

E-4

ELEVENTH MEETING OF EUROPEAN MEAT RESEARCH WORKERS
BEOGRAD, AUGUST 16th to 22nd, 1965.

METHODE DER KÜHLUNG ALS FAKTOR DER HALTBARKEIT DES FLEISCHES
DER GEMÄSTETEN JUNGRINDERN

(METHOD OF CHILLING AS A DURABILITY FACTOR OF BABY BEEF)

Oluški Velimir

Kovačević Miroslav

Oluški Ana

Živanović Radmila

Yugoslav Meat Institute

Beograd-Yugoslavia

METHODE DER KÜHLUNG ALS FAKTOR DER HALTBARKEIT DES FLEISCHES DER
GEMÄSTETEN JUNGRINDERN

Die Mast der Jungrinder und die Erzeugung des qualitativen Rindfleisches sind ein wichtiger Zweig der jugoslawischen Wirtschaft geworden. Die Ausfuhr des frischen Fleisches vor allem nach Grossbritannien und Italien, übersteigt nach dem Werte die Ausfuhr der Konserven. Transport des abgekühlten Fleisches und damit verbundene Haltbarkeit ist das Gebiet in welchem trotz schon erreichtem Fortschritt noch viele Probleme ihre endgültige Lösung erwarten.

Es ist bekannt, dass die Qualität des Rindfleisches, die von vielen Faktoren abhängig ist, auch selbst die Dauer seiner Haltbarkeit beeinflusst. Das Fleisch der älteren Rinder, das mit dem Talg überzogen wird, ist länger haltbar als das Fleisch der jungen und mageren Tiere. Die Dauer der Haltbarkeit wird auch von dem Regime der Lagerung, des Transportes und der Kühlungsweise beeinflusst.

Obwohl es klar wird, dass das Verderben des gekühlten Fleisches durch die psychrophilen Bakterien hervorgerufen wird, geben doch die Meinungen der Forscher auseinander in der Frage, welche Arten von Mikroorganismen für das Verderben verantwortlich sind.

Ayres (3) fand, dass zwischen auf dem Fleisch entwickelter Flora und der Temperatur der Lagerung eine bestimmte Beziehung besteht. Das auf der niedrigeren Temperatur gehaltene Fleisch zeigt eine verminderte Zahl von Bakterien, in erster Reihe von *Pseudomonas* und Mikrokokken. *Pseudomonas* ist bei den Temperaturen bis 15°C vorherrschend, über diese Temperatur ist die Zahl der *Pseudomonas* und Mikrokokken gleich. Es wurden einzelne Angehörigen der Stämme *Achromobact.*, Flavobakterien, *Bazillus*, *Clostridium* und *Streptococcus* gefunden, die Enterobakterien und Staphylokokken wurden aber auf dem unter 10°C einige Tage gelagerten Fleisch nicht entdeckt.

Čistjakov und Joromenko (8) fanden, dass die vorherrschende Flora auf dem schleimigen Fleische die *Achromobakterien*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* und *Serratia* sind. Allen und Foster (1) halten dass das Verderben des in Schnitzel geschnittenen und im Vakuum eingepackten Fleisches durch *Lactobazillen* verursacht wird.

Die Geschwindigkeit der Vermehrung der Mikroorganismen im Fleisch wird in bedeutendem Masse von der Kühlungsweise beeinflusst. Neimeyer (17) bewies, dass die Zahl der Bakterien auf der Oberfläche der schnell gekühlten Rinderrumpfe kleiner war als auf den Oberflächen der durch langsames Verfahren gekühlten Rumpfe. Zu gleichen Feststellungen gelangen auch andere Forscher wie z. B. Kuprianoff (15), Chapel (7), Emblik (10). Sinell (23) gelang es durch den Gebrauch des kalten Schocks (Temperatur -25°C und Zirkulation 300 im Laufe 1 Stunde) den Wuchs der Bakterien auf der Oberfläche des Schweinfleisches zu inhibieren. Gac und Mitarbeiter (11) haben nicht feststellen können, dass die Kühlungsweise den langsameren oder schnelleren Wuchs der Bakterien auf der Oberfläche des Rindfleisches beeinflusst.

Schnelle moderne Kühlung, obwohl bestimmte Variationen bestehen, gründet sich auf der Anfangsnützung der Minustemperaturen für eine längere oder kürzere Zeitperiode (9, 10, 15, 12, 7, 24) zum Unterschiede von der langsamen, wo die Temperatur der Luft in dem Kühlraum nicht unter 0°C fällt.

Das Fleisch der gemästeten für den Export bestimmten Jungrinder wird in allen jugoslawischen Schlachthöfen

48 Stunden bei der Lufttemperatur nicht unter 0°C gekühlt (14, 18). Dafür bestehen zwei Gründe: a) man hält, dass auf diese Weise abgekühltes Fleisch länger haltbar sei, als das durch schnelles Kühlverfahren abgekühltes Fleisch, da im der langen Kühlung eine trockene Oberhaut geschaffen wird, die das Fleisch während des Transports vor dem Verderben schützt (21) und b) die Kühlkammern sind so eingerichtet, dass die Temperatur, regelmässig, nicht unter -1°C fallen kann.

In dieser Arbeit haben wir versucht die Haltbarkeit des Fleisches der gemästeten Jungrinder, das durch schnelles Kühlverfahren abgekühlt wurde mit demjenigen, das dem langsamen Kühlverfahren unterlag, zu vergleichen und die Zahl und Arten der im Fleische unmittelbar von dem Kühlbeginn und im Laufe der Lagerung sich befindenden Mikroorganismen festzustellen.

Arbeitstechnik

Material.— Die Rindrumpfe wurden auf die übliche Weise bearbeitet wie wenn man das abgekühlte Fleisch der gemästeten Jungrinder auf den englischen Markt schickt. Linke Hälfte wurden durch langsames und die rechten durch schnelles Verfahren abgekühlt. Es wurde in zwei Partien gearbeitet, beidesmal mit je fünf Rumpfen.

Langsames Kühlverfahren.- Die Kammer wird auf $+4^{\circ}\text{C}$ abgekühlt. Die Lufttemperatur beträgt in ersten 24 Stunden 0° bis $+2^{\circ}\text{C}$ und in den nächsten 24 Stunden $+2^{\circ}$ bis $+4^{\circ}\text{C}$. Die Geschwindigkeit der Luftströmung $0,5\text{ m/s}$. Relative Feuchtigkeit zu Beginn der Kühlung 95% , am Ende 85% . Die Hälften werden nach ersten 24 Stunden der Kühlung in die Viertel geschnitten.

Schnelles Kühlverfahren.- Die Hälften werden im Tunnel bei der Temperatur von $-9,5^{\circ}\text{C}$ bis $-10,5^{\circ}\text{C}$ während 3 Stunden gekühlt. Die Luftzirkulation war $3,5\text{ m/s}$. Die Tätigkeit des Ventilators war auf je 10 Minuten in jeder Stunde des Aufenthalts im Tunnel begrenzt. Nachher werden die Hälften in die Kammer mit Temperatur von $+2^{\circ}\text{C}$ und der Luftzirkulation $1,2\text{ m/s}$ gebracht, wo sie nach 19 Stunden bleiben und erst dann in die Viertel geschnitten.

Lagerung.- Die durch langsames Verfahren abgekühlte Hälften werden nach 48 Stunden und diejenige mit schnellem Verfahren nach 24 Stunden in die Kammer mit stiller Kühlung bei $+4^{\circ}\text{C}$ gebracht, wo sie 18 Tage gehalten werden. Relative Feuchtigkeit bewegte sich von 85 bis 90% .

Bakteriologische Untersuchung.- Die Proben wurden von drei Stellen jeder Hälfte genommen u.zw. von *M. gracilis* auf der Stelle seiner Zerschneidung bei Symphysis

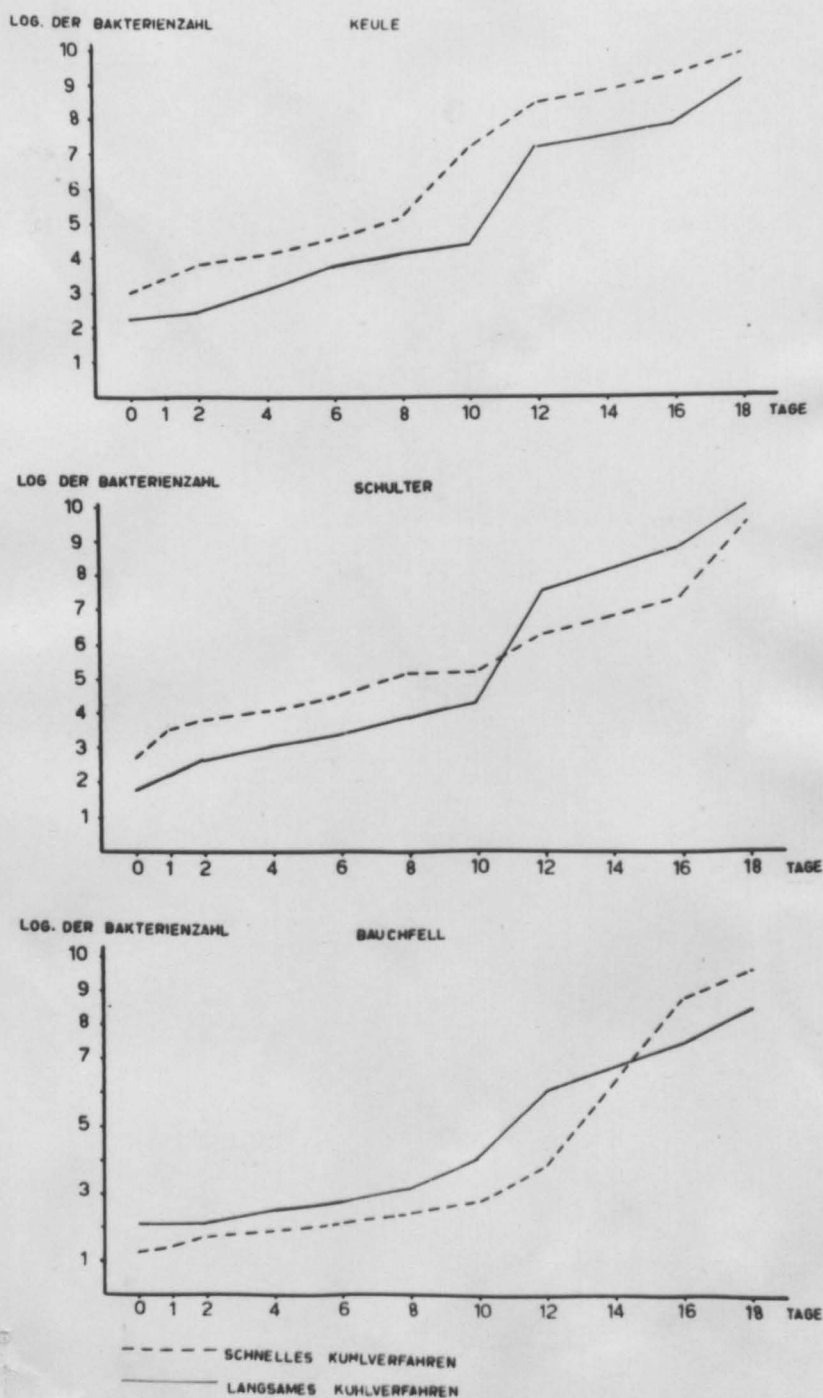
pelvis, von M. triceps und Peritoneum. Die Muskelsegmente mit einer Oberfläche von 4 cm^2 wurden mittels sterilen Skalpels ausgeschnitten. Ihre Dicke betrug nur einige mm und das Gewicht überstieg keine 2 Gramm. Von dem Bauchfell wurde nur Peritoneum entnommen. Die Vorbereitung der Proben, Isolierung und Determination der Mikroorganismen wurde mit der üblichen bakteriologischen Technik nebst dem Gebrauch der physiologischen Lösung und entsprechenden allgemeinen und speziellen Nährböden durchgeführt. Gesamtzahl wurde auf dem Nähragar bestimmt. Die Platten wurden bei 20°C drei Tage inkubiert. Determination der psychrophilen gramnegativen Stäbchen (*Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*) wurde nach der von Buttiaux und Gagnon (6) empfohlenen Methodik ausgeführt. Enterobacteriaceae wurden nach der Methode Kauffmanns (13) isoliert und determiniert. Mikrokokken und Bazillen wurden nach Bergoy (5) determiniert. Streptokokken wurden nach der Barnes (4) Methode isoliert und nach Seelenmann (22) determiniert. Zur Isolierung von Lactobazillen wurde M.R.S. Bouillon nach de Man, Rogosa und Sharpe (16) verwendet. Determination wurde nach der Methode Rogosa M. und Sharpe M.E. (20) durchgeführt.

Resultate und Diskussion

Gesamtzahl der Bakterien auf den durch schnelles bzw. langsames Verfahren gekühlten Rinderhälften wird im Graphikon 1. dargestellt. Es wurden die Mittelwerte von 10 Proben

GESAMTE ZAHL DER BAKTERIEN

GRAPHIKON 1.

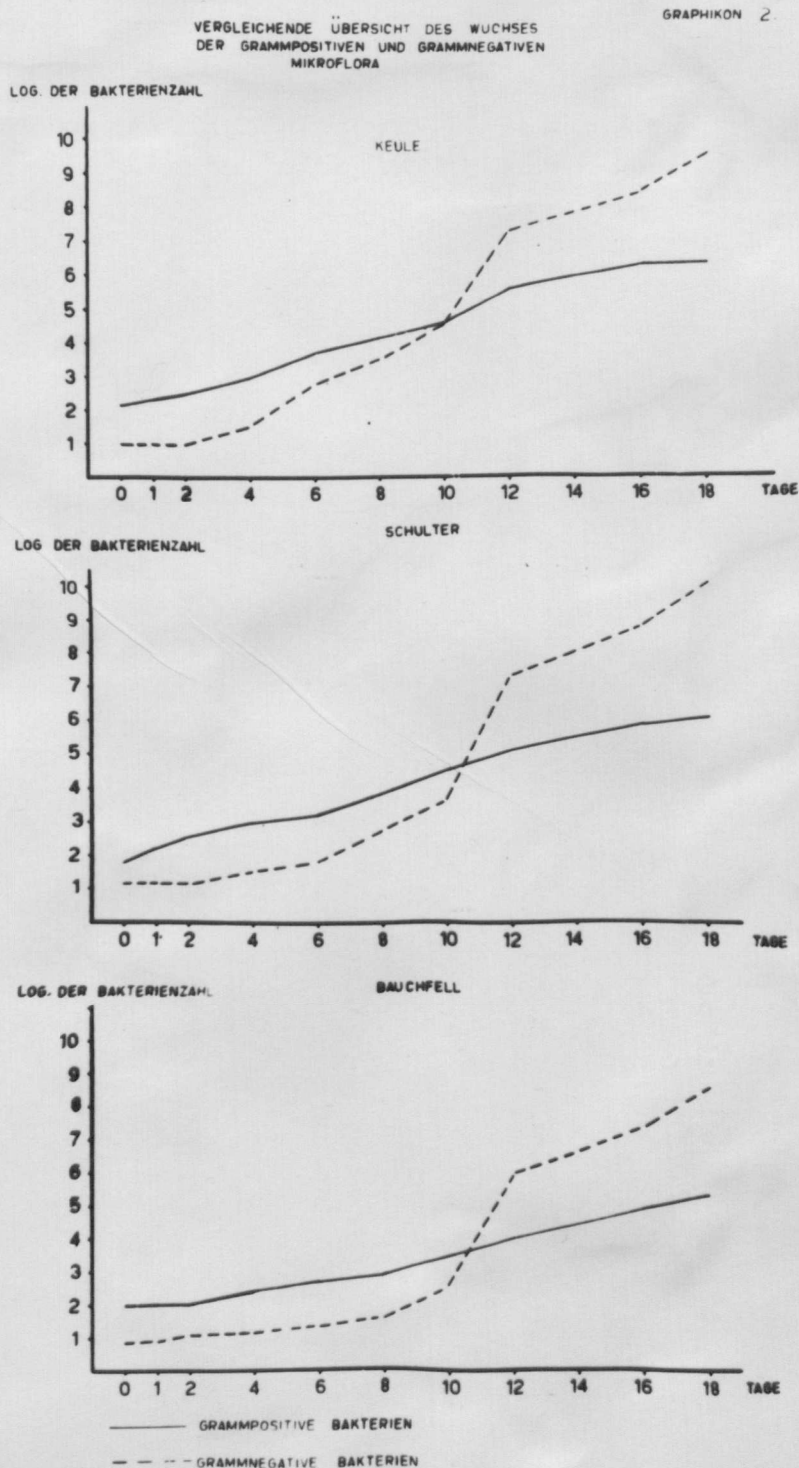


gegeben. Anfangszahl der Mikroorganismen ist niedrig und bewegt sich von 50 bis 1000 auf 1 cm². Die grösste Zahl befindet sich auf dem Oberschenkel (auf der Stelle des Durchschnitts *M. gracilis*) ein wenig kleinere auf der Schulter und die kleinste auf dem Peritoneum. Der Verlauf der Kurven ist charakteristisch ohne Rücksicht ob es sich von dem langsamen oder schnellen Verfahren handelt, und welcher Teil der untersuchten Hälfte in der Frage steht. In ersten zehn Tagen ist der Wuch der Bakterien ständig und gleichmässig. Nach dem 10. Tage nimmt die Zahl der Bakterien schnell zu. Die Unterschiede in der Zahl der Bakterien auf dem langsam bzw. schnell gekühlten Fleisch werden im Laufe der Lagerungszeit minimal, so dass sie praktisch vernachlässigt werden können.

Die jähe Zunahme der Bakterienzahl nach dem 10. Tage wird auch von der Veränderung der Mikroflora des gekühlten Fleisches begleitet. Während in ersten zehn Tagen die grampositiven Mikroorganismen vorherrschten nahm nach dem 10. Tage die Zahl der gramnegativen zu und überstieg die Zahl der grampositiven (Graphikon 2).

Grammpositive Mikroflora zeigt die Tendenz des gleichmässigen Wachses im Laufe der ganzen Untersuchungszeit, während bei der gramnegativen Mikroflora zwei Perioden

unterschieden werden: Periode des gleichmässigen Wuchses (bis zum zehnten Tage) und Periode des stürmischen Wuchses (nach dem Zehnten Tage). Es gab kein Unterschied in dieser Hinsicht bei dem schnell bzw. langsam gekühlten Fleische und deshalb wurden im Graphikon 2. die Werte für langsam gekühltes Fleisch gegeben.

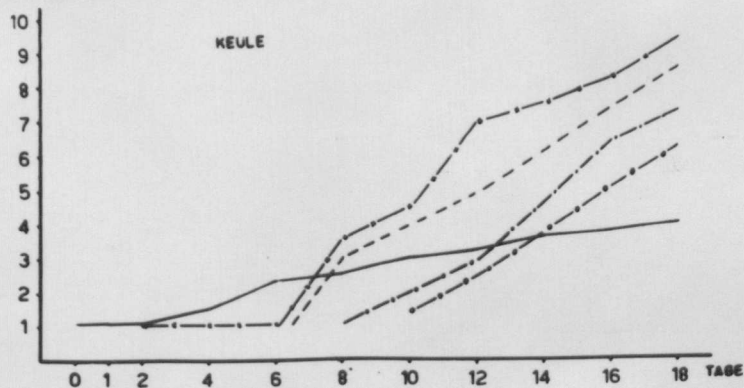


Wir fanden keine wesentlichen Unterschiede in der Zusammensetzung und Zahl der gramnegativen (Graphikon 3) und grampositiven Mikroflora (Graphikon 4) ohne Rücksicht darauf, auf welche Weise die Hälfte gekühlt und von

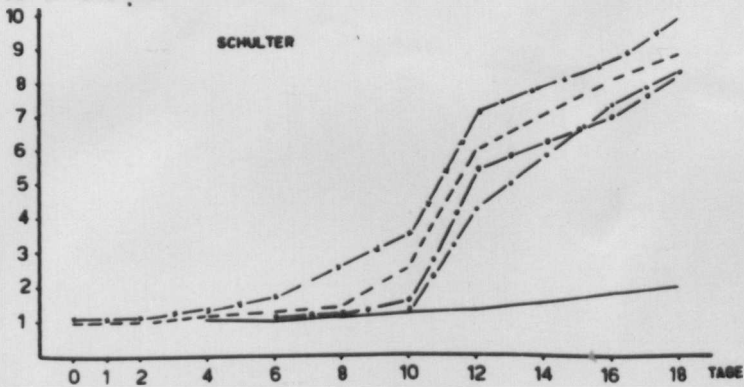
WUCHS DER GRAMNEGATIVEN MIKROFLORA

GRAPHIKON 3.

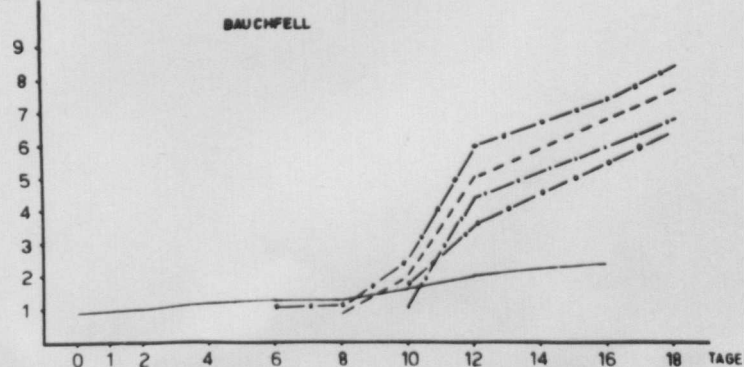
LOG. DER BAKTERIENZAH



LOG DER BAKTERIENZAH



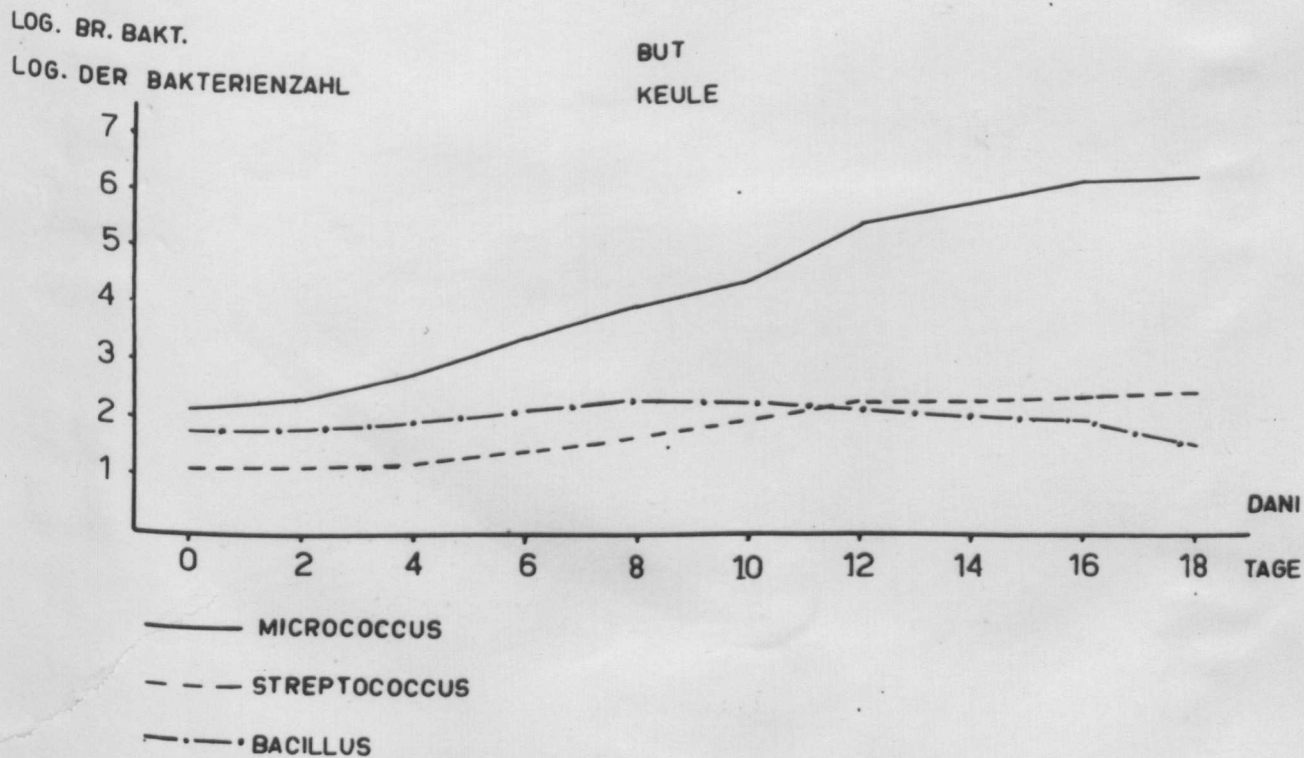
LOG. DER BAKTERIENZAH



- ACHROMOBACTER
- - - PSEUDOMONAS
- ALCALIGENES
- ... FLAVOBACTERIUM
- ENTEROBACTERIACEAE

RAST GRAMPOZITIVE MIKROFLORE
WUCHS DER GRAMMPOSITIVEN MIKROFLORA

GRAFIKON 4.
GRAPHIKON



welchen Stellen der Hälften das untersuchte Fleisch entnommen wurde. Aus diesen Gründen haben wir in Graphikonen 3. und 4. die grampositive und gramnegative Mikroflora der langsam gekühlten Hälften dargestellt. Resultat ist der Mittelwert von zehn Untersuchungen.

Enterobakterien wurden unmittelbar nach dem Schlachten festgestellt. Es wurde *B. proteus* gefunden. Der Wuchs des *Proteus* ist konstant aber allmählich, so

dass andere gramnegative Mikroflora ihn im Laufe der Lagerung nach der Zahl bedeutend übersteigt. Salmonellen wurden nicht entdeckt. *Achromobacter* befindet sich schon am zweiten Tage auf den Keulen und den Schultern und erst am sechsten Tage auf dem Bauchfell. Er vermehrt sich sehr intensiv und wird am Zahlreichsten vertreten. Es folgen *Pseudomonas*, *Alcaligenes* und *Flavobacterium*.

Lactobazillen kommen im Laufe der ganzen Lagerungszeit vor. Es wurden 86 Stämme isoliert. Alle sind homoferment und alle gedeihen bei 15° und 30°C. Bei 45°C wurde in allen Fällen kein Wuchs registriert. 83 Stämme wurden als *L. plantarum* identifiziert, während 8 unidentifiziert blieben.

Mikrokokken werden am zahlreichsten in der grampositiven Mikroflora vertreten. Sie wuchsen im Laufe der ganzen Lagerungszeit zum unterschied von der Streptokokken und Bazillen, deren Zahl fast unverändert bleibt. Mikrokokken werden mit: *M. candidus*, *M. colpogenes*, *M. caseolyticus*, *M. freudenreichii*, *M. luteus*, *M. flavus*, *M. cryophilus* vertreten. Von den Streptokokken wurden: *Str. faecium*, *Str. faecalis*, *Str. bovis* gefunden. Von den Bazillen wurden: *B. pumilus*, *B. subtilis*, *B. firmis*, *B. circulans*, *B. megatherium*, *B. cereus* festgestellt.

Die Hefen wurden vereinzelt seit dem zweiten und die Schimmel seit dem zehnten Tage der Lagerung festgestellt.

Die Hauptmikroflora des gekühlten Fleisches in den späteren Kühlperioden wird von den gramnegativen Mikroorganismen (3, 19) gebildet. Unsere Befunde sind ein Beitrag mehr solcher Behauptung. Das Verderben des gekühlten Fleisches wird zweifellos von den gramnegativen Mikroorganismen verursacht, da grampositive Mikroflora (überwiegend durch Mikrokokken vertreten), zahlenmäßig kleiner, keinen bedeutenden Anteil an dem Abbau des Eiweisses des frischen Fleisches haben kann.

Auf Grund unserer Befunde können wir nicht behaupten, von welcher Art der Mikroflora die Schleimigkeit des gekühlten Fleisches hervorgerufen wird. Zum Unterschied von Ayers (11), nach welchem *Pseudomonas*, am meisten vertretene Art der gramnegativen Mikroflora und höchst wahrscheinlich der Verursacher des Verderbens des gekühlten Fleisches sei, sprechen unsere Befunde mehr dafür, dass das Verderben des gekühlten Fleisches Resultat der gemeinsamen Lebenstätigkeit der *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* und *Flavobacterium* ist. Die Unterschiede in der Zahl zwischen *Achromobacterium* (der am meisten vertreten ist)

und Flavobacterium (am wenigsten vertreten) sind nicht zu stark ausgeprägt. Ähnlich was auch der Fall bei Čistjakov und Jeremenko (8), war, haben wir festgestellt, dass am meisten Vertretene Flora das gekühlten Fleisches die Art der Achromobacter ist.

Die Kühlung der Hälfte 3 Stunden im Tunnel bei $-9,5^{\circ}\text{C}$ bis $-10,5^{\circ}\text{C}$ nebst der zeitweiligen (dreimal je 10 Minuten) Zirkulation von 3,5 m/s führte zu keiner Gefrierung irgendwelchen Teiles der Hälften, und war auch nicht im Stande eine bedeutendere Reduktion der oberflächlichen Mikroflora herbeizubringen. Kombiniert mit der Kühlung in der Dauer von 19 Stunden bei $+2^{\circ}\text{C}$ war sie genügend, das Fleisch abzukühlen und sie für die Lagerung haltbar machen, in gleichem Masse wie das 48 Stunden gekühltes Fleisch. Die Zahl und Zusammensetzung der Mikroflora des langsam oder schnell gekühlten Fleisches sind so unbedeutend, dass sie vernachlässigt werden können.

Obwohl wir, zum Unterschiede von anderen Autoren, nicht festgestellt haben, dass durch die schnelle Kühlung des Fleisches die Zahl der Bakterien auf der Fleischoberfläche vermindert wird (15, 7, 10), bewiesen

wir doch, dass dieselbe, in der Frage des bakteriologischen Bildes, in Bezug auf langsame Kühlung nicht zurückbleibt. Die Möglichkeit der Verkürzung der Kühlung des Fleisches der gemästeten Jungrinder von 48 auf 24 Stunden ist real. Es wäre nötig bei dem Aufbau neuer oder der Rekonstruktion der alten Kühlräume die Möglichkeit zu schaffen, um das schnelle Kühlverfahren für das Fleisch der gemästeten Jungrinder einführen zu können.

S c h l u s s

1. Gesamte Zahl der Bakterien im Fleische der gemästeten Jungrinder unmittelbar nach dem Schlachten ist niedrig und bewegt sich von 50 bis 1000 Mikroorganismen auf 1 cm².

2. In ersten 10 Tagen der Lagerung des gekühlten Fleisches bei +4°C und der relativen Feuchtigkeit von 85% bis 95% war der Wuchs der Gesamtzahl der Bakterien ständig, aber gleichmässig. Der schnelle Wuchs der Bakterienzahl nach dem zehnten Tage wird von der Veränderung der Mikroflora begleitet. Während in ersten zehn Tagen die grampositiven Mikroorganismen vorherrschten, stieg in dieser Periode die Zahl der Gramnegativen stürmisch und überholte bedeutend die Zahl der Grampositiven.

3. Die häufigsten Vertreter der gramnegativen Mikroflora sind: *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* und *Flavobacterium*.

Im Laufe der ganzen Lagerungsperiode wurden auch *Lactobazillen* gefunden. Grampositive Mikroflora wird überwiegend von Mikrokokken gebildet. Streptokokken und Bazillen kommen in unbedeutender Zahl vor. Die Hefen und Schimmel werden nur einzelnweise festgestellt.

4. Resultate unserer Untersuchungen weisen auf die Möglichkeiten hin bisheriges Kühlverfahren für das Fleisch der gemästeten Jungrinder, die für den Export bestimmt sind, von 48 Stunden (bisherige Dauer) auf 24 Stunden zu verkürzen, da mikrobiologische Bilder der auf eine oder andere Weise gekühlten Hälften sich untereinander nicht unterscheiden.

S u m m a r y

1. The total number of bacteria in baby beef immediately after slaughter is small and ranges from 50 to 1000 microorganisms per 1 sq. cm.

2. During the first ten days of chilled beef storage at 4°C and the relative moisture of 85% to 95%, there is a steady increase of total bacterial number. A rapid increase in the number of bacteria which occurs after ten days of storage is accompanied by changes in microbial flora. While during the first ten days Gram-positive microorganisms were predominant, after that period there was a rapid increase in Gram-negative microorganisms which by far outnumbered the Gram-positive microorganisms.

3. Among the Gram-negative microbial flora, the most numerous are *Achromobacter*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes* and *Flavobacterium*. *Lactobacilli* were also found during the whole period of storage. Gram-positive microbial flora is largely composed of micrococci. *Streptococci* and *bacilli* were found in a negligible number. Occasionally, yeasts and molds were found.

4. The results of our study indicate that the chilling method of baby beef for export which has been used so far, might be shortened from 48 to 24 hours, for the sides chilled in one or the other way showed no differences in microbiological picture.

Literatur

1. Allen, J.R., Foster. E.M.: Food Res., No 1, 19, 1960.
2. Antešić, D.: Tehnologija mesa, No 7-8, 588, 1964.
3. Ayres, J.C.: Food Res. No 1, 1, 1960.
4. Barnes, E.M.: J. gen. Microbiol. 14, 57, 1956.
5. Bergey, D. H.: Manual of determinative bacteriology, 7th Edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore 1957.
6. Buttiaux, R., Gagnon, P.: Anual de L'institut de Pasteur de Lille, Vol. X (1958/1959).
7. Chapel, G.: DSZ, 8, 271, 1958.
8. Čistjakov, F., Jeremenko, V.: Mjasnaja ind. SSSR, 5, 44, 1960
9. Collin, D.: Rev. gen. froid, 12, 1955, 1964.
10. Emblik, E.: DSZ, 8, 304, 1963.
11. Gac, A., Tupin J.P.: Rev. gen. froid, 9, 1079, 1964.
12. Morgens, J., Nielsen, H., Petersen, H.: Die Fleischwirtschaft 4, 261, 1960.
13. Kauffmann, F.: Enterobacteriaceae 2nd Ed. Munksgaard, Copenhagen, Denmark, 1964.
14. Kovačević, M.: Tehnol. mesa, 12, 718, 1964.
15. Kuprianoff, J.: Annex 1964, 3 supplement au Bulletin de L'Institut International du Froid, Paris, 1964.
16. Man I.C. de, Rogosa M., Sharpe M. Elisabeth, J. appl. Bact. 23, 130, 1960.
17. Neimeyer, H.: SVZ 12, 407, 1959.
18. Otenheimer, A.: Tehnol. mesa, 4, 482, 1964.
19. Otenheimer, A., Živanović Radmila: Tehnologija mesa 7-8, 15, 1962.
20. Rogosa, M., Sharpe, M. Elisabeth J. appl. Bact., 22, 329, 1959.

21. Savić, T.: Tehnologija mesa, 4, 105, 1963.
22. Seelmann, M. Zbl. Bakt. Abl. I Orig. 1958, 245-257, 1952.
23. Sinell, H.: Referat u Arch. f. Lebensmittelhyg, 15 (1), 17, 1961.
24. Šućur, B., Saradžić, Z.: Tehnol. mesa, 5, 14, 1962.