

3. Arbeitstagung europäischer Fleischforscher
Roskilde, 19.-22. August 1957

BEITRÄGE ZUR MIKROBIOLOGIE DER ROHWURST

von

F.P. Niinivaara

Forschungsanstalt der Genossenschaftlichen Schlachthöfe, Hämeenlinna, Finnland

In der mikrobiologischen Forschung der Wurstwaren hat man das Hauptgewicht auf die verschiedenen Verderbniserscheinungen der Produkte und die dafür verantwortlichen Mikroorganismen gerichtet. Es ist aber auch schon seit Jahrzehnten bekannt, dass gewisse Bakterienarten unentbehrlich für die Entwicklung der erwünschten Farbe, des Geschmacks und des Aromas sind.

Leider ist es uns immer noch heute ziemlich unklar, wie die Beziehungen zwischen den verschiedenen Bakterienarten und den chemischen Reaktionen liegen. Z.B., welche Bakterienarten für die Reifungs- bzw. Verderbniserscheinungen in der Wurst verantwortlich sind und in welchem Masse, sowie ferner, wie diese Reaktionen vom chemischen Standpunkt betrachtet verlaufen.

Beim Untersuchen der mikrobiologischen Prozesse in der Wurst begegnet man vielen Schwierigkeiten bei der Versuchsanordnung.

(1) Fleisch ist nie ein homogenes Material, sondern es besteht stets - sowohl chemisch als mikrobiologisch betrachtet - aus unterschiedlichen Teilen. Deswegen ist sowohl der Mikrobengehalt als die chemische Zusammensetzung des fertigen Produkts auch immer variierend. Man kann sagen, dass jede Wurst ein "Individuum" ist, und wenn man Schlussfolgerungen betreffs der mikrobiologischen Zusammensetzung der Wurst ziehen will, müssen diese immer auf einem umfangreichen Untersuchungsmaterial aufbauen.

(2) Bei der Wurstherstellung kann man nie mit sterilem Material arbeiten. Wieviel leichter ist es doch in der Milchwirtschaft z.B. die Wirkung von Bakterien zu untersuchen, wenn man mit ihrer

Reinkultur steriles, homogenes Material beimpfen und die von ihnen verursachten chemischen Veränderungen an Hand von kleinen Proben verfolgen kann.

(3) Die biologischen Reaktionen sind meistens enzymatisch. Z.B. die postmortalen Veränderungen im Fleisch werden von einer Gruppe von verschiedenen Enzymen des Fleisches verursacht. Aber auch die von Mikroorganismen hervorgerufenen Veränderungen sind Resultate der Tätigkeit der von diesen ausgeschiedenen Enzymen. Es besteht immer die Schwierigkeit zu beurteilen, welche Reaktionen von den bakteriellen Enzymen und welche von den fleischeigenen Enzymen hervorgerufen worden sind.

(4) Beim Untersuchen der Mikrobiologie der Rohwurst ist das Hauptmerkmal auf die Veränderungen während der Herstellung zu richten. Fertige Rohwurst ist schon ein ziemlich stabiles Produkt - wenn sie gelungen ist - und die Bakterienflora derselben ist unterschiedlich als die Flora im Anfangsstadium der Herstellung. Das Beobachten der mikrobiologischen Veränderung während der Herstellung ist aber eine schwierige und vor allem langwierige Aufgabe, weil die Wurst etwa 10 Tage braucht, um reif zu werden. Das Anordnen solcher Versuche kostet also sowohl Zeit als auch Geld; es ist deshalb wohlbegreiflich, dass weniger Arbeiten über dieses Thema vorhanden sind.

Wenn man die verschiedenen von den Mikroorganismen hervorgerufenen Erscheinungen betrachtet, kann man diese folgenderweise gruppieren:

- | | |
|--|-----------------------------------|
| 1. Qualitätvermindernde Mikroorganismen | } Unerwünschte
Mikroorganismen |
| 2. Gesundheitsschädliche Mikroorganismen | |
| 3. Indifferente Mikroorganismen | |
| 4. Erwünschte Mikroorganismen | |

1. Qualitätvermindernde Mikroorganismen

Zu dieser Gruppe gehören Mikroorganismen, welche die Farbe des Produkts beeinträchtigen oder unangenehmen Geruch bilden, ferner die Gasbildner, die Schleimbildner usw. Diese Bakterien sind in vielen Veröffentlichungen beschrieben worden. Auf Bakterien dieser Gruppe stösst man leicht beim Untersuchen der verdorbenen Fleischprodukte.

2. Gesundheitsschädliche Mikroorganismen

Unter den vielen pathogenen und saprophytischen Keimen spielt nur eine relativ eng begrenzte Anzahl von Bakterienarten eine Rolle als gesundheitsschädliche Organismen in Fleisch und Wurst. Zu dieser weitgehenden Einschränkung trägt eine Anzahl von Faktoren biologischer und hygienischer Natur bei.

In der gleichen Richtung wirkt ferner der Umstand mit, dass pathogene Keime auf Grund ihrer extremen Lebensweise Ansprüche besonderer Art an das Milieu stellen. Sie erweisen sich deshalb im allgemeinen als weniger widerstands- und anpassungsfähig als apathogene Bakterien. Es überrascht daher keineswegs, wenn sie sich gegenüber der Einwirkung von Salzen, Hitze und Rauch als besonders empfindlich erweisen.

Zumeist zeigt durch solche Keime infizierte Wurst so weit fortgeschrittene grobe Veränderungen, dass es von vornherein nicht ratsam ist, diese zu verzehren. Wurst wird daher erst dann gefährlich, wenn trotz der Anwesenheit solcher Mikroorganismen in der Wurst keinerlei organoleptische Abnormitäten zu erkennen sind.

Zudem vermehren sich pathogene Bakterien nur bei Temperaturen um 37°C schnell und es ist daher nicht wunderlich, wenn vor allem während der Sommermonate immer wieder über Erkrankungen nach dem Genuss von Wurst berichtet wird. - In diesem Zusammenhang soll diese Gruppe der Mikroorganismen nicht näher behandelt werden.

3. Die indifferenten Mikroorganismen

Sowohl in der Wurst als auch in anderen Lebensmitteln gibt es immer eine ganze Menge Bakterien, die in keiner Weise durch ihre physiologische Wirkung besonders hervortreten. Diesen kann man also weder irgendwelche schädlichen noch erwünschten Reaktionen zuschreiben.

4. Über die "erwünschten" Mikroorganismen

Im Laufe der letzten 3 Jahre haben wir uns mit den Fragen der Mikrobiologie der Rohwurst beschäftigt. Insbesondere hat uns die Gruppe der erwünschten oder nützlichen Mikroorganismen interessiert. Wir haben versucht, die Frage zu klären, welche Mikroorganismen in den verschiedenen Stadien der Herstellung vorherrschend sind und welche chemischen Veränderungen diese in der Wurst während der Herstellung hervorrufen können. Die Wirkung einiger Bakterienarten ist auch als Reinkultur untersucht worden. Von diesen Arbeiten sei folgendes erwähnt.

Die Zusammensetzung der Mikrobenflora während der Reifung

Eine diesbezügliche Untersuchung ist kürzlich in der Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung u. -Forschung, 104. Band, 6. Heft, 1956, S. 413-422, erschienen. Wie in dem Artikel näher beschrieben wird, verändert sich die Zusammensetzung der Mikrobenflora während der Herstellung. Ein anschauliches Bild über die Mengenverhältnisse verschiedener Mikrobengruppen während der Reifung gibt die Abbildung 1.

Gruppierung der Mikroorganismen der Rohwurst

Die weitere Behandlung des in der oben erwähnten Arbeit erhaltenen Materials hat gezeigt, dass man gewisse Mikroorganismen als Verursacher der in der Wurst stattfindenden biochemischen Veränderungen nachweisen kann. Diese Veränderungen können - vom Standpunkt des Fabrikanten betrachtet - erwünscht oder unerwünscht sein.

Nach den morphologischen und physiologischen Eigenschaften könnten die Mikroorganismen folgenderweise gruppiert werden.

Anzahl der
Bakterien
St/g

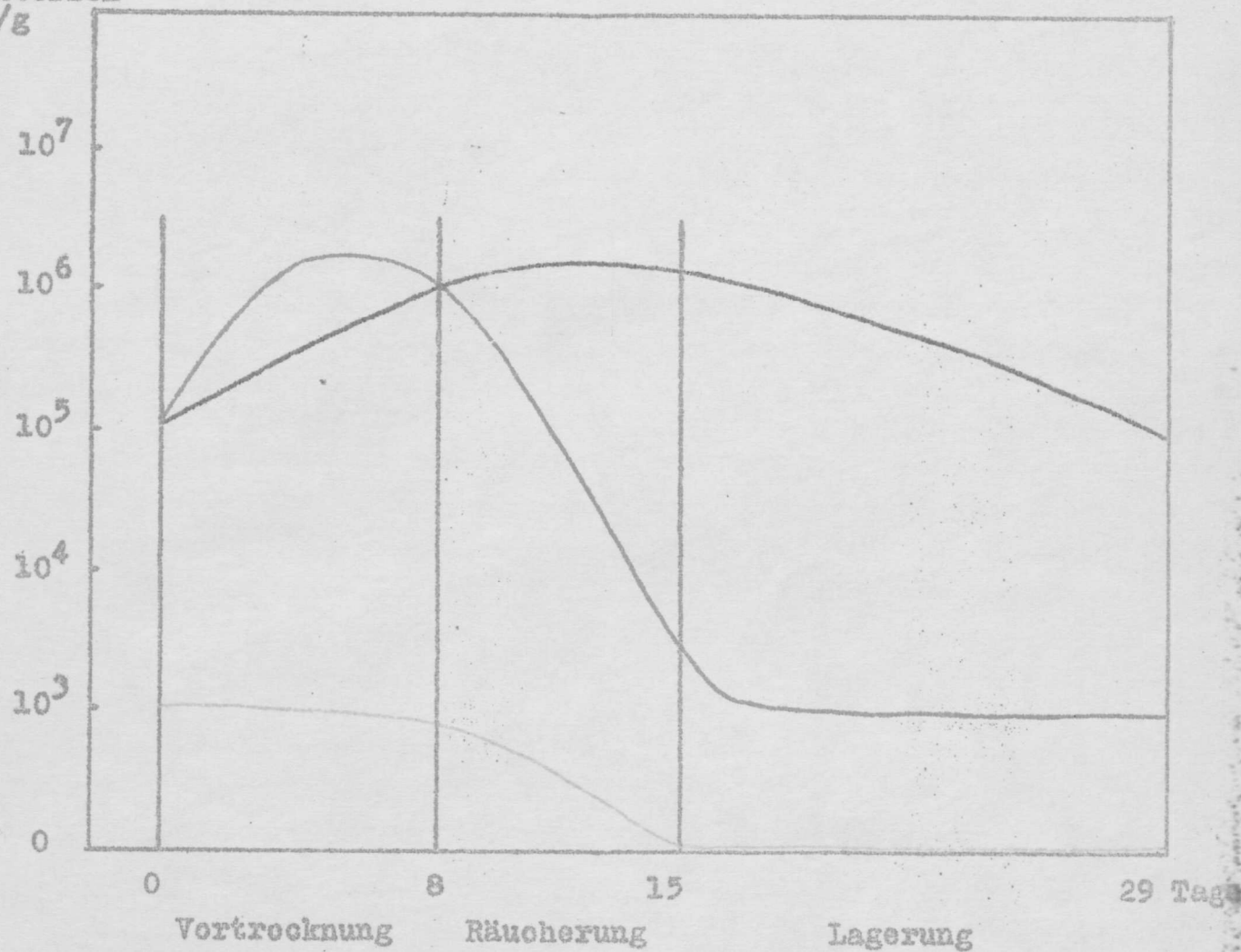


Abb. 1. Die Veränderungen der Bakterienflora während der Reifung. Züchtung bei 25°C.

- Mikrokokken
- Grampositive Stäbchen
- Gramnegative Stäbchen

I. Familie: Micrococcaceae

Es wurden insgesamt 14 verschiedene zur Familie Micrococcaceae gehörende Arten festgestellt.

Name der Art nach Bergey	Eigenschaften	
	nach Bergey	nach eigenen Untersuchungen
Gattung: Micrococcus		
M. aurantiacus	Vergärt Mannitol. Farbe der Kolonie auf Agar gelblich-orange	Vergärt Mannitol nicht. Farbe der Kolonie auf Agar hell
M. caseolyticus		Gleich wie bei Bergey
M. candidus	Lackmusmilch schwach sauer. Bildet in Peptonlösung Ammoniak	Bildet in Lackmusmilch mässig stark Säure (pH 5,0). Bildet in Peptonlösung nicht Ammoniak
M. conglomeratus	Bildet in Peptonlösung Ammoniak. Wächst nicht auf Kartoffel	Bildet kein Ammoniak. Wächst als gelbes Wachstum auf Kartoffel
M. epidermidis	Optimaltemp. 37°C. Lackmusmilch sauer. Auf Kartoffel beschränktes weisses Wachstum	Optimaltemp. 25°C. Wächst nicht auf Kartoffel
M. flavus		Wie bei Bergey
M. luteus	Vergärt Mannitol und Saccharose, aber nicht Lactose. Klarer gelber Niederschlag in Fleischbrühe	Vergärt Lactose, aber nicht Mannitol und Saccharose. Starke Trübung in Fleischbrühe
M. pyogenes var. albus	Optimaltemp. 37°C. In Lackmusmilch Säurebildung, Coagulation und schwache Peptonisation. Auf Kartoffel dickes, ebenes, weisses und blankes Wachstum	Optimaltemp. 25°C. In Lackmusmilch schwache Säurebildung (pH 6,5) und schwache Reduktion. Kein Wuchs auf Kartoffel
M. pyogenes var. aureus	Optimaltemp. 37°C. Kolonie auf Agar rund, eben, orangegelb und blank	Optimaltemp. 25°C. Kolonie auf Agar hell und gehoben
M. ureae	Lackmusmilch schwach alkalisch. Langsame Reduktion. Kolonie auf Agar weiss und gehoben	pH der Lackmusmilch 6,8. Schwache Peptonisation. Kolonie auf Agar gelblich und gehoben.
M. varians	In Lackmusmilch Säurebildung. Kolonie auf Agar klein, gelb und blank	pH der Lackmusmilch 6,75. Schwache Reduktion und Coagulation. Kolonie auf Agar hell und matt

Gattung: Gaffkya

G. tetragena	Optimaltemp. 37°C. Verwendet nicht Ammoniumsalze. Verflüssigt nicht Gelatine	Ist ein grampositiver Tetracoccus. Optimaltemp. 25°C. Benutzt $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ als einzige Stickstoffquelle. Verflüssigt Gelatine
--------------	--	---

Gattung: Sarcina

S. citrea	Auf Kartoffel gelbes Wachstum	Kein Wuchs auf Kartoffel
S. lutea	Lackmusmilch schwach alkalisch. Deutliche Coagulation. Auf Kartoffel gelbes Wachstum	Ist eine grampositive Sarcine. In Lackmusmilch schwache Säurebildung. Kein Wuchs auf Kartoffel

II. Familie: Bacillaceae

Es wurden 5 verschiedene grampositive, sporentragende der Familie Bacillaceae angehörende Arten festgestellt.

Name der Art nach Bergey	Eigenschaften	
	nach Bergey	nach eigenen Untersuchungen
Gattung: Bacillus		
B. cereus		Gleich wie bei Bergey
B. cereus var. mycoides	In Lackmusmilch Peptonisation und Coagulation. Auf Kartoffel dickes, rahmfarbenes oder röthliches Wachstum. Benutzt gewöhnlicherweise Citrat als einzige Kohlenstoffquelle	In Lackmusmilch Säurebildung und Peptonisation. Auf Kartoffel weisses, trockenes und pilziges Wachstum. Benutzt Citrat nicht als einzige Kohlenstoffquelle
B. megatherium	Lackmusmilch wird peptonisiert. Benutzt Citrat als einzige Kohlenstoffquelle	Fleischbrühe unverändert. Benutzt Citrat nicht
B. sphaericus		Wie bei Bergey
B. subtilis	In Fleischbrühe Trübung und faltige Haut	Fleischbrühe klar und dicke Haut

III. Familie: Lactobacteriaceae

Es wurden 2 verschiedene mikroaerophile, grampositive, sporenlöse stabförmige Bakterienarten und 1 fakultativer, grampositiver Streptococcus festgestellt, die der Familie Lactobacteriaceae angehören.

Name der Art nach Bergey	Eigenschaften	
	nach Bergey	nach eigenen Untersuchungen
Gattung: Lactobacillus		
L. leichmannii	Vergärt schwach Mannitol	Vergärt Mannitol nicht
L. plantarum	In Lackmusmilch Säurebildung und Coagulation. Vergärt schwach Mannitol	Lackmusmilch unverändert. Vergärt Mannitol nicht
Gattung: Streptococcus		
Str. faecalis	Bildet Ammoniak in Peptonlösung	Bildet kein Ammoniak

IV. Familie: Achromobacteriaceae

Bei der Identifizierung wurden insgesamt 4 facultative, gramnegative der Familie Achromobacteriaceae angehörende Arten gefunden, von denen drei, nämlich Alcaligenes faecalis, Alcaligenes metalcaligenes und Achromobacter butyri, gleiche Eigenschaften wie bei Bergey hatten.

Name der Art nach Bergey	Eigenschaften	
	nach Bergey	nach eigenen Untersuchungen
Gattung: Flavobacterium		
Fl. arborescens	In Lackmusmilch langsame Coagulation und Reduktion. Unveränderte Reaktion	Lackmusmilch wird schwach alkalisch

V. Familie: Enterobacteriaceae

Es wurde nur eine gramnegative der Familie Enterobacteriaceae angehörende Art festgestellt.

Name der Art nach Bergey	Eigenschaften	
	nach Bergey	nach eigenen Untersuchungen
Gattung: Aerobacter		
Ae. aerogenes	Kolonie auf Agar dick, weiss und gehoben. Indolversuch kann positiv sein	Kolonie auf Agar rahmfarben und blank. Indolversuch negativ

Über die an der Farbbildung beteiligten Bakterien

Die Voraussetzung für die Entstehung der roten Farbe in Rohwurst ist die Reduktion des Nitrats. Eine solche findet nur durch Einfluss von Bakterien statt, folglich ist die Anwesenheit nitratreduzierender Bakterien bei der Herstellung von Rohwürsten unerlässlich, wenn diese unter Anwendung von Nitrat erfolgt. Bei den ausgeführten Versuchen wurde festgestellt, dass nitratreduzierende Bakterien unter den Mikrokokken am reichlichsten vertreten waren, wie man aus Tab. 1 ersieht. Diese Bakterien bilden auch aus Kohlenhydraten Säuren und fördern somit auch die weitere Reduktion des entstandenen Nitrits zu Stickstoffoxyd. Die Nitritreduktion findet in saurem Milieu statt. Wie man aus unserer früheren Veröffentlichung erkennt, treten die Mikrokokken als Hauptflora während der Vortrocknung auf, zu welcher Zeit die Farbbildung und die Säurebildung der Rohwurst stattfindet. Man kann die Mikrokokken als mit die wichtigsten bei der Reifung der Rohwurst erforderlichen Bakterien betrachten. *Aerobacter aerogenes* (vgl. Tab. 1), obwohl Nitrat zu Nitrit reduzierend, ist keine erwünschte Bakterienart in Rohwürsten, da es aus Kohlenhydraten Gas bildet. Die Gasbildung ruft gewöhnlicherweise im Inneren der Rohwurst einen Druck hervor, der zum Aufreißen des Wurstinneeren, zur Bildung von Löchern und schliesslich zum Platzen der Wursthaut führen kann.

Über die an der Säurebildung beteiligten Bakterien

Von entscheidendem Einfluss auf die Reifung und die Haltbarkeit der Rohwurst ist die richtige Säurebildung. Der pH-Wert der Rohwurst ist im Anfangsstadium der Herstellung etwa 5,9-6,0 und sinkt während derselben bis auf pH 4,8-4,9 herab. Fertige, gut gelungene Rohwurst hat im Durchschnitt den pH-Wert 5,17. Säure entsteht sowohl aus Glykogen als auch aus den beigefügten Zuckern. Die entstandene Säure besteht vornehmlich aus Milchsäure, neben welcher sich in gewissen Umfang Essigsäure und Ameisensäure bilden dürfte.

Tabelle 1. Die Bedeutung der aus Rohwürsten isolierten Bakterienstämme beim Reifungsprozess.¹

Bakterienart Name	Erwünschte Erscheinungen					Unerwünschte Erscheinungen		
	Um- rötung	Säurebildung			Aroma- bildung	Gelatine- verflüs- sigung	Ammoniak- bildung	Gas- bildung
		$\frac{KNO_3}{KNO_2}$	aus Gly- kogen	aus Glu- cose				
<i>Micrococcus aurantiacus</i>	+++	-	+++	+++	-	-	+	-
<i>M. caseolyticus</i>	+++	-	+++	+++	-	+	+	-
<i>M. candidus</i>	-	-	+++	+++	-	++	+	-
<i>M. conglomeratus</i>	+++	-	++	-	-	+	+	-
<i>M. epidermidis</i>	+++	-	+++	+++	-	-	+	-
<i>M. flavus</i>	-	-	+++	-	-	+	+	-
<i>M. luteus</i>	-	-	+++	-	-	-	++	-
<i>M. pyogenes var. albus</i>	+++	-	+++	+++	-	+	++	-
<i>M. pyogenes var. aureus</i>	+++	-	+	++	-	++	+	-
<i>M. ureae</i>	-	-	+++	+++	-	+	+	-
<i>M. varians</i>	+++	-	+++	+++	-	-	++	-
<i>Gaffkya tetragena</i>	-	-	++	-	-	++	+	-
<i>Sarcina citrea</i>	-	±	+	+++	-	-	++	-
<i>S. lutea</i>	+++	-	-	-	-	-	+	-
<i>Bacillus cereus</i>	+	-	+	+++	-	++	++	-
<i>B. cereus var. mycoides</i>	++	-	+++	++	-	+++	+++	-
<i>B. megatherium</i>	-	++ ²	+++	++	-	+	-	-
<i>B. sphaericus</i>	-	-	-	-	-	-	+	-
<i>B. subtilis</i>	++	+	+	+++	-	+++	+++	-
<i>Lactobacillus leichmannii</i>	-	-	+++	+	-	-	-	-
<i>L. plantarum</i>	-	-	+	++	-	-	-	-
<i>Streptococcus faecalis</i>	-	-	+++	+++	-	-	-	-
<i>Alcaligenes faecalis</i>	+++	-	-	-	+	-	+	-
<i>Al. metalcaligenes</i>	+++	-	-	-	+	-	-	-
<i>Achromobacter butyri</i>	-	-	+++	-	+++	+	+	-
<i>Flavobacterium arborescens</i>	-	+ ²	+	+	+	++	-	-
<i>Aerobacter aerogenes</i>	++	-	+++	+++	+	-	+	+++

¹ - = keine Reaktion, + = schwach, ++ = mässig, +++ = stark

² Vergärt Glykogen zu Milchsäure

Hinreichende Säurebildung ist erstens von Wichtigkeit mit Rücksicht auf die Reduktion des aus der Nitratreduktion hervorgegangenen Nitrits zu Stickstoffoxyd. Diese geht in saurem Milieu vor sich, und zwar mit um so grösserer Geschwindigkeit, je näher der pH-Wert der Wurst an pH 5,0 herabsinkt. Falls der pH-Wert der Wurst nicht unter 5,6 herabgeht, kann die Farbbildung unvollständig ausfallen.

Zum zweiten hindert hinreichend hohe Acidität im fertigen Erzeugnis neben anderen Faktoren die Vermehrung und das Wachstum fäulniserregender Bakterien. Ist der pH-Wert der fertigen Rohwurst höher als pH 5,4, so kann die Wurst schon unter geringfügig unvorteilhaften Verhältnissen der Lagerung verderben.

In Tab. 1 ist das Vermögen der aus Rohwürsten isolierten Bakterienstämme, Kohlenhydrate zu vergären, dargestellt. Da bei der Rohwurstherstellung als zugesetzte Kohlenhydrate üblicherweise nur Glucose und Saccharose verwendet werden, ist in Tab. 1 nur das Vermögen der Bakterien zur Vergärung dieser Kohlenhydrate betrachtet worden.

Der grösste Teil der aus Rohwurst isolierten Bakterienstämme bildete Säure aus Glucose und Saccharose. Nur zwei Bakterienarten, *Bac. megatherium* und *Flavobact. arborescens*, bildeten aus Glykogen Milchsäure. Alle diese Bakterienstämme sind ihrem Säurebildungsvermögen zufolge erwünschte Bakterien während der Vortrocknung der Rohwurst. Die grösste Bedeutung bezüglich der Säurebildung kommt den Mikrokokken und vor allem den Lactobacillen zu. Nach LERCHE bilden die Lactobacillen mehr Säure als die Mikrokokken. Die Arten der Gattung *Bacillus* sind durch ihr Säurebildungsvermögen ebenfalls nützlich, jedoch nur während der Vortrocknung. Gewöhnlich werden sie während der Räucherung vernichtet, sie kommen nicht mehr in gut gelungenen und einwandfreien Rohwürsten vor.

An der Aromabildung beteiligte Bakterien

Es ist ausserordentlich schwierig, die in Rohwürsten vorkommenden, das angenehme, für die Wurst typische Aroma bildenden Bakterien zu untersuchen, da es noch nicht erforscht ist, aus welchen Verbindungen das Aroma der Rohwurst besteht. In der vorliegenden Untersuchung wurde jedoch dieser Umstand ausser acht gelassen und nur das Vermögen der Bakterien untersucht, in vitro ein angenehmes Aroma in Fleischbrühe, auf Nähragar, in Lackmusmilch bzw. auf Fettagar zu erzeugen. Bei diesen Arbeiten wurden 5 aromabildende Bakterienarten gefunden. Die Ergebnisse der Versuche gehen aus Tab. 1 hervor.

Achromobacter butyri ist kein erwünschter Stamm bei der Rohwurstherstellung, da es ein käseartiges Aroma ergibt.

An der Reifung beteiligte Bakterien

Da während der Herstellung der Rohwurst die Temperatur nicht über 20°C ansteigt, bewirkt die Wärme keine Reifung der Wurst, wie dies bei Brühwürsten der Fall ist. Die Reifung der Rohwurst erfolgt ausschliesslich durch gewisse chemisch-bakteriologische Reaktionen.

Während der Reifung des Fleisches nach dem Schlachten findet u.a. eine Umwandlung von Glykogen zu Milchsäure, ein Abbau von Eiweissstoffen zu niederermolekularen und leichter verdaulichen Verbindungen u. dgl. statt. Über die mit dem Reifungsprozess verknüpften chemischen Reaktionen in der Rohwurst sind in der Literatur keine Angaben zu finden. Es ist jedoch anzunehmen, dass in der Wurst die Eiweissstoffe des Fleisches zu niederermolekularen Verbindungen abgebaut werden, das Glykogen zu Milchsäure usw.

Unter den aus Rohwurst isolierten Bakterienstämmen fanden sich einige Arten, die eine Umwandlung von Glykogen zu Milchsäure hervorriefen und Gelatine verflüssigten (Tab. 1). Diese Bakterien können als nützlich während des Reifungsprozesses erachtet werden, insofern sich ihre zersetzende Wirkung nicht bis zum Fäulnisstadium erstreckt. Die in Frage stehenden Bakterienstämme arbeiten jedoch nur während der Vortrocknung der Wurst und werden später

infolge des Räucherns, des abnehmenden Wassergehalts der Wurst und ihrer zunehmenden Salzkonzentration vernichtet. Von diesen Bakterien wurden u.a. die Bacillus-Arten, die gewöhnlich eben als solche Bakterien angesprochen werden, die ein Verderben der Wurst herbeiführen können, nicht mehr in der fertigen Rohwurst angetroffen. Aus vorgenanntem Grunde ist die Anwesenheit dieser Bakterien mit Rücksicht auf den Reifungsvorgang erwünscht, insofern sie nicht im fertigen Erzeugnis die Oberhand gewinnen.

Wie aus der Tab. 1 ersichtlich, vergärten nur zwei Stämme Glykogen zu Milchsäure, nämlich Bac. megatherium und Flavobact. arborescens, und zwar ersteres in stärkerer Masse, dagegen vergärten 23 Stämme Glucose und Saccharose zu einigen anderen Säuren. Obwohl in der Rohwurst eine starke Bildung von Säure, hauptsächlich von Milchsäure, stattfindet, wobei der pH-Wert der Wurst von etwa 6,0 bis auf pH 4,8-4,9 herabgeht, haben trotzdem die Bakterien der Rohwurst einen verhältnismässig geringen Anteil an der Milchsäurebildung. Dagegen vollzieht sich eine Proteolyse der Eiweissstoffe zu einfacheren Verbindungen durch den Einfluss verhältnismässig zahlreicher in der Rohwurst vorkommender Bakterien. Dieser Prozess ist besonders bei der Reifung von Wichtigkeit.

Nachteilige Eigenschaften der aus Rohwürsten isolierten Bakterienstämme

Von den nachteiligen Eigenschaften der in der Rohwurst antreffbaren Bakterienstämme dürfte ihr Vermögen, aus Kohlenhydraten Gas zu bilden und eine Proteolyse der Eiweissstoffe bis zur Desaminierung der Aminosäuren und zur Ammoniakbildung herbeizuführen, zu erwähnen sein. In der Rohwurst nimmt die Ammoniakmenge stets während der Herstellung zu, hieran tragen wahrscheinlich die Bakterien der Wurst die Schuld. Die aus der Wurst isolierten Bakterien, welche Gelatine verflüssigen und Ammoniak aus Eiweissstoffen oder Aminosäuren sowie Gas aus Kohlenhydraten erzeugen, werden während des Räucherns der Wurst vernichtet. Während der kurzen Vortrocknung (4-5 Tage) haben diese Bakterien nicht die Möglichkeit, ihre nachteilige Wirkung auszuüben. In fertiger Roh-

wurst kommen als Hauptflora Lactobacillus-Arten vor. Nach unseren Untersuchungen handelt es sich dann um Lactobac. leichmannii und L. plantarum. Keiner von diesen beiden Stämmen verflüssigt Gelatine noch bilden sie Ammoniak aus Aminosäuren oder Gas aus Kohlenhydraten. In Tab. 1 sind diejenigen Bakterienstämme angegeben, die, falls ihre Tätigkeit zu weit fort dauern könnte, imstande wären, die Rohwurst schädlich zu beeinflussen. Darunter sind viel Mikrokokken, deren Gelatineverflüssigungs- und Ammoniakbildungs-vermögen sehr gering ist, weshalb sie als so gut wie ungefährlich angesehen werden können. Die nachteiligsten Bakterien sind in dieser Beziehung die der Gattung Bacillus angehörenden Arten, wie man aus Tab. 1 ersieht.

Die Reinkulturen

Man kann wohl sagen, dass sobald die Rolle der Bakterien in der Herstellung von Fleischprodukten bekannt geworden war, versuchte man auch die erwünschten Reaktionen mit Bakterienreinkulturen zu beschleunigen und in erwünschte Richtungen zu lenken. Die ersten amerikanischen Patente betreffs die Bakterienkulturen für die Wurstherstellung stammen vom Jahre 1922. Auch später hat es nicht an Versuchen gefehlt, mit zugesetzten Bakterien günstig auf die Reifung einzuwirken.

In den meisten Fällen hat man jedoch hierbei den chemischen Grundlagen so gut wie gar keine Aufmerksamkeit geschenkt, auf denen die Wirkungen der zugesetzten Bakterienkulturen beruhen. Dieser Sachverhalt ist leicht zu verstehen, wenn man bedenkt, mit welchen Schwierigkeiten solch eine Untersuchung immer verbunden ist: lange Versuchsperioden, unsteriles und unhomogenes Material. Man ist daher erst auf Grund eines umfangreichen Versuchsmaterials in der Lage, Schlussfolgerungen zu ziehen. Nach zweijähriger, im Laboratorium und in der Versuchsfabrik durchgeführter Forschungsarbeit, in welcher der chemische Grund der Wirkung einer Reinkultur (Micrococcus M53) geklärt wurde (Veröffentlichung: Acta Agr. Fennica 84, 1955), haben wir die Anwendungsmöglichkeit der besagten Kultur in industriellem Massstab studiert. Im Verlauf eines

Jahres haben wir den an unsere Anstalt angeschlossenen Fabriken eine Kultur zur Verfügung gestellt und laufend die Produktion kontrolliert. Dadurch bekommt man ein Bild von der Qualität und Beschaffenheit der Würste. Die im Verlauf eines Jahres durchgeführte Produktionskontrolle hat folgende Resultate gegeben.

Die chemische Zusammensetzung der Würste war folgende:

Wassergehalt	43,4-37,1 %	durchschn.	41,4 %
Eiweiss	21,2-18,2 %	"	19,9 %
Fett	38,7-29,5 %	"	33,3 %
Salz	5,5- 4,3 %	"	4,8 %
pH-Wert	5,6- 5,2	"	5,3

Die Daten gründen sich auf Analysenresultate von 114 Proben, die von 11 Fabriken herkommen. Von 56 Proben wurden die Wassergehalte sowohl im Kern der Wurst als auch in der Randpartie bestimmt; der Unterschied war durchschnittlich 9,9 %, was als normal angesehen werden muss.

Der durchschnittliche pH-Wert 5,3 ist ziemlich hoch, stimmt aber gut mit den deutschen Angaben über die pH-Werte der Rohwürste überein. Als erwünschenswerter pH-Wert der Rohwurst musste pH 5,0 angesehen werden, und mit sog. Schnellmethoden erreicht man auch leicht den pH-Wert 5,0. Bei längerer Herstellungszeit stellt sich leicht ein höherer pH-Wert ein.

Bezüglich des mikrobiologischen Bildes der Würste wurde folgendes festgestellt:

Es wurden die bakteriologischen Bestimmungen von 63 Wurstproben gemacht. Aufmerksamkeit wurde sowohl auf den Gehalt als auch auf die Qualität der Bakterien gerichtet. Der Totalgehalt an Bakterien in der Rohwurst liefert noch keinen Grund zum Beurteilen der Qualität oder der Haltbarkeit. Deswegen ist eine grobe Charakterisierung der gefundenen Bakterien durchgeführt worden. Eine diesartige Charakterisierung dürfte zum Zweck der praktischen Beurteilung genügen.

Die Gruppierung der Bakterienflora der Rohwürste.

10 Proben:	Hauptsächlich Lactobazillen
41 "	Viel Lactobazillen, wenig Mikrokokken
2 "	Viel Lactobazillen, wenig gramnegative Stäbchen
6 "	Viel Mikrokokken, wenig Lactobazillen
<u>4</u> "	Viel Lactobazillen, wenig Mikrokokken, gramnegative
63 "	Stäbchen und Bacillen

Beim Untersuchen des Bakteriengehalts der Rohwurstproben war also nicht die Absicht, alle möglichen Bakterienstämme findig zu machen. Es ist klar, dass man in fertiger Rohwurst stets Bakterien verschiedener Typen findet. Vielmehr bestand hier der Zweck festzustellen, welche Arten in der Bakterienflora vorherrschend sind und welche die Minorität ausmachen. Eine derartige grobe Untersuchung ist ausreichend, wenn es gilt, die Qualität der Rohwurst vom bakteriologischen Standpunkt zu kontrollieren.

Antagonistische Wirkung

Beim Verfolgen der fabrikmässigen Herstellung der Rohwurst mittels Impfen durch den Mikrokokkenstamm M53 konnten leider keine Kontrollwürste hergestellt werden. Immerhin wurde während der einjährigen Versuchsdauer die Feststellung gemacht, dass viel weniger misslungene Proben zur Untersuchung kamen als bei in üblicher Weise hergestellten Würsten. Die gleiche Beobachtung wurde schon bei den in der Versuchsfabrik durchgeführten Arbeiten gemacht: Die geimpften Würste hatten stets eine geringere Neigung zum Verderben als die Kontrollen. Woran liegt dieser Effekt?

Es wurde nachgewiesen, dass 1) der Stamm M53 im nitrathaltigen Milieu Hydroxylamin bildet, obwohl in kleinen Quantitäten. Diese Substanz hat einen starken bakteriziden Effekt. 2) Die Senkung des pH-Wertes findet schneller durch die Kohlenhydratespaltung statt, und 3) es wurde nachgewiesen, dass M53 einen, von den obigen Faktoren 1-2 unabhängigen Effekt auf die Fäulniserreger besitzt. Dieser Effekt hat wahrscheinlich seinen Grund in der antibiotischen Wirkung des Stammes. Die Wirkung liess sich sehr deutlich mit Reinkulturen auf der Petrischale nachweisen.

Danach hat der Stamm M53 eine verhältnismässig umfangreiche antagonistische Wirksamkeit. Er übt eine starke Wirkung auf die den Familien Achromobacteriaceae und Enterobacteriaceae angehörenden gramnegativen Arten aus. Ausserdem schwächt der Stamm M53 auch die Vermehrung und das Wachstum der zur Familie Bacillaceae gehörenden Arten. Diese Ergebnisse der Antagonismusversuche stehen im Einklang mit den früheren Resultaten, in denen eine Abnahme der Anzahl der Mikrokokken, der gramnegativen Stäbchen und der grampositiven Stäbchen im Verlauf der Wurstherstellung beobachtet wurde. Indem der Stamm M53 keine antagonistische Wirkung auf Arten der Familie Lactobacteriaceae auszuüben scheint, ist es verständlich, dass Lactobacillen zumeist die Hauptflora in der fertigen Rohwurst ausmachen. Es ist nämlich möglich, dass auch die anderen in Rohwürsten gewöhnlicherweise auftretenden Mikrokokken eine gleichartige antagonistische Wirkung wie der hier benutzte Stamm M53 besitzen.

Deutliche antagonistische Wirkung wurde gegen folgende aus der Rohwurst isolierten Bakterien nachgewiesen:

Micrococcus caseolyticus
M. candidus
M. conglomeratus
M. epidermidis
M. flavus
M. pyogenes var. albus
M. pyogenes var. aureus
M. ureae
M. varians
Sarcina citrea
S. lutea
Bacillus cereus
B. subtilis
Alcaligenes faecalis
Al. metalcaligenes
Achromobacter butyri
Flavobacterium arborescens
Aerobacter aerogenes

Folgende von den geprüften Bakterien waren dagegen völlig resistent gegen M53:

Micrococcus luteus
Gaffkya tetragena
Bacillus cereus var. mycoides
B. megatherium
B. sphaericus
Lactobacillus leichmannii
L. plantarum
Streptococcus faecalis

Alle geprüften Bakterienstämme waren aus gutgelungener Rohwurst während der Herstellung isolierte Arten.

Es ist eine wichtige Beobachtung, dass die Lactobacillen gegen M53 resistent sind, weil diese Bakterien eine wichtige Rolle in der Säurebildung im Anfangsstadium der Herstellung spielen und deswegen unentbehrlich für das Gelingen des Produktes sind. Welche antibiotisch wirkenden Substanzen der Stamm M53 bildet, ist noch nicht untersucht worden.

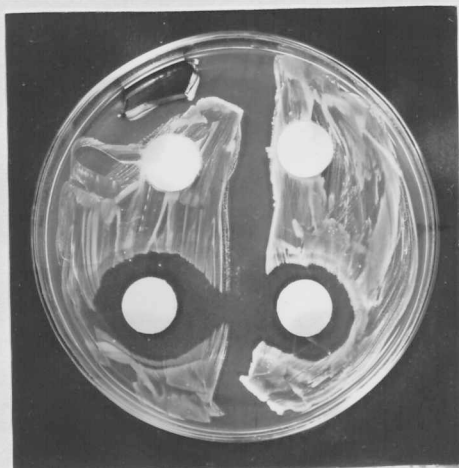


Abb. 2. Die antagonistische Wirkung von Micrococcus M53 auf Alcaligenes metalcaligenes und Flavobacterium arborescens

Mittels Reinkulturen kann man ohne Zweifel die Herstellung der Rohwurst positiv beeinflussen. Eine jede Kultur muss jedoch vor ihrem Einsatz in industriellem Massstab genauer Untersuchung unterzogen werden. Man soll die Möglichkeit der Reinkulturen nicht ohne Überlegung ablehnen, ebensowenig wie man solche Kulturen ohne genaue Untersuchung und Kontrolle in Gebrauch nehmen soll.

Besprechung

Mikroorganismen verursachen bei der Fleischverarbeitung teils erwünschte, teils unerwünschte Veränderungen in den Produkten. In der vorliegenden Arbeit werden einige aus Rohwürsten isolierte Bakterienarten beschrieben. Wie die Betrachtung der erhaltenen Resultate zeigt, wurden in den von uns untersuchten Würsten viele Keimarten angetroffen, die den von anderen Forschern (z.B. Lerche und seine Mitarbeiter) beschriebenen sehr ähneln.

Es wäre in dieser Hinsicht erstrebenswert, zwischen verschiedenen Forschungsanstalten ein koordiniertes Forschungsprogramm zu entwerfen, mit dem Ziel eine einheitliche Systematik in der Fleischmikrobiologie zu schaffen. Es soll hier nur an die auf Milch- und bodenwirtschaftlichem Gebiet bestehenden Arbeiten über die Systematik der einschlägigen Mikrobiologie erinnert werden.

In weiteren Untersuchungen über die biochemischen Eigenschaften des Mikrokokkenstammes M₅₃ wurde festgestellt, dass dieser Stamm auch antagonistische Eigenschaften besitzt. Diese sind deutlich gegen gewisse Bakterienarten, wie z.B. *Bacillus subtilis*, gerichtet, andere hingegen erwiesen sich als resistent gegenüber dessen Wirkung. Hierzu gehören z.B. die von uns untersuchten *Lactobacillus*-arten.

Vermutlich zeigen alle Rohwurstbakterien gewisse antagonistische Beziehungen zueinander. Diese berechtigen zu der Annahme, dass während der Rohwurstherstellung in jener eine Art biologischen Gleichgewichtes besteht. Eine bessere Kenntnis der Mikrobenflora der Rohwurst erlaubt aber deren für die Fleischtechnologie nützlichen Arten noch mehr zu fördern als bisher. Das kann entweder durch Veränderung der Umgebungsfaktoren oder durch Zusatz von Reinkulturen zum Wurstgut geschehen.

Unser Wissen über dieses Gebiet ist doch noch sehr lückenhaft. Eine wesentlich intensivere und ausgedehntere Forschungsarbeit wäre deshalb notwendig, um die biochemischen Grundlagen der Rohwurstreifung wissenschaftlich beherrschen zu können.

Summary

A survey on the microbiology of the dry sausage is presented as well as own investigations concerning this same subject are reported. About the results of these investigations may be mentioned:

1. Among the 215 bacterial strains isolated from dry sausages, 27 different species were found. Characterizing is based upon Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.

2. Special attention is paid to the part of bacteria in the ripening process of the dry sausage: to the acid formation, to the nitrate reduction, and preliminary also to the production of flavour. Further, bacterial strains are described which have a detrimental effect on the ripening or the keeping quality of the dry sausage.

3. Earlier investigations into the significance of Micrococcus M53 on the ripening process of the dry sausage have been continued. Observations on the use of a bacterial pure culture in industrial scale, based on the results received during an experimental period of one year, are presented. It has been found that the culture solution of the bacterium, concentrated and filtered with a membrane filter, prevents the growth of the bacterial strains belonging e.g. to the families Bacillaceae, Enterobacteriaceae and Achromobacteriaceae. On the other hand, among the strains belonging to the family Lactobacteriaceae, no weakness has been observed. Thus the strain Micrococcus does not prevent the activity of the Lactobacilli, and acid formation caused by these.