfleisch zeigten — möglich sein, die Überwachung eines Freibankbetriebes durch stichprobenweise veranlaßte histologische Kontrollen wertvoll zu ergänzen.

Für eine kritische Auseinandersetzung mit den vorherrschenden Anschauungen über die physiko-chemischen Vorgänge bei der Van-Gieson-Färbung fühlen wir uns nicht als zuständig und wollen auf die von K. ZEIGER gebotene, das Schrifttum ausführlich berücksichtigende Darstellung verweisen.

Der Autor mißt vor allem, entgegen der Auffassung v. MÖLLENDORFs, der Farbhaftung als einer Grenzflächenerscheinung die größte Bedeutung für das Zustandekommen von gewebsdifferenzierenden Mehrfachfärbungen, so auch der Van-Gieson-Färbung, zu.

v. MÖLLENDORF verlege bei seiner Deutung des Wesens der Van-Gieson-Färbung das Schwergewicht auf die Diffusibilität des Farbstoffes und die Dichte des zu färbenden Gewebes und vernachlässige die entscheidende Frage nach dem Wesen der Farbhaftung, müsse aber doch unterschiedliche Haftungsbedingungen für die einzelnen Farbstoffe anerkennen.

Bei der Van-Gieson-Färbung würde in zweckmäßiger Weise zuerst die Pikrinsäure angeboten, die gegenüber dem Säurefuchsin durch geringere Molekulargröße und größere Diffusionsgeschwindigkeit gekennzeichnet sei. Sie würde am stärksten in den dichten Strukturen konzentriert. In der nachfolgenden Säurefuchsinlösung diffundiere die Pikrinsäure wieder aus dem Schnitt heraus, und zwar am schnellsten aus den weniger dichten Strukturen. In diese dringe gleichzeitig das Säurefuchsin ein. Für eine richtige Differenzfärbung verschiedener dichter Gewebsbestandteile käme es auf die rechtzeitige Unterbrechung der „Austauschdiffusion“ an.

ZEIGER stellt es als durchaus fraglich hin, „ob . . . Unterschiede der Diffusionsgeschwindigkeit beim Eindringen von Farbstoffen in Schnitte überhaupt zur Geltung kommen können. Entsprechend den Schnitt- und Strukturdimensionen betragen die Diffusionswege, um die es sich hier handelt, wie PISCHINGER betont, nur Bruchteile von Millimetern.“

Die entscheidende Rolle käme bei Mehrfachfärbungen aus sauren Gemischen jedenfalls den Adsorptionsvorgängen zu.

Die Frage nach dem Wesen der Vorgänge bei der besprochenen Färbung bleibt jedoch auch nach Berücksichtigung der Untersuchungen von SEKI offen. Die Vorstellung dieses Autors vom Wesen der Van-Gieson-Färbung wird mit folgenden Worten wiedergegeben: „Pikrinsäure dringt infolge ihrer stärkeren Diffusibilität rasch in alle, auch die dichtesten Gewebsbestandteile ein. Säurefuchsin kann infolge seiner höheren Teilchengröße nur in weitporige Strukturen gelangen, haftet aber dort, gleiche chemische Beschaffenheit der Substrate vorausgesetzt, besser wie Pikrinsäure.“ Für die bessere Adsorbierbarkeit des Säurefuchsin gegenüber der Pikrinsäure kommen nach SEKI drei Faktoren in Betracht: Die Moleküle des Säurefuchsin sind viel größer als die der Pikrinsäure. „Die beträchtliche Molekulargröße des Säurefuchsin steht in enger Beziehung zu seiner Beweglichkeit und damit zu seiner Diffusionsgeschwindigkeit. Sie hat offenbar aber auch Beziehung zur Neigung der Farbstoffe, unlöslich zu werden. . . Mit steigender Molekulargröße, abnehmender Dispersität und vermehrter Neigung, unlöslich zu werden, steigt also die Adsorbierbarkeit saurer Farbstoffe.“

Da die Grundlagenforschung über die Vorgänge bei der Mehrfachfärbung aus sauren Gemischen noch nicht zu einer einheitlichen Meinung gelangt ist, können wir bei der Anwendung des gebotenen Wissens auf unsere praktischen Beobachtungen

mit Hilfe der Begriffe: Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes, größere Dichte oder aber Weitporigkeit des zu färbenden Gewebes, bessere Adsorbierbarkeit des Farbstoffes bestenfalls nur Vermutungen äußern.

Daß der Diffusionsgeschwindigkeit des Farbstoffes bei der Färbung dünner histologischer Schnitte keine große Rolle zukommen kann, scheint uns einleuchtend. Weit mehr Bedeutung möchten wir der Dichte des Gewebes beimessen, zunächst schon der verschiedenen Dichte des nur mit Formalin fixierten, nicht erhitzten Muskel- und Bindegewebes, noch mehr aber des durch Hitzeinwirkung in verschiedenen hohem Maße veränderten, verdichteten tierischen Gewebes. Wir haben die Vorstellung, daß durch das Kochen, Dünsten oder Braten an sich schon eine Verdichtung des Gewebes infolge von Schrumpfungsvorgängen zustande kommt, die durch Verkleben der Zwischenräume zwischen den Gewebselementen durch eine leimartige Masse noch wesentlich erhöht wird. So können wir verstehen, daß die stark erhitzten Randpartien von rasch gebratenen Fleischstücken auch in den früher lockeren Anteilen breiter Bindegewebszüge dem Eindringen eines Farbstoffes mit größeren Molekülen (Säurefuchsin) ein großes, mitunter unüberwindliches Hindernis entgegensetzen und der früher eingedrungenen Pikrinsäure bessere Haftungsbedingungen bieten, als dies bei nichterhitztem Gewebe der Fall ist. Das als zweiter Farbstoff angebotene Säurefuchsin kann also schon wegen der größeren Dichte des erhitzten Gewebes, aber auch deshalb nicht oder nur unvollständig eindringen, weil der früher eingedrungenen Pikrinsäure im engporigen und mit Leimmassen und Gerinnseln verdichteten Gewebe bessere Adsorptionsbedingungen geboten werden. Deshalb jetzt die grünlichgelbe Farbe oder eine graugelbe bis bräunlichgelbe Mischfarbe des Bindegewebes. Daß sich da alle Übergänge von der Pikrinsäurefärbung bis zum intensiven Rot des Säurefuchsin in einem Schnitte darbieten können, wird als Ausdruck verschieden starker Hitzeinwirkung ohne weiteres verständlich. Stets aber kann man die Hitzeinwirkung auf das Fleisch durch den Nachweis eines veränderten Verhaltens des Bindegewebes gegenüber den beiden Farbstoffen erkennen. Nach unseren bisherigen Wahrnehmungen halten wir die Van-Gieson-Färbung für ein untrügliches Beweismittel, wollen aber durch weitere Versuche, insbesondere auch durch Temperaturmessungen im Fleisch während der Zubereitung, unserer Annahme eine größere Beweiskraft verleihen.

Summary

Van Gieson staining makes possible the histological detection of the influence of heat upon flesh, with exceptional clarity. If flesh is cooked, roasted, or otherwise heated, the muscle-connecting tissue does not appear (fuchsin) red, but a brownish-yellow, or grey to greenish-yellow. Investigations which have been made to check this indicate that this reaction remains unchanged by the usual technical and industrial treatment which is applied to the flesh of various kinds of animals.

This result is probably due to the prevention of pigments with larger molecules (acid fuchsin) infiltrating into such tissue, which is not only shrunken, but condensed by agglutination of the inter-spaces by a gluey mass. The earlier infiltrated picric-acid, on the other hand, finds better conditions of absorption compared with unheated tissue.

Literatur

Zeiger K., Physikochemische Grundlagen der histologischen Methodik. Verlag von Theodor Steinkopff, Dresden und Leipzig 1938. — *Chrastny W.*, *Bleich J.*, *Pekala F.*, Vet.-med. Dissertationen Wien, 1946, 1947.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1950

Band/Volume: [5](#)

Autor(en)/Author(s): Henneberg Ottokar H.

Artikel/Article: [Über den Nachweis thermischer Veränderungen in der Muskulatur durch die Van-Gieson-Färbung. 132-135](#)