X III . TAGUNG DER EUROPÄISCHEN FLEISCHFORSCHER

Rotterdam 20. - 26. August 1967

Die Einwirkung der Atmosphäre mit verschiedenen Konzentrationen von zugesetztem Kohlendioxid oder Stickstoff auf die Eigenschaften des kühlgelagerten Fleisches.

M.S. POHJA, ARMI ALIVAARA und O.SORSAVIRTA

Forschungszentrum für die Fleischindustrie,
Hämeenlinna, Finnland

Diese Arbeit wurde mit Unterstützung eines Stipendiums vom Landwirtschaftlichen Forschungsdienst des Landwirtshaftsministeriums der U.S.A. durchgeführt (U.S. Public Law 480)

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG

2. FRÜHERE VERSUCHE ÜBER DIE ANWENDUNG VON KOHLENDIOXID UND STICKSTOFF

3. EIGENE VERSUCHE

3.1. Versuchsmaterial und Lagerungsbedingungen

3.2. Die Kühlschränke

3.3. Mikrobiologische Untersuchungen

3.4. Ergebnisse

3.4.1. Haltbarkeitszeit

3.4.2. Organoleptische Beurteilung

3.4.3. Veränderungen in der Mikrobenanzahl

3.4.4. Veränderungen in der Zusammensetzung der Bakterien

4. Betrachtung des Ergebnisses

5. Überblick

6. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

Das Kohlendioxid ist ein notwendiges Metabolit für alles biologische Leben. Es kann hinsichtlich des Stoffwechsels zu den wichtigsten organischen Stoffen des pflanzlichen und tierischen Lebens gezählt werden. Beim Fehlen von Kohlendioxid wird das Wachstum der Mikroben unterbrochen, es sei denn, im Nährboden befinden sich unmittelbare Fixationsverbindungen dieses Gases. Normalerweise genügt die Kohlendioxidkonzentration der Atmosphäre (0,03 Vol.%) den meisten Organismen, aber einige, wie manche Schimmelarten, gedeihen am besten bei einem CO_2-Gehalt von etwa 1%. Dagegen unterbricht erwiesenermassen eine hohe Kohlendioxidkonzentration das Wachstum von vielen Mikroben.

Aufgrund der mikrobiostatischen Eigenschaft hat man das Kohlendioxid mit gutem Erfolg als konservierendes Gas u.a. in Kühllagern für Eier, Fisch, Gemüse und Obst angewandt. U.a. schreibt KALOYEREAS (1949), dass das Kohlendioxid den mikrobiellen Verfall von Trockenobst und -gemüse verhindere. EMPEY und VICKERY (1933) berichten, dass auf Schiffen mit Rindfleischladungen von Australien nach Neuseeland und England das Fleisch in einer höheren CO_2 -Atmosphäre als normal aufbewahrt werde. Auch Stickstoff wurde als konservierendes Gas getestet, aber die Ergebnisse waren längst nicht so gut wie mit Kohlendioxid.

Die Literatur über die Anwendung des Kohlendioxids und des Stickstoffs als konservierende Gase ist sehr reich, doch die Lagerung von Fleisch in einer CO_2 -Atmosphäre ist nicht oft anzutreffen.
Dies liegt an den sehr einseitigen Versuchen, die vor allem das Ziel hatten, die Verlängerung der Haltbarkeitsdauer abhängig vom CO_2 zu zeigen, ohne auf die chemischen und mikrobiellen Veränderungen im Fleisch detaillierter zu achten. In einigen Arbeiten wurde versucht, die Wirkung des CO_2 auf die Zusammensetzung der Mikroben an der Oberfläche des Fleisches zu klären, aber über Veränderungen des Fleisches in der Zusammensetzung von Protein, Amino- und Fettsäuren gibt es in der Literatur sehr geringe Kenntnisse. Einige Versuche wurden gemacht, den inhibitorischen Wirkungsmechanismus des Kohlendioxids zu klären. Manche Wissenschaftler teilen die Auffassung, dass die bakteriostatische und fungisidische Wirkung des CO_2 nicht nur damit zu erklären sei, dass es den pH-Wert des Nährbodens herabsetze oder dass aus diesem Grund die Zustände nur teilweise oder vollkommen anaerobisch seien (u.a. VALLEY und RETTGER, 1927; KILLEFER, 1930; CALLOW,1932; MORAN etal., 1932).

2. FRÜHERE VERSUCHE ÜBER DIE ANWENDUNG VON KOHLENDIOXID UND STICKSTOFF

Schon 1882 führte KOLBE die ersten Versuche durch, Fleisch in einer Kohlendioxidatmosphäre aufzubewahren. Er stellte fest, dass Ochsenfleisch noch nach 14 Tagen in einer CO_2 -Atmosphäre bei einer Höchsttemperatur von +32°C vollkommen einwandfrei war, aber bedeutend mürber als frisches Fleisch. Bei seinen Versuchen hielt sich das Fleisch sogar 4-5 Wochen vollkommen einwandfrei.

Die ersten Versuche über die Anwendung des Stickstoffs, die Haltbarkeitsdauer des Fleisches heraufzusetzen, haben LANGE und POPPE schon 1910 durchgeführt. Sie bewahrten Rind- und Schweinefleisch bei einer Temperatur zwischen 19,2° und 19,8°C in einer Stickstoff- und auch normalen Atmosphäre auf. Das Fleisch in der Stickstoffatmosphäre roch schon in 2 Tagen nach Schwefelwasserstoff.

Nach diesen Untersuchungen wurden diese Gase erst in den 30er Jahren unseres Jahrhunderts als Konservierungsmittel beachtet . Dabei stellte u.a. KILLEFER (1930) fest, dass Schweine- und Lammfleisch in einer CO_2 -Atmosphäre 3 Wochen vollkommen einwandfrei blieb, während das Fleisch in normaler Atmosphäre schon nach 10 Tagen verdorben war. CALLOW (1932) untersuchte die Haltbarkeit von Schweinefleisch bei 0°C in einer Kohlendioxid- und auch Stickstoffatmosphäre und schreibt in seinen Ergebnissen, dass das Schweinefleisch noch nach 56 Tagen vollkommen einwandfrei gewesen sei. Das genauso lange in der N_2-Atmosphäre aufbewahrte Fleisch war nicht mehr essbar. In normaler Atmosphäre gab es auf dem Fleisch schon nach 17 Tagen einen reichlichen Mikrobenbestand. Bei diesen Versuchen zeigte sich, dass das Kohlendioxid die Fleischfarbe beeinflussen kann. Der Farbstoff des Fleisches, Myoglobin, bildet nämlich leicht mit verschiedenen Gasen Komplex-verbindungen. BROOKS (1933) stellte fest, dass das Fleisch bei grosser CO_2 -Konzentration schnell seine rote Farbe verliert. Aufgrund seiner Ergebnisse schreibt er, dass eine CO_2-Konzentration von weniger als 20% noch nicht die Oxidationsgeschwindigkeit des Farbstoffes beeinflusse, doch ein grösserer Gehalt an CO_2 die Fleischfarbe unangenehm verändere . Zu demselben Ergebnis kamen auch KIDD und MORAN (1938). Sie stellten fest, dass frisches Schweinefleisch, das nicht so viel Myoglobin wie Rindfleisch enthält, ohne Farbfehler bei höherem CO_2-Gehalt aufbewahrt werden kann. Nach ihren Versuchen tritt kein Farbfehler bei einem CO_2-Gehalt unter 10% auf.

Nach neueren wissenschaftlichen Ergebnissen (OGILVY und AYRES, 1951 a und b) ist ein CO_2-Gehalt von 25% das Maximum, bei dem das Fleisch aufbewahrt werden kann, ohne dass ein Farbfehler auftritt.

Das Verderben des Fleisches im Kühllager hat seine Ursache vor allem in der Zunahme der Mikroben an der Oberfläche und im Inneren des Fleisches. Nachgewiesenermassen verhindert das Kohlendioxid die Vermehrung der Organismen, die für das Verderben des Fleisches verantwortlich sind. Viele Wissenschaftler haben über die Wirkung des Kohlendioxids auf die Zunahme der Mikroben berichtet, doch sehr wenige Arbeiten behandeln die Frage, wie sich die Zusammensetzung der Mikroben beim Fleisch unter Einwirkung des Kohlendioxids oder des Stickstoffs verändert.

In den durchgeführten Versuchen zur Haltbarkeit wurde versucht, einen Weg zu finden, die Haltbarkeitszeit möglichst genau zu bestimmen. Als Kriterium für die Haltbarkeitszeit des Fleisches wurde der Moment der Erscheinung schlechten Geruchs und der Schleimbildung betrachtet. Ausserdem wurde die Anzahl der Bakterien auf dem Fleisch als Kriterium genommen. Allerdings erhielten verschiedene Wissenschaftler sehr voneinander abweichende Werte für die Bakterienanzahl.

LOCHEAD und LANDERKIN (1935) stellten fest, dass Geflügelfleisch den typischen, schlechten Geruch bei einer Bakterienanzahl von 2,5-100 Mill. Zellen/cm^2 hat. SCHMID (1931), EMPEY und VICKERY (1933) und HAINES (1937) nennen als Anzahl der Bakterien beim Schlechtwerden 32-100 Mill. Zellen/cm^2, während MORAN (1935) schreibt, dass die Anzahl der Organismen im Stadium der Schleimbildung 3 Millionen Zellen /cm^2 betrage. Nach SCOTT (1936) tritt die Zunahme der Bakterien als Schleim an der Oberfläche des Fleisches auf, wo deren Anzahl 100 Mill. Zellen / cm^2 oder grösser ist. Zu derselben Anzahl von Bakterien sind auch AYRES et al. (1950) in ihren Versuchen über die Haltbarkeit von Geflügelfleisch gekommen. Sie stellten fest, dass vor der Schleimbildung an der Oberfläche des Fleisches ein muffiger Geruch zu bemerken ist, den sie als Geruch "eines muffigen Abwaschlappens" (engl. dirty dishrag) bezeichneten. Weiter berichten KRAFT und AYRES (1952), dass Rindfleisch einen milden, unangenehmen Geruch annimmt, wenn sich auf dem Fleisch 2 x 10^6 Organismen /cm^2 befinden. Der schlechte Geruch ist deutlich festzustellen, wenn sich auf dem Fleisch etwa 10^7 Organismen /cm^2 befinden. Schleimbildung setzt bei 100 Mill. Zellen / cm^2 ein.

Die Haltbarkeitszeit des Fleisches kann also ungefähr bestimmt werden, indem zunächst das Auftreten des schlechten Geruchs und dann der darauffolgenden Schleimbildung beachtet wird.
OGILVY (1950) stellte einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Schleimbildung und dem Auftreten des schlechten Geruchs einerseits und der gleichzeitig bestimmten Bakterienanzahl andererseits fest.
In ihren späteren Arbeiten definierten OGILVY und AYRES (1951 a) die Haltbarkeitszeit des Fleisches auf drei verschiedene Weisen: die Haltbarkeitszeit ist abhängig von a) der ersten Beobachtung des schlechten Geruchs, b) der Zeit, in der die Anzahl der Bakterien an der Oberfläche des Fleisches auf $2X\ 10^8$ Zellen/cm^2 wächst und c) der Zeit, die für eine Erhöhung der Konzentration an Kohlendioxid im Aufbewahrungsraum auf einen bestimmten Wert benötigt wird. Zwischen diesen drei Bestimmungsarten für die Haltbarkeit des Fleisches besteht ein Zusammenhang.
OGILVY und AYRES führten in ihren Arbeiten über die Haltbarkeit von Hühnerfleisch in einer Kohlendioxidatmosphäre einen sog. Lagerungs-Index (engl. storage index) ein, um die Haltbarkeitszeit besser bestimmen zu können. Der storage index gibt das Verhältnis der ermittelten Haltbarkeitszeiten von in der CO_2-Atmosphäre und in Luft gelagertem Fleisch wieder. Der storage index wächst bei Zunahme der CO_2 -Konzentration und Temperaturabnahme. Die Ergebnisse zeigten, dass der storage index im Intervall 0-25% CO_2 linear vom CO_2-Gehalt abhängig ist. Je kleiner der storage index ist, desto besser hält sich das Produkt.

3. EIGENE VERSUCHE

In den Versuchen wurde die Haltbarkeit des Fleisches bei +0,5°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von etwa 95% bei verschiedenen Kohlendioxid- oder Stickstoffgehalten untersucht. Während der Lagerung wurden die Veränderungen in der Zusammensetzung von Amino- und Fettsäure und Protein des Fleisches und in der Anzahl der Mikroben an der Oberfläche und im Inneren des Fleisches, wie auch die Veränderungen in der Zusammensetzung der Mikroben beobachtet. Ausserdem wurden die Veränderungen in Fleischfarbe, Gewichtsverlust, Fähigkeit zur Wasserbindung und Mürbigkeit u.a. während der Aufbewahrung beobachtet. Wegen des zu umfangreichen Materials behandelt dieser Bericht nur die Frage der Haltbarkeit bei verschiedenen CO_2-oder N_2-Gehalten, die durchgeführten organoleptischen Untersuchungen und die festgestellten Veränderungen in der Anzahl der Bakterien und ihrer Zusammensetzung. Im folgenden wird das Fleisch, das in einer CO_2- oder N_2-Atmosphäre aufbewahrt wurde, als "Gasfleisch" bezeichnet, das in normaler Atmosphäre gelagerte als "Kontrollfleisch"

3.1. Versuchsmaterial

Als Versuchsmaterial diente Fleisch des musculus longissimus dorsi des Rindes. Der Muskel wurde beidseitig des Rückgrates ganz herausgetrennt. Beide Hälften wurden in 8 gleich grosse Stücke geschnitten. Ein Teil der Fleischstücke wurde in den Kontrollschrank gehängt und die anderen Stücke in den Versuchsschrank, wo eine bestimmte CO_2 - oder N_2- Konzentration herrschte. Die Temperatur des Kontroll- und des Versuchsschrankes lag bei + 0,5°C, die relative Luftfeuchtigkeit bei 95% (± 2%). Die Zusammensetzung der Luft des Versuchsschrankes wurde bei verschiedenen Versuchsreihen so geändert, dass die Luft 10,20, 30, 40% Kohlendioxid oder 90, 95 und 100% Stickstoff enthielt.

3.2. Die Kühlschränke

Für die Versuche wurden zwei Kühlschränke gebaut. Der eine diente als Kontrollschrank. Die Kohlendioxid- oder Stickstoffkonzentration des zweiten Schrankes wurde mit Hilfe eines Sauerstoffanalysators geregelt. Das aus einer Gasflasche strömende Gas gelangt durch ein Magnetventil in den Schrank, aus dem fortwährend eine Luftprobe mit Hilfe einer Saugpumpe entnommen wird. Wenn die zugeführte Gasmenge, z.B. CO_2, im Schrank so gross ist, dass sich der Sauerstoffgehalt der Luft bis auf den Wert des Anzeigegerätes vermindert hat, schliesst sich das Ventil und verhindert weiteres Einströmen des Gases in den Schrank. Beim Einleiten des Gases in den Schrank strömt Luft-Gasmischung durch ein Rohr aus, damit im Schrank kein Uberdruck entsteht. Wenn sich der Sauerstoffgehalt der Atmosphäre im Schrank erhöht (z.B. bei Öffnen der Schranktür), öffnet sich das Magnetventil, und Gas strömt in den Schrank, bis der bestimmte Sauerstoffgehalt (d.h. der CO_2- oder N_2-Gehalt der Atmosphäre im Schrank) erreicht ist. Der Sauerstoffanalysator ist demnach ständig in Betrieb.

In die Schränke wurden auch Befeuchtungs- und Feuchtigkeitsregler eingebaut. Wegen der trocknenden Wirkung der Batterien zum Kühlen ist es besonders schwierig, die relative Luftfeuchtig keit bei einer Temperatur von + 0,5°C auf 95% zu halten. Darum wurde in die Schränke ein Innenschrank gebaut, so dass die Batterien ausserhalb dieses Innenschrankes liegen und nicht vereisen. Durch diese technische Änderung bleibt die Temperatur des Innenschrankes auf + 0,5°C und die relative Luftfeuchtigkeit auf 95% (± 2%).

3.3. Mikrobiologische Untersuchungen

Als Probe für die mikrobiologischen Untersuchungen wurde stets ein fertig geschnittenes Stück dem Kontroll - und Versuchsfleisch entnommen. Die Flächenprobe wurde mit Alginatflausch (Colabproduct, 11-58 B, Consolidated Laboratories, Inc., Chicago) an 5 verschiedenen Stellen vorgenommen unter Verwendung einer Schablone mit 4 cm^2 Fläche. Die Proben wurden zusammengetan, so dass eine Probe von einem Gebiet von 20 cm^2 zu untersuchen war. Die Probe aus dem Inneren des Fleisches wurde demselben Stück entnommen. Die Fläche des Probestückes wurde mit einem erhitzten Stahlstab eingebrannt und die Probe dieser Stelle mit Hilfe eines Korkenbohrers entnommen, dessen Durchmesser ca. 2 cm war. Von dem auf diese Weise erhaltenen Probestück wurde etwa 1 cm der Fläche weggeschnitten. Von dem Rest wurden 10 g in ein Glasröhrchen des Homogenisators eingewogen. In allen Fällen entwickelten sich die Kulturen bei + 28°C.

Die Proben von Oberfläche und Innerem des Fleisches wurden auf Veränderungen in der Anzahl folgender Organismentypen während der Lagerungszeit untersucht:

- Aeroben (gewöhnliches Nähragar)
- Anaeroben (Thioglykolatagar)
- Fluoreszierende, chromogene, oxidative und Gelantine lösende Organismen (Nähr-Gelantine-KH_2PO_4-Agar, AYRES, 1960)
- Gram-negative Organismen (NH_4-Laktatagar)
- Schimmel - und Hefepilze (saures Agar)
- Klostride (Sulfit-Eisen-Agar, MOSSEL et al., 1956)
- Lipolyte (Talgagar, POHJA und NIINIVAARA, 1964)
- Proteolyte (Fleischagar, POHJA et al., 1960)

3.4. Ergebnisse

3.4.1. Haltbarkeitszeit

Die Wirkung des verschiedenen Gehalts an Kohlendioxid oder Stickstoffs und des Mikrobenstands unmittelbar nach dem Abhäuten auf dem Fleisch auf die Haltbarkeitszeit ist in den Abbildungen 1a und 1b zu sehen. Die Abbildung 1a zeigt, dass bei Zunahme des Kohlendioxidgehaltes die Haltbarkeitszeit für das Fleisch fast linear zunahm, während eine Erhöhung des Gehaltes an Stickstoff einen nur geringen Einfluss auf eine Verlängerung der Haltbarkeitszeit hatte.

Die Abbildung 1b zeigt, in welcher Weise die Anzahl der Mikroben auf dem Fleisch unmittelbar nach dem Abhäuten die Haltbarkeitszeit des Fleisches unter normalen Kühllagergegebenheiten beeinflusst. Abbildung 1b bezieht sich nur auf das Kontrollfleisch. Auf der Ordinate ist der Logarithmus der Aerobenzahl/cm^2 der Probenfläche zur Zeit 0 Tage aufgetragen, auf der Abszisse die Haltbarkeitszeit, in der die Aerobenzahl auf dem Fleisch den Wert 2×10^6 Zellen/cm^2 erreichte. Damit Fleisch möglichst lange einwandfrei bei fast $0^\circ C$ gelagert werden kann, muss die ursprüngliche Bakterienkontamination der Fleischoberfläche möglichst klein sein. Der anfängliche Bakteriengehalt an der Oberfläche des Fleisches scheint die Haltbarkeitszeit des Fleisches linear zu beeinflussen.

Abb. 1 a. "Storage index" als Funktion der

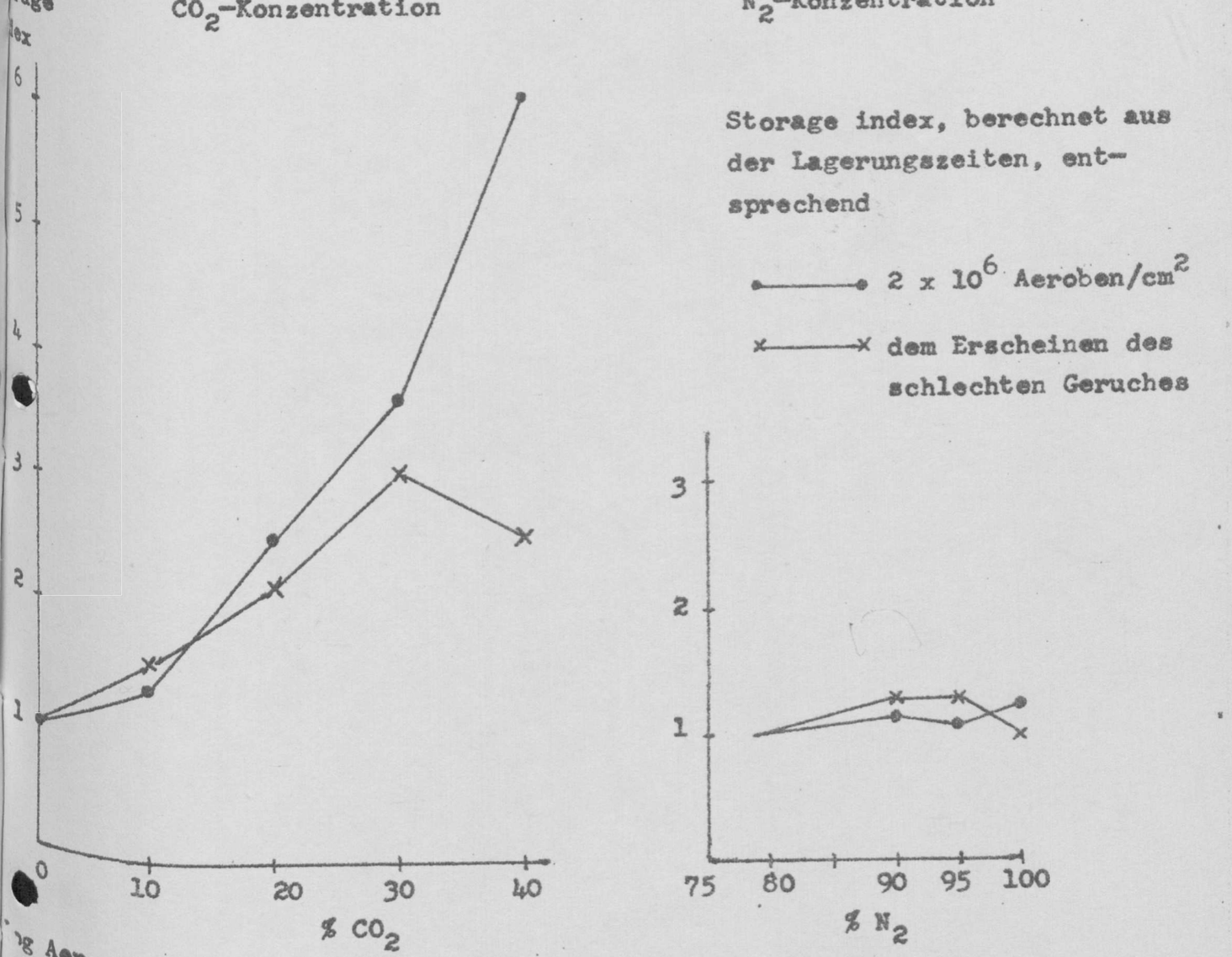
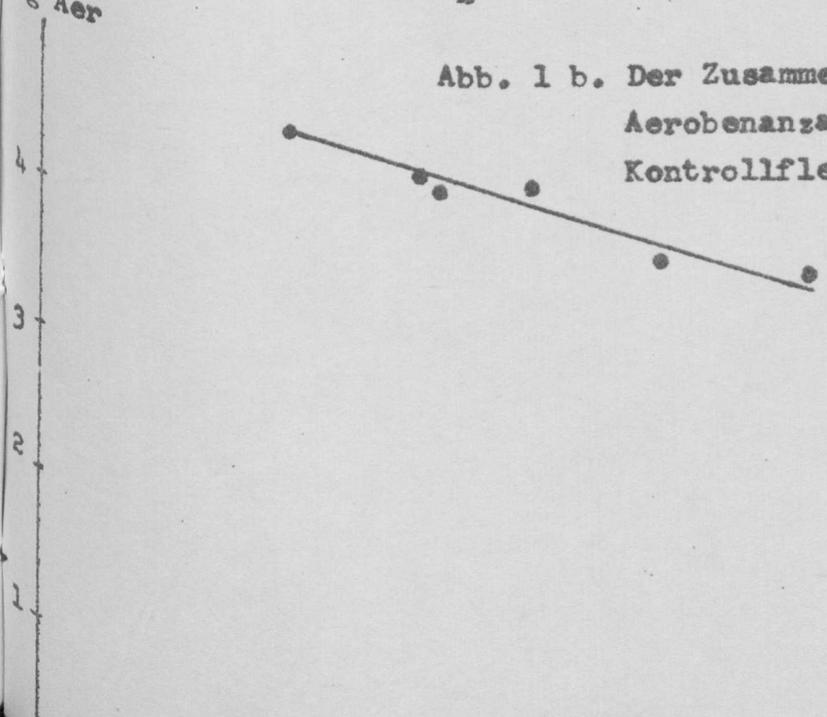


Abb. 1 b. Der Zusammenhang zwischen der ursprünglichen Aerobenanzahl und der Haltbarkeitszeit des Kontrollfleisches.



Das storage-index-Diagramm in Abbildung 1 a ist nach der von OGILVY und AYRES (1951) entwickelten Methode dargestellt worden. Dabei wird der storage index folgendermassen definiert:

$$\text{storage index} = \frac{\text{Haltbarkeitszeit des Gasfleisches}}{\text{Haltbarkeitszeit des Kontrollfleisches}}$$

Die Haltbarkeitszeit wird durch den Bakterienbestand auf dem Fleisch definiert. KRAFT und AYRES (1952) stellten fest, dass der schlechte Geruch an der Oberfläche des Fleisches erscheint, wenn die Anzahl der Bakterien den Wert 2×10^6 Zellen/cm^2 erreicht. Darauf stützt sich die Bestimmung der Lagerungszeiten von Gas- und Kontrollfleisch aus den logN - Kurven jeder Versuchsreihe, wobei die Aerobenanzahl an der Oberfläche des Fleisches 2×10^6 Zellen / cm^2 betrug oder log N = 6,30 war. Die so definierten und die organoleptisch festgestellten Haltbarkeitszeiten sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Die nach KRAFT und AYRES bestimmte Haltbarkeitszeit ist bedeutend kürzer als die organoleptisch festgestellte. Obwohl sich an der Oberfläche des Fleisches 2×10^6 Zellen / cm^2 befanden, hatte der Prozess des Verderbens noch in keiner Versuchsreihe eingesetzt. In Tabelle 2 ist der Bakteriengehalt auf Gas- und Kontrollfleisch wiedergegeben, wobei das Fleisch von aussen schlecht roch und schleimig war. Der Bakteriengehalt war einigermassen unterschiedlich, aber man kann feststellen, dass das Kontrollfleisch bei einem Bakteriengehalt von 10^8 -10^9 Zellen/cm^2 und das Gasfleisch bei einem Bakteriengehalt von 10^6 - 10^8 Zellen/cm^2 schlecht rochen. Die Oberfläche des Kontrollfleisches war bei einem Bakteriengehalt von 10^9 Zellen/cm^2 und die des Gasfleisches bei einem Bakteriengehalt von 10^8 -10^9 Zellen/cm^2 schleimig.

In Tabelle 3 ist die Aerobenanzahl im inneren Teil des Fleisches zur Zeit des ersten Auftretens schlechten Geruchs und Schleimes angegeben. In der Versuchsreihe 40% CO_2 war der Bakteriengehalt des Gasfleisches sehr gering im Vergleich zum Kontrollfleisch. Nach 82 tägiger Lagerung konnte auf dem Gasfleisch keine Schleimbildung beobachtet werden, und der Geruch war fast einwandfrei. In Tabelle 4 ist entsprechend die Anaerobenanzahl aufgeführt. Aus beiden Tabellen kann man ersehen, dass die hemmende Wirkung des Stickstoffs auf die Vermehrung der Bakterien sehr gering war. Das Stickstoffgas (90 - 100%) verlängerte die Haltbarkeitszeit nur um 3 - 4 Tage.

Tabelle 1.

	Haltbarkeitszeit, Tage		Storage index	Aeroben /cm^2 (0 Tag)	Log Aer (0 Tag)
	Nach der organoleptischen Beurteilung	Entsprechend 2×10^6 Aeroben/cm^2			
10% CO_2-Versuchsreihe					
- Gasfleisch	26	7,5	1,4	14850	4,2
- Kontrollfleisch	12	5,3			
20% CO_2-Versuchsreihe					
- Gasfleisch	33	22	2,6	4290	3,6
- Kontrollfleisch	12	8,5			
30% CO_2-Versuchsreihe					
- Gasfleisch	27	12,8	3,7	29135	4,5
- Kontrollfleisch	12	3,5			
40% CO_2-Versuchsreihe					
- Gasfleisch	82	64,5	6,1	3100	3,5
- Kontrollfleisch	26	10,5			
90% N_2-Versuchsreihe					
- Gasfleisch	15	9	1,2	270	2,4
- Kontrollfleisch	12	7,8			
95% N_2-Versuchsreihe					
- Gasfleisch	19	10,5	1,1	213	2,3
- Kontrollfleisch	12	9,8			
100% N_2- Versuchsreihe					
- Gasfleisch	19	10,3	1,2	135	2,1
- Kontrollfleisch	12	8,3			

Tabelle 2 Die Aeroben-anzahl an der Oberfläche von Gasfleisch und Kontrollfleisch entsprechend dem Erscheinen von schlechtem Geruch und Schleim.

	Schlechter Geruch		Schleim	
	Tage	Aeroben/cm ^{2}	Tage	Aeroben/cm ^{2}
10% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	2.180.000.000	12	2.180.000.000
- Gasfleisch	19	7.000.000	33	162.000.000
20% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	256.000.000	19	3.578.500.000
- Gasfleisch	26	15.000.000	40	5.475.000.000
30% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	10	281.900.000	12	2.417.500.000
- Gasfleisch	31	199.600.000	33	275.000.000
40% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	26	1.021.500.000	33	356.500.000
- Gasfleisch	68_1	2.300.000	82_2	685.000
90% N_2-Versuchreihe				
- Kontrollfleisch	12	187.500.000	19	4.000.000.000
- Gasfleisch	15	446.700.000	19	3.025.000.000
95% N_2- Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	15	177.830.000	19	1.625.000.000
- Gasfleisch	19	235.000.000	19	235.000.000
100% N_2- Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	19	940.000.000	19	940.000.000
- Gasfleisch	19	1.175.000.000	26	317.000.000

1) ein etwas seltsamer, aber nicht schlechter Geruch
2) kein Schleim, noch essbar.

Tabelle 3. Die Aerobenanzahl im inneren Teil von Gasfleisch und Kontrollfleisch entsprechend dem Erscheinen von schlechtem Geruch und Schleim.

	Schlechter Geruch		Schleim	
	Tage	Aeroben/g	Tage	Aeroben/g
10% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	1,370.000	12	1,370.000
- Gasfleisch	19	233.000	33	274.000
20% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	3.683.000	19	22.400.000
- Gasfleisch	26	870.000	40	148.000.000
30% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	10	39.820.000	12	332.000.000
- Gasfleisch	31	100.000.000	33	2.145.000.000
40% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	26	1.950.000	33	450.000.000
- Gasfleisch	68_1	6.500	82_2	100
90% N_2- Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	74.000	19	156.000.000
- Gasfleisch	15	224.000	19	5.250.000
95%N_2-Versuchsreihe				
-Kontrollfleisch	15	631.000	19	11.500.000
-Gasfleisch	19	3.900.000	19	3.900.000
100% N_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	19	6.500.000	19	6.500.000
- Gasfleisch	19	530.000	26	4.350.000

1) ein etwas seltsamer, aber nicht schlechter Geruch.

2) kein Schleim, noch essbar.

B_8

290

Tabelle 4. Die Anaerobenanzahl im inneren Teil von Gasfleisch und Kontrollfleisch entsprechend dem Erscheinen von schlechtem Geruch und Schleim.

	Schlechter Geruch		Schleim	
	Tage	Anaeroben/g	Tage	Anaeroben/g
10% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	22.000	12	22.000
- Gasfleisch	19	950.000	33	270.000
20% CO_2- Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	440.000	19	400.000
-Gasfleisch	26	310.000	40	10.200.000
30% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	10	3.162.000	12	8.930.000
- Gasfleisch	31	56.230.000	33	730.000.000
40% CO_2-Versuchsreihe				
- Kontrollreihe	26	1.500.000	33	300.000.000
- Gasfleisch	68_1	10	82_2	10
90% N_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	12	80.000	19	8.400.000
- Gasfleisch	15	79.400	19	360.000
95% N_2-Versuchsreihe				
- Kontrollfleisch	15	107.000	19	825.000
- Gasfleisch	19	770.000	19	770.000
100% N_2-Verzuchsreihe				
- Kontrollfleisch	19	1.500.000	19	1.500.000
- Gasfleisch	19	11.000	26	49.000

1) ein etwas seltsamer aber nicht schlechter Geruch
2) kein Schleim, noch essbar.

3.4.2. Organoleptische Beurteilung

Farbe, Geruch und Schleimbildung der Fleischproben sowie Geschmack und Aroma des gebratenen Fleisches wurden von drei Personen beurteilt. Bei der Geschmacksbeurteilung war stets dasselbe Fleisch Vergleichsobjekt. Es war von Beginn der Versuchsreihe an bei einer Temperatur von -20°C tiefgekühlt gelagert worden. Die Probe wurde vor dem Braten an Zimmertemperatur aufgetaut.

Die Veränderungen in der Fleischfarbe sind in den Tabellen 5 und 6 zu finden. Bei einem Kohlendioxidgehalt von 10 und 20% blieb die Farbe des Fleisches gleichmässig rot, wohingegen sich die Farbe des Kontrollfleisches während der Lagerung veränderte. Bei einem Kohlendioxidgehalt von 20% oder mehr wurde die Farbe der Fleischoberfläche nach 30 tägiger Lagerung grau. Als das gräuliche Fleisch in eine Temperatur von + 0,5°C und normale Atmosphäre gebracht wurde, war das Fleisch nach etwa 2 Tagen wieder rot. Die Farbe des in der Stickstoffatmosphäre gelagerten Fleisches blieb während der ganzen Zeit der Lagerung so ziemlich gleichmässig rot.

Das Fleisch in der CO_2- und N_2- Atmosphäre wurde etwas langsamer mürber werden als das Kontrollfleisch. Das Kontrollfleisch konnte jedoch wegen der Schleimbildung nicht so lange aufbewahrt werden, dass das Fleisch mürbe genug gewesen wäre. Das in der Kohlendioxidatmosphäre gelagerte Fleisch war nach 20 Tagen sehr mürbe und geschmackvoll.

Lagerungs-Zeit, Tage	10% CO_2		20% CO_2		30% CO_2		40% CO_2	
	Kontroll	Gas	Kontroll	Gas	Kontroll	Gas	Kontroll	Gas
1	rot	rot	rot	rot	rot	rot	hellrot	rot
5	etwas gräulich	hellrot	rot	rot	dunkelrot	hellrot	hellrot	dunkelrot
12	teils hellrot, teils grau	hellrot, heller als nach 5 Tage	rot, teils hellrot	dunkler rot	teils braun, teils hellrot	rot, mit einer etwas gräulichen Nuance	rot	rot
19	gräulich	hellrot, wie nach 12 Tage	hellrot	dunkelrot	teils grau, teils rot	rot	rot	etwas gräulich rot
26	grau	hellrot, wie nach 12 Tage	rot	dunkelrot	wie nach 19 Tage	rot	rot	gräulich rot
33	-	teils hellrot, teils dunkelrot und grau	graubraun	dunkel, mit einer grauen Nuance	-	rot	bräunlich rot	graubraun
40	-	-	-	sehr dunkel, mit einer deutlich grauen Nuance	-	teils grau teils rot	-	dunkel graubraun, teils hellrot

Tabelle 6 Veränderungen der Farbe der Oberfläche während der Lagerung von Gasfleisch und Kontrollfleisch.

Lagerungs - zeit, Tage	90% N_2		95% N_2		100% N_2	
	Kontroll	Gas	Kontroll	Gas	Kontroll	Gas
1	hellrot	rot	hellrot	dunkelrot	hellrot	dunkelrot
5	hellrot	rot, mit einer etwas gräulichen Nuance	hellrot	dunkelrot	hellrot	rot
12	hellrot	etwas gräulich rot	hellrot	dunkelrot	hellrot	dunkelrot
19	teils hellrot, teils dunkelrot	teils hellrot, teils dunkelrot	rot	dunkelrot	teils hellrot teils grau	dunkelrot
26	-	-	-	-	hellrot, bunt	dunkelrot, bunt

3.4.3. Veränderungen in der Mikrobenanzahl

Die Veränderungen in der Aerobenanzahl an der Oberfläche des Gas- und Kontrollfleisches wurde durch den Logarithmus der Aeronenanzahl (logN) als Funktion der Haltbarkeitszeit dargestellt. Aus den Abbildungen 2 und 3 kann man ersehen, dass das Kohlendioxid die Vermehrung und das Wachstum der Aeroben auf dem Fleisch sehr stark hemmt. Bei 40% Kohlendioxid überstieg die Bakterienanzahl nicht den Wert 1Mill. Zellen/cm^2, nicht einmal in 82 Tagen, obschon das Kontrollfleisch nach 19 Tagen einen Bakterienbestand von 10^9 Zellen/cm^2 aufwies. Das Verderben des Fleisches bei einem Kohlendioxidgehalt von 40% findet demnach seine Hauptursache in fleischeigenen Enzymen, durch die das Fleisch zu altschlachten wird. Abbildung 4 zeigt, dass die wachstumshemmende Wirkung des Stickstoffs auf die Bakterien bedeutend schlechter war als die des Kohlendioxids.

Von den weiteren Veränderungen in der Mikrobenanzahl an der Oberfläche des Fleisches sei folgendes erwähnt: die Anzahl der Schimmelpilze an der Oberfläche des Fleisches lag in allen Versuchsreihen unter 5 Zellen/cm^2. Die Anzahl der Schimmelpilze in dem Kohlendioxidfleisch war geringer als die im Kontrollfleisch. Die Anzahl der Hefepilze war auch in allen Versuchsreihen sehr niedrig, so dass sie demnach keine Bedeutung für die Haltbarkeit des Fleisches hatten. Klostride fanden sich sowohl im Kontroll- als auch im Gasfleisch in gerade feststellbaren Mengen in allen Versuchsreihen, und ihre Anzahl nahm bei Verlängerung der Lagerungszeit nicht zu. Die Anzahl der hemolytischen Bakterien war auch in allen Versuchsreihen gering. In der Regel lag sie unter 5 Zellen/cm^2.

3.4.4. Veränderungen in der Zusammensetzung der Bakterien

Die Wirkung des Kohlendioxids auf die Veränderungen in der Anzahl der verschiedenen Bakterientypen im Vergleich zu der Gesamtzahl der Aeroben wurde mittels sog. ΔF-Kurven ausgewertet. In diesen Kurven gibt die O-Stufe gewissermassen die Anzahl des Bakterientyps im Kontrollfleisch im Vergleich zur Anzahl des entsprechenden Bakterientyps im Gasfleisch wieder (Abbildung 5-8). Δ F ist folgendermassen definiert:

$$\Delta F = \log \frac{\text{Aer}}{\text{Kontr.Micr.sp.}} - \log_{CO_2} \frac{\text{Aer}}{\text{Micr.sp.}}$$

Δ F wird folgendermassen aufgrund der logN-Werte berechnet:

$$\Delta F = \log \text{Aer}_{\text{Kontr.}} - \log \text{Micr.sp.}_{\text{Kontr.}} - (\log \text{Aer}_{CO_2} - \log \text{Micr.sp.}_{CO_2})$$

Wenn Δ F > 0, CO_2 fördert das Wachstum von Micr.sp.
Δ F $= 0$, CO_2 beeinflusst nicht das Wachstum von Micr.sp.
Δ F < 0, CO_2 hemmt das Wachstum von Micr.sp.

Die Gesamtanzahl der Aeroben und Anaeroben wurde betrachtet gemäss:

$$\Delta \text{Aer} = \log \text{Aer}_{CO_2} - \log \text{Aer}_{\text{Kontr.}}$$

(Δ Anaer)

Diese Δ-Formel ist ähnlich aufgebaut wie Δ F.

Aus den Abbildungen 5 und 6 ersieht man, dass der Bakteriengehalt gelagerten Fleisches in allen Kohlendioxidkonzentrationen erheblich kleiner als beim Kontrollfleisch war. Bei 40% CO_2 betrug der Bakteriengehalt des Gasfleisches nach 19 Tagen nur 1 Millionstel von dem des Kontrollfleisches. Die vermehrungshemmende Wirkung des Stickstoffes auf die Bakterien war längst nicht so stark wie die des Kohlendioxids.

In den Abbildungen 7 und 8 ist die Wirkung verschiedener Kohlendioxid- und Stickstoffgehalte auf das Wachstum der verschiedenen Bakterientypen durch Δ F-Kurven wiedergegeben. Jeder Gehalt an CO_2 schien die Vermehrung der gram-negativen, oxidativen und fluoreszierenden Bakterien an der Oberfläche des Fleisches zu hemmen. Die Wirkung auf Lipolyte war sehr gering, dagegen aber schien das Kohlendioxid und auch der Stickstoff die Vermehrung der Proteolyte zu fördern. Obgleich die Anzahl der Aeroben, Anaeroben und weiterer Organismentypen im Gasfleisch in der Regel bedeutend kleiner als im Kontrollfleisch war, verursachten sowohl CO_2 als auch N_2 verschiedene Veränderungen in der Zusammensetzung der Bakterien.

Abb. 2. Die Vermehrung der aerob en Bakterien an der Oberfläche vom Gasfleisch und vom Kontrollfleisch während der Lagerung.

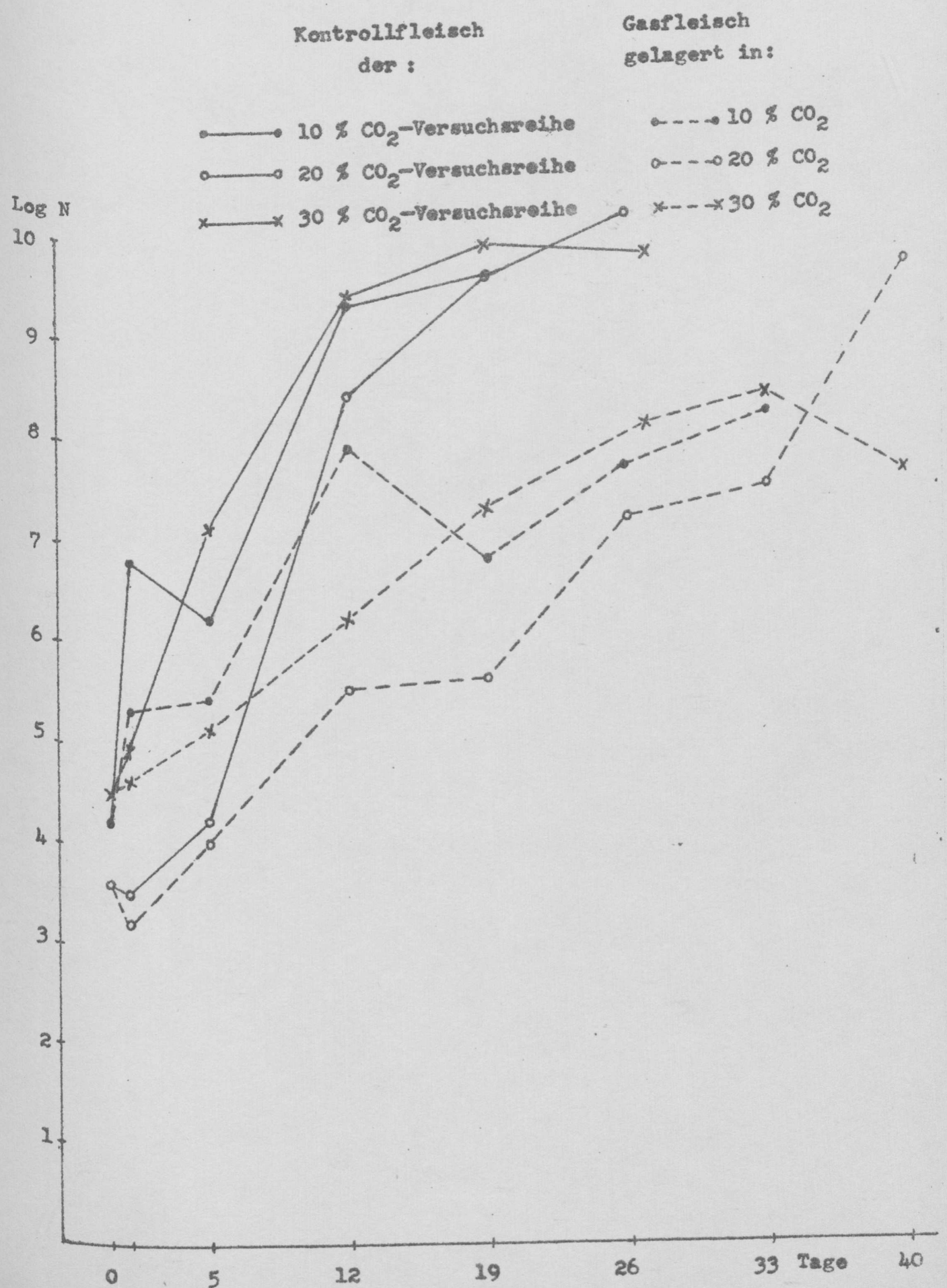


Abb. 3. Die Vermehrung der aeroben Bakterien an der Oberfläche vom Gasfleisch während der Lagerung in einer Atmosphäre, enthaltend 40 % CO_2, und vom Kontrollfleisch.

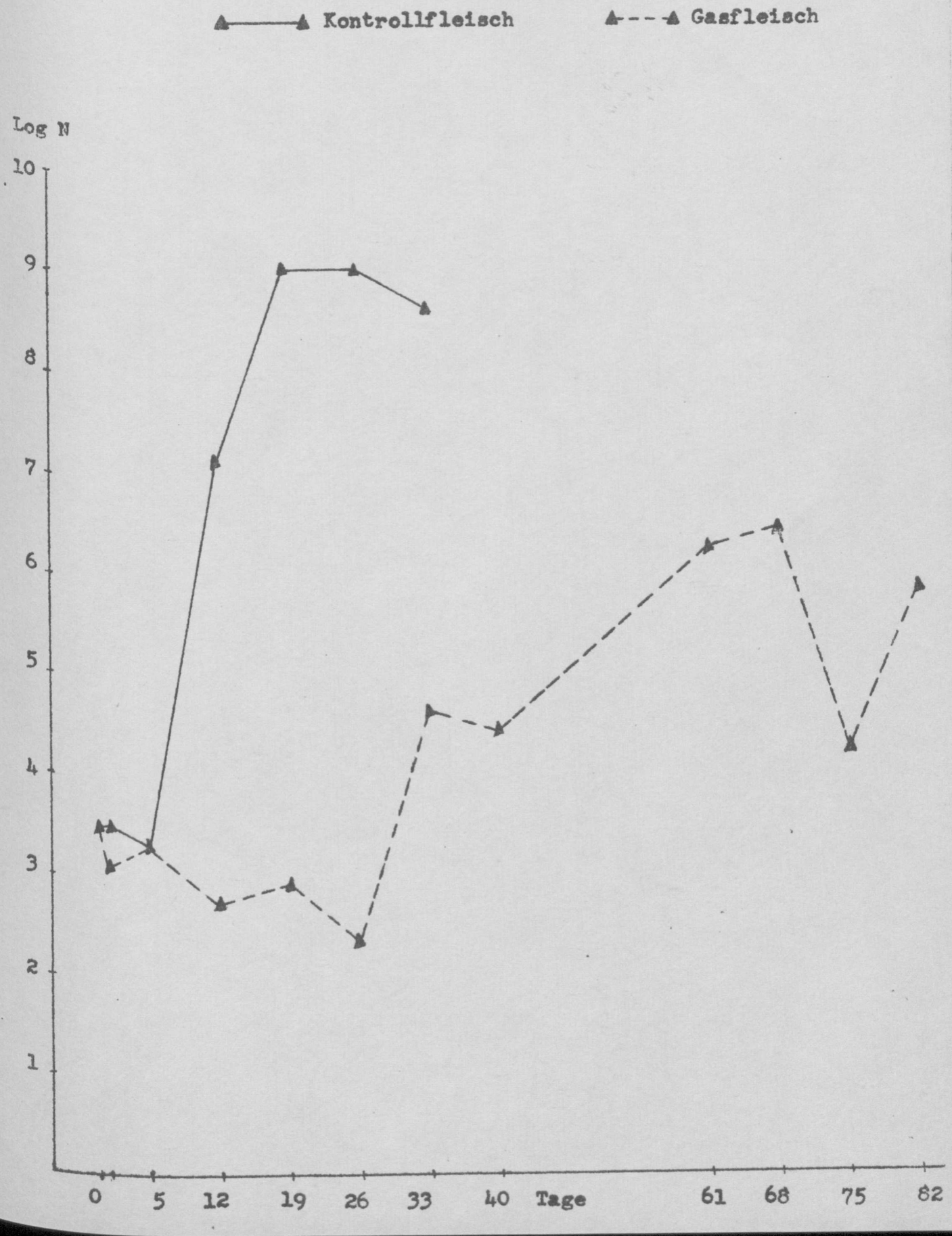


Abb. 4. Die Vermehrung der aeroben Bakterien an der Oberfläche vom Gasfleisch und vom Kontrollfleisch während der Lagerung.

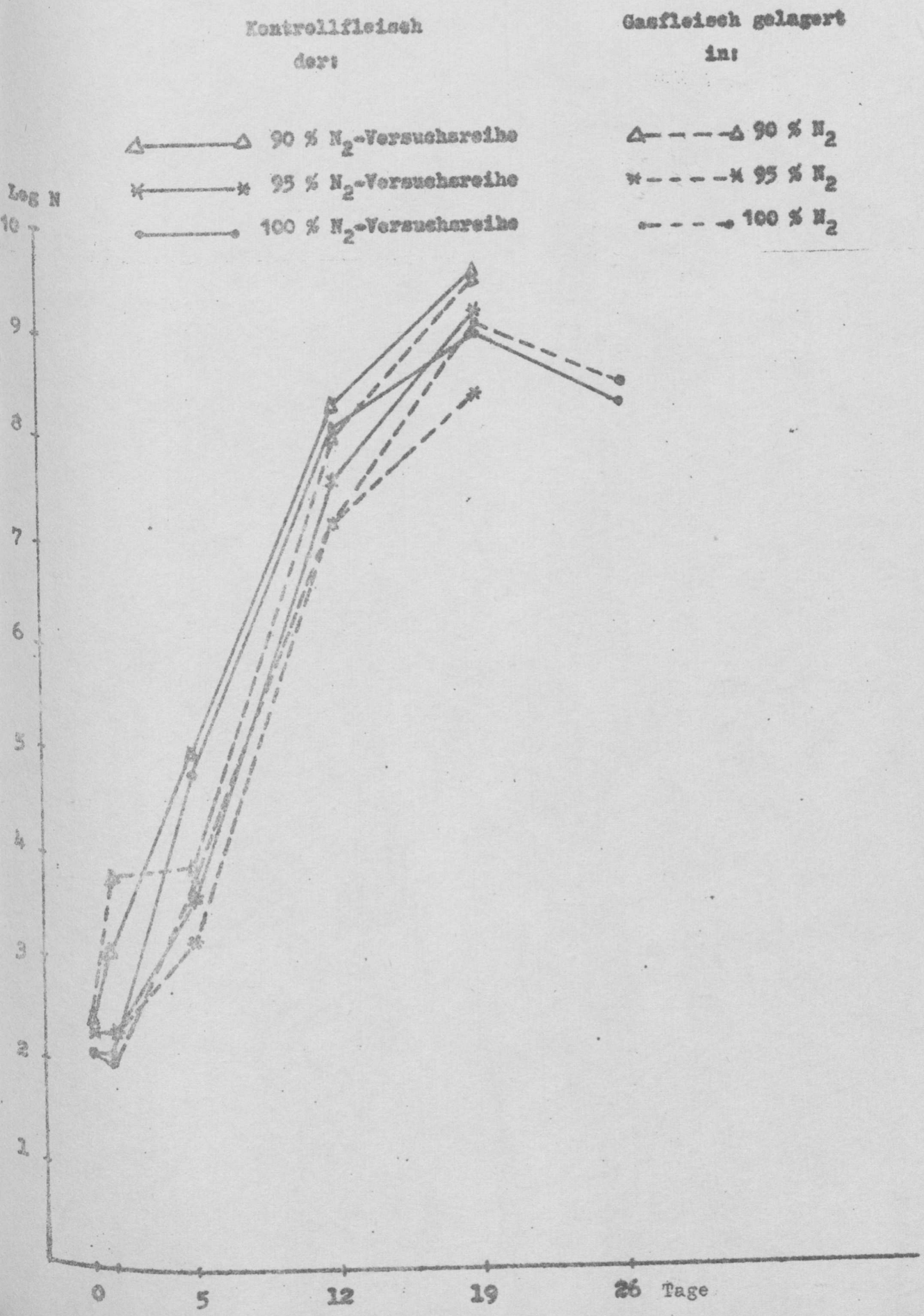
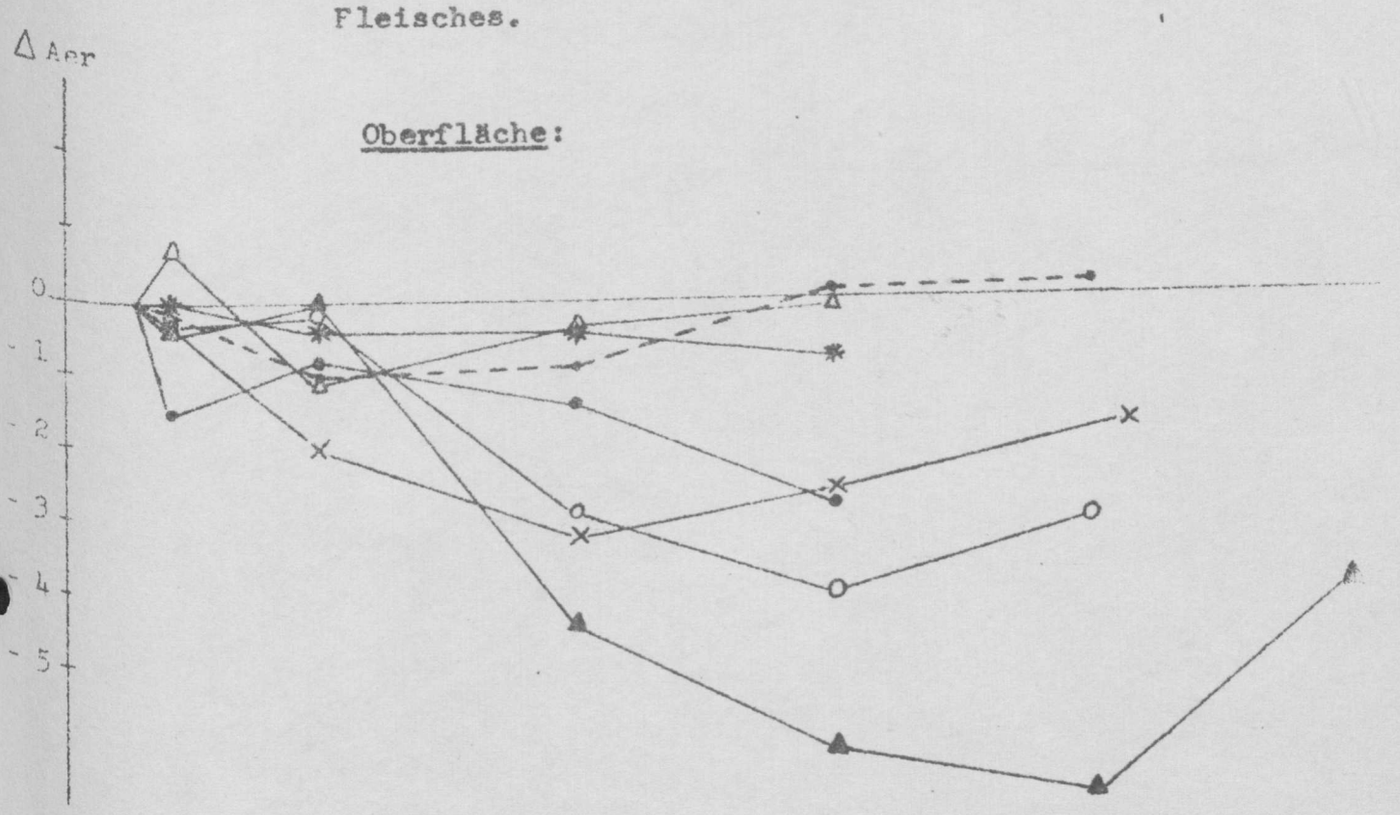


Abb. 5. Veränderungen von Δ Aer = log Aer_{Gas} - log $Aer_{Kontr.}$ während der Lagerung des Fleisches.



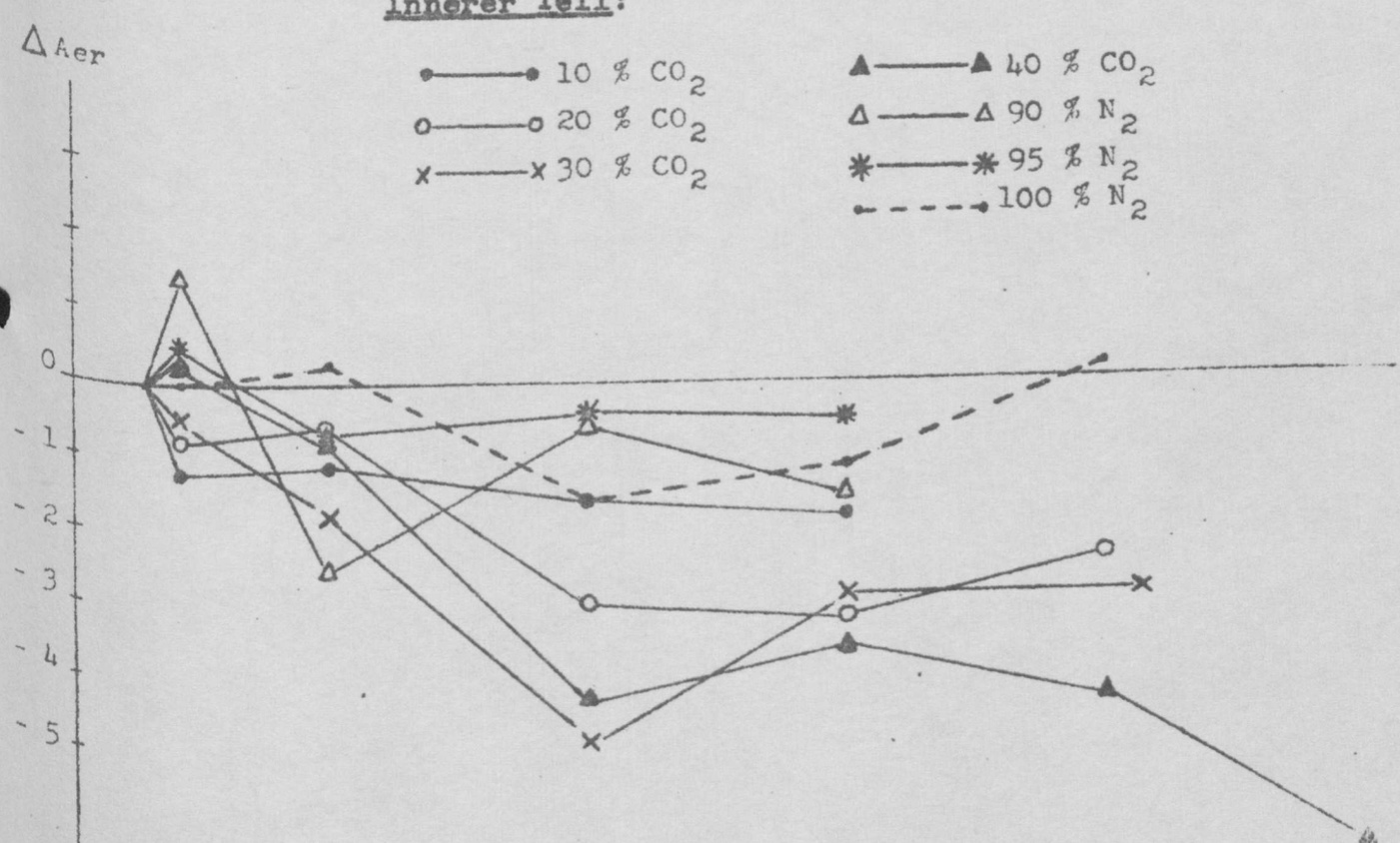
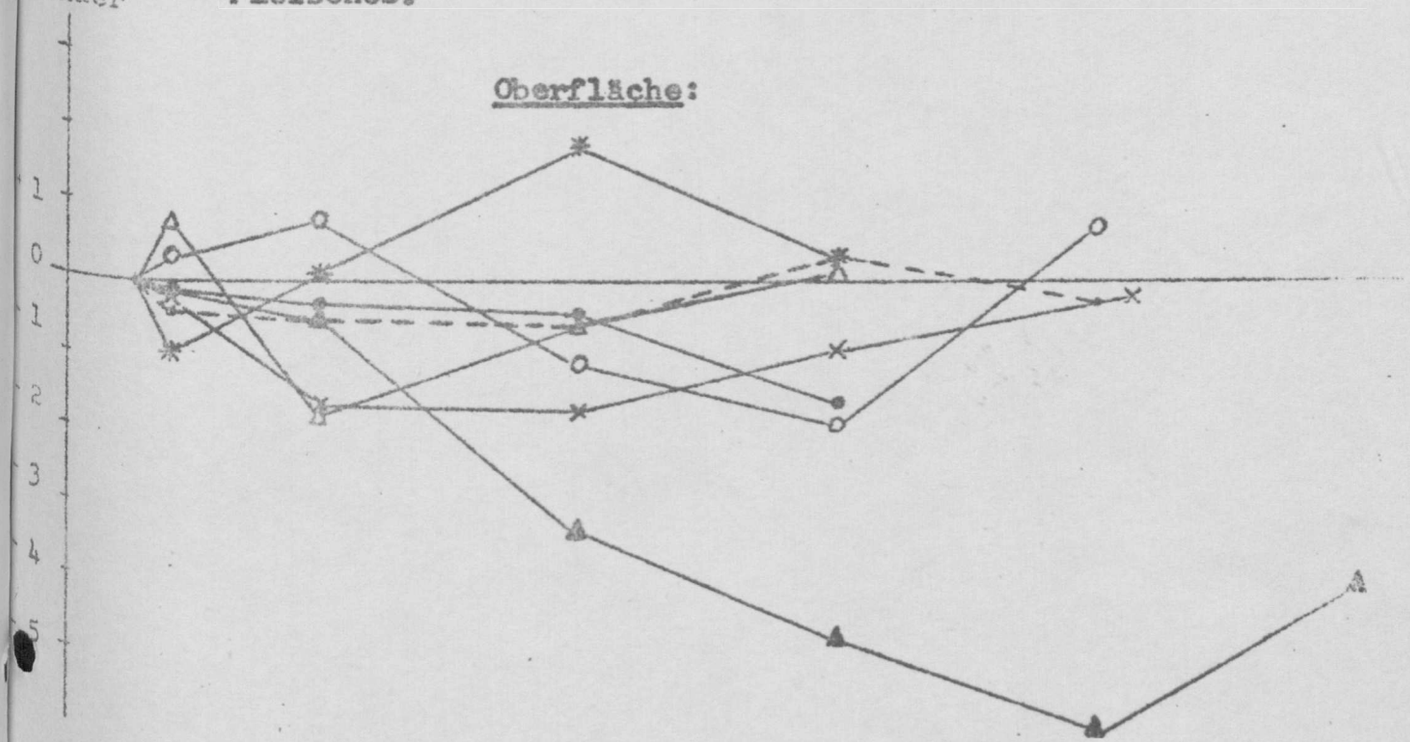


Abb. 6. Veränderungen von Δ Anaer = log $Anaer_{Gas}$ − log $Anaer_{Kontr.}$ während der Lagerung des Fleisches.



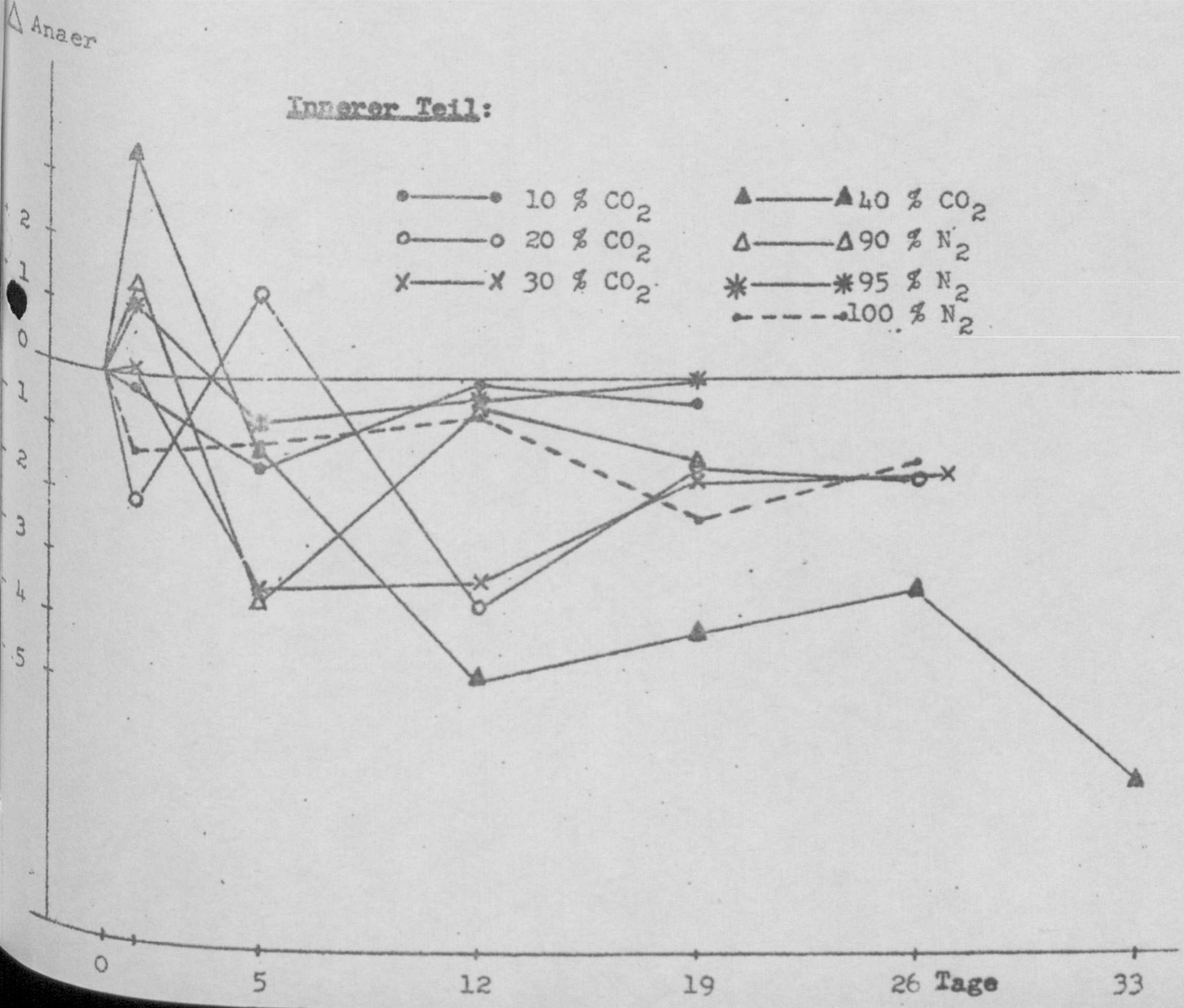


Abb. 7. Veränderungen von ΔF für einige Bakterientypen an der Oberfläche des Fleisches während der Lagerung

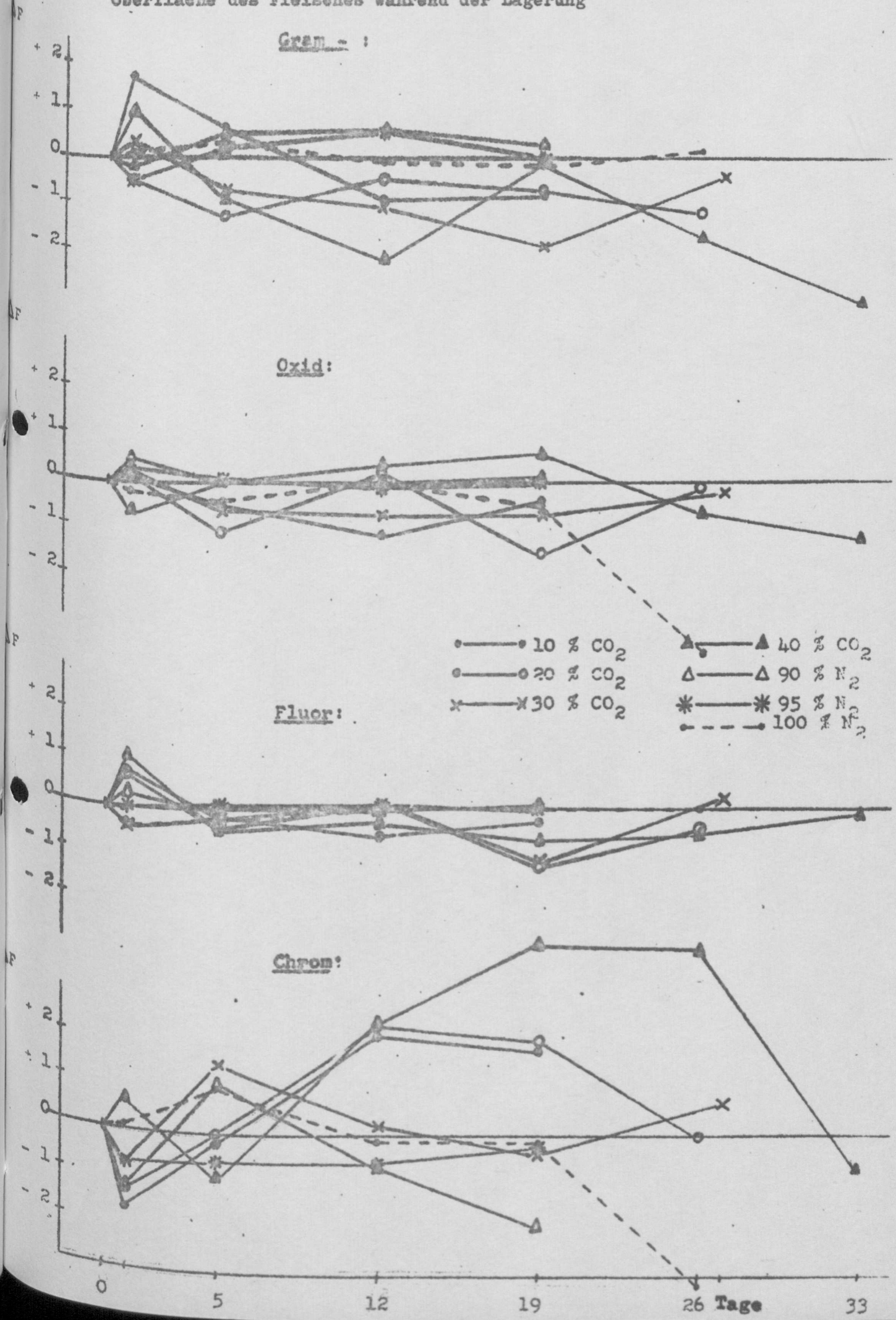
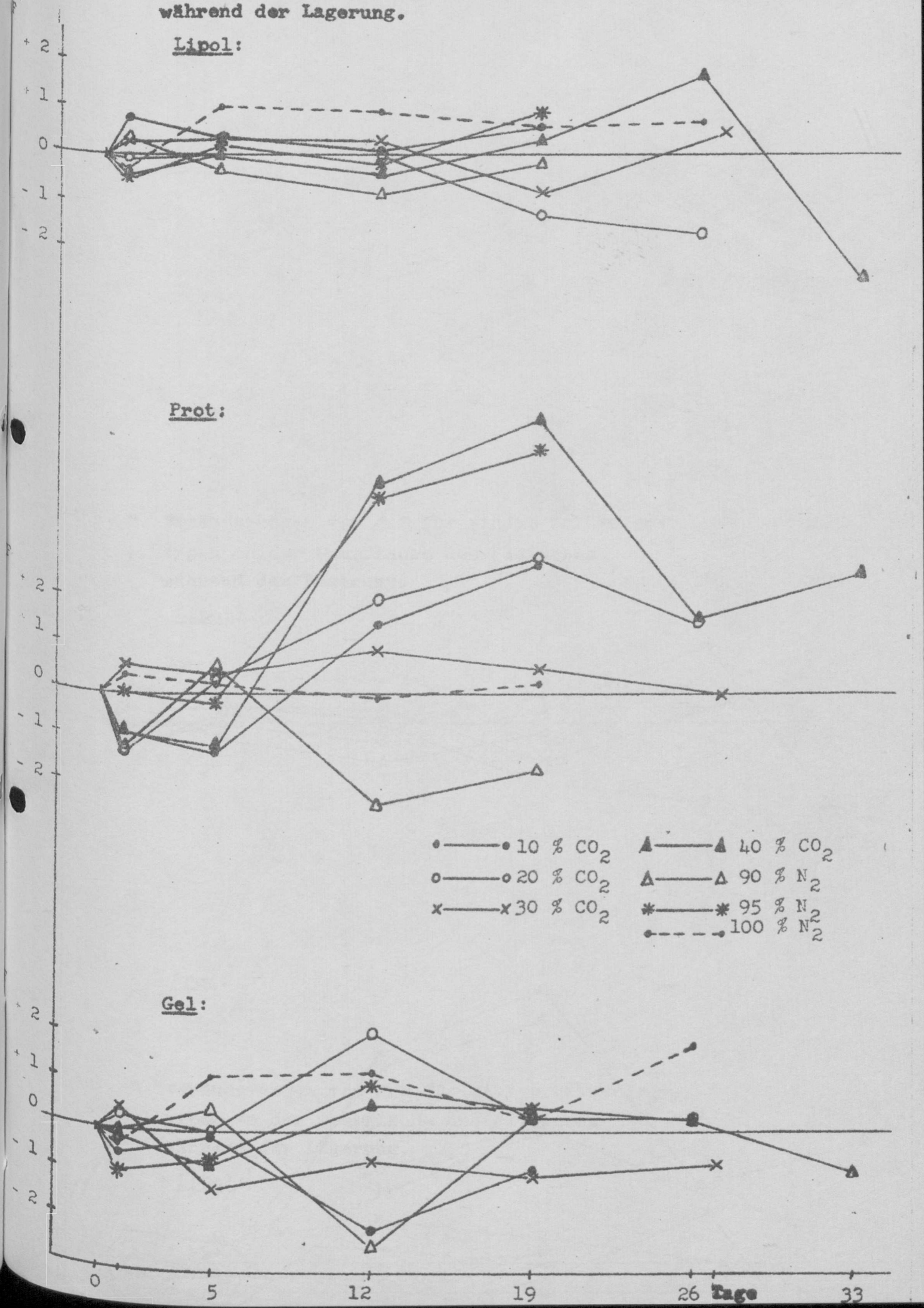


Abb. 8. Veränderungen von Δ F für einige Bakterientypen an der Oberfläche des Fleisches während der Lagerung.



4. BETRACHTUNG DES ERGEBNISSES

Nach den erhaltenen Ergebnissen ist festzustellen, dass die relativ grösste Verlängerung der Haltbarkeitszeit bei einer CO_2-Lagerungsatmosphäre von 40% erreicht wurde. Bei Berechnung des storage index aufgrund der Lagerungszeiten, wobei die Aerobenanzahl an der Oberfläche des Versuchs- und des entsprechenden Kontrollfleisches 2 X 10^6 Zellen/cm^2 war, ergaben sich in den Versuchsreihen 10%, 20%, 30% etwa analoge Werte zum CO_2-Gehalt, doch in der Versuchsreihe 40% bedeutend grössere. Die in N_2-Atmosphären von 90%, 95% und 100% erreichte Verlängerung der Haltbarkeitszeit war minimal.

Die Wirkung der Lagerungsatmosphären mit CO_2-Gehalt auf die Fleischfarbe war vielleicht geringer, als nach der Literatur anzunehmen war. 25% CO_2 ist als Grenzwert angegeben, bei dessen Uberschreiten das Fleisch grau werde. Aber auch das in der 40%-CO_2-Atmosphäre gelagerte Fleisch war erst nach 19 Tagen etwas gräulich rot. Wenn das vom CO_2 grau gewordene Fleisch 2-3 Tage lang in normaler Atmosphäre aufbewahrt wurde, erhielt es grösstenteils seine rote Farbe zurück. Es ist anzunehmen, dass der vom CO_2 verursachte Farbfehler besonders vom Standpunkt der Herstellung von Fleischprodukten her keine allzu grosse Bedeutung hat.

Das Kohlendioxid hemmt sehr stark das Mikrobenwachstum sowohl an der Oberfläche als auch im Inneren des Fleisches. Die N_2-Atmosphären hatten eine ähnliche, aber erheblich geringere Wirkung, ausgenommen auf die Anaeroben, deren Wachstum sie sogar förderten. Verursachten vor allem Mikroben das Verderben des Kontrollfleisches, hing dies besonders in den CO_2-Atmosphären in grossem Masse von den chemischen Umsetzungen fleischeigener Enzyme ab (d.h. inwieweit das Fleisch zu altschlachten war). Darauf weist die Tatsache hin, dass die Bakterienmenge des CO_2-Versuchsfleisches im Schleimbildungsstadium nicht so gross war wie bei dem Kontrollfleisch.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Die Wirkung der umgebenden Atmosphären mit verschiedenem Gehalt an Kohlendioxid und Stickstoff auf die Eigenschaften kühlgelagerten Fleisches.

In diesen Versuchen wurde die Haltbarkeit des Fleisches heraufgesetzt, indem der CO_2- oder N_2 -Gehalt der Luft des Kühllagers so erhöht wurde, dass die Atmosphäre 10%, 20%, 30% und 40% Kohlendioxid oder 90%, 95% und 100% Stickstoff enthielt. Für die Versuche wurden zwei Kühlschränke gebaut; der eine diente als Vergleichsschrank. Der Kohlendioxid- oder Stickstoffgehalt der Atmospäre des zweiten Schrankes wurde mit Hilfe eines Sauerstoffanalysators geregelt. Darüberhinaus sind in die Schränke Befeuchtungs- und Feuchtigkeitsregler eingebaut. Die Temperatur der Schränke wurde auf +0,5°C gehalten und die relative Luftfeuchtigkeit auf 95%. Weil die Batterien zum Kühlen auf die Luft trocknend wirken, war es besonders schwierig, eine so hohe relative Luftfeuchtigkeit nahe 0°C zuhalten. Darum wurde in die Schränke ein Innenschrank gebaut, so dass sich die Batterien ausserhalb dieses Innenschrankes befinden und nicht vereisen können.

Während der Aufbewahrungszeit wurden die Veränderungen des Fleisches in Farbe, Geruch, Geschmack, Mürbigkeit, Geschwindigkeit der Schleimbildung und Anzahl der Bakterien und ihre Zusammensetzung beobachtet. Aufgrund der Ergebnisse kann man kurz folgendes sagen: bei Zunahme des Gehalts an Kohlendioxid nahm die Haltbarkeit des Fleisches fast linear zu. In der Versuchsreihe 10% CO_2 hatte sich in 33 Tagen an der Oberfläche des Fleisches Schleim gebildet, auf dem Vergleichsfleisch aber schon in 12 Tagen. Bei 40% CO_2 - Gehalt aufbewahrtes Fleisch hatte noch nach 82 Tagen keinen Schleim gebildet, während das Vergleichsfleisch nach 33 Tagen mit einer dicken Schleimschicht bedeckt war. Die Wirkung des Stickstoffs auf die Haltbarkeit des Fleisches war sehr gering. Ein Stickstoffgehalt von 90 - 100% verlängerte die Haltbarkeitsdauer des Fleisches nur um 3-4 Tage. Bei einem Kohlendioxidgehalt von 20% oder mehr wurde die Farbe des Fleisches an der Oberfläche nach 30 Tagen grau. In normaler Atmosphäre wurde das Fleisch in etwa 2 Tagen wieder rot. Das Kohlendioxid (10-40%) unterbrach sehr wirkungsvoll die Vermehrung und das Wachstum

sowohl der aerobischen als auch der anaerobischen Bakterien an der Oberfläche und im Inneren des Fleisches. Die Wirkung des Stickstoffs auf die Vermehrung der Bakterien war bedeutend geringer. Sowohl das Kohlendioxid als auch der Stickstoff veränderten ziemlich die Zusammensetzung der Bakterien an der Oberfläche und im Inneren des Fleisches.

5. SUMMARY

The effect of atmospheres with various concentrations of added carbon dioxide or nitrogen upon the properties of refrigerated meat.

In the research reported on the keeping quality of meat has been improved by increasing the CO_2- or N_2-concentration of the cold storage atmosphere so, that the atmosphere contained 10%, 20%,30% and 40% carbon dioxide or 90%, 95% and 100% nitrogen. For the study two cold storage cabinets were built, the one of which serves as control cabinet. The carbon dioxide or nitrogen concentration in the atmosphere of the other cabinet is regulated with the aid of an oxygen analyzer. Furthermore, equipment for humidifying and humidity control of the cabinet atmospheres have been built. In the cabinets, the temperature was maintained at +0,5°C and the relative humidity of the atmosphere at 95%. Maintaining the relative humidity of the air so high, when the temperature is nearly 0°C, proved extremely difficult due to the air drying effect of the cooling elements. Therefore, the cabinets have been provided with an inner enclosure, so that the cooling elements remain outside the inner enclosures and no frosting of the elements occurs.

During the storage the changes occurred in the color, smell, taste, tenderness and rate of sliming of meat were followed, as well as those of the number of bacteria and of the composition of the bacterial flora. Of the obtained results, following can be briefly mentioned: When the carbon dioxide concentration increased, the keeping quality of meat was improved nearly linearly. In the 10% CO_2- atmosphere the surface of meat was slimy after 33 days, but that of the corresponding control meat already after 12 days. The meat stored in the 40% CO_2-concentration was not slimy still after 82 days, while control meat was covered with a thick layer of slime after 33 days. The influence of nitrogen upon the keeping quality of meat was rather slight. The nitrogen concentrations 90-100% prolonged the keeping time of meat with only 3-4 days. When the carbon dioxide concentration amounted to 20% and over, the color of meat surface turned into grey after storage for about 30 days.

When the meat had been transferred to normal atmosphere the color turned again to red after about 2 days. Carbon dioxide (10-40 %) inhibited rather strongly the proliferation and growth both of aerobic and of anaerobic bacteria on the surface and in the interior of meat. The influence of nitrogen upon the proliferation and growth of bacteria was considerably less. Both carbon dioxide and nitrogen changed the composition of the bacterial flora on the surface and in the interior of meat to some extent.

5. RESUME

Action de L'atmosphère de conservation contenant du gaz carbonique et de l'azote en concentration d'importance différente sur les propriétés de la viande conservée au froid.

Dans l'examen décrit la conservation de la viande a été améliorée par l'accroissement de la teneur en CO_2 ou en N_2 de l'air de la chambre d'entrepôt froide, de façon que l'atmosphère contienne 10%, 20%, 30% et 40% de gaz carbonique ou 90%, 95% et 100% d'azote. Pour l'examen on a construit deux chambres froides dont l'une fonctionnait comme chambre de cont rôle. La teneur en gaz carbonique ou en azote de l'atmosphère de l'une des chambres est réglée à l'aide d'un analyseur d'oxygène. Dans les chambres ont été montés des appareils d'humidification et de réglage d'humidité. La température était maintenue à 0,5°C et l'humidité de l'air relative à 95%. Il s'est avéré très difficile de maintenir l'humidité relative de l'air aussi élevée quand la température est près de 0°C en raison de l'effet desséchant pour l'air des batteries de réfrigération. C'est pourqoui on a construit dans chaque chambre une chambre intérieure à l'extérieur de laquelle se trouvent les batteries de réfrigération, et ainsi il ne s'y forme pas de congélation.

Durant la conservation on a suivi les changements survenus dans la couleur, l'odeur, la saveur, la tendreté de la viande, la vitesse à laquelle elle devient gluante, ainsi que dans le nombre et la composition des bactéries. Quant aux résultats obtenus on peut brièvement mentionner ce qui suit: Au fur et à mesure de l'accroissement de la teneur en gaz carbonique la conservation de la viande s'améliorait d'une manière presque linéaire. Dans la série d'expériences avec 10% de CO_2 la surface de la viande était devenue gluante en 33 jours, mais celle de la viande/de contrôle correspondante en 12 jours déjà. La viande conservée avec une teneur de 40% de CO_2 n'était pas encore devenue gluante après 82 jours, tandis que la viande de contr ôle était

couverte d'une grande épaisseur visqueuse après une conservation de 33 jours. L'action de l'azote sur la conservation de la viande était très petite. Les teneurs en azote de 90 - 100% ont prolongé le temps de conservation de la viande de seulement 3-4 jours. Quand la teneur en gaz carbonique était de 20% et plus la couleur de la surface de la viande est devenue grise après environ 30 jours de conservation. En transportant la viande dans une atmosphère normale la couleur est redevenue rouge en deux jours environ. Le gaz carbonique (10 - 40%) a empêché très fortement l'augmentation et l'accroissement des bactéries, que ce soient les aérobies ou les anaérobies,dans la partie superficielle et interne de la viande. L'action de l'azote sur l'accroissement des bactéries était nettement moindre. Aussi bien le gaz carbonique que l'azote ont changé quelque peu la composition en bactéries de la partie superficielle et interne de la viande.

5. LITERATURVERZEICHNIS

AYRES,J .C., 1960. Temperature relationships and some other characteristics of the microbial flora developing on refrigerated beef. Food Res. 25, 1-18.

AYRES, J.C., OGILVY,W.S.and STEWART, G.F., 1950. Post-mortem changes in stored meats. I. Micro-organisms associated with development of slime on eviscerated cut-up poultry. Food Technology 4, 199-205

BROOKS, J., 1933 The effect of carbon dioxide on the color changes or bloom of lean meat. J.Soc.Chem.Ind. 52, 17T.

CALLOW, E.H., 1932. Gas storage of pork and bacon. Part I. Preliminary experiments. J.Soc.Chem.Ind. 51, 116 T.

EMPEY, W.A. and VICKERY,J.R.,1933. The use of carbon dioxide in the storage of chilled beef. J.Council Sci. Ind. Research 6, 233-243.

HAINES,R.B. 1937. Microbiology in the preservation of animal tissues. Dept. Sci. Ind. Research Food Invest. Board (gr.Britain). Special Report No.45. Ref. Ayres, 1960.

KALOYEREAS, A.,1949. Use of dry ice and CO_2 for food preservation. Refrig. Eng. 57, 453-457, 498-500.

KIDD,F. and MORAN, T.,1938. Atmosphere control in the preservation of foodstuffs. Ice and Cold Storage 41, 102-105.

KILLEFER,D.H.,1930. Carbon dioxide preservation of meat and fish. Ind. Eng. Chem. 22, 140.

KOLBE, H., 1882. Antiseptische Eigenschaften der Kohlensäure. J.Prakt. Chem. 26, 140.

KRAFT, A.A. and AYRES, J.C.,1952. Post-mortem changes in stored meats. IV. Effect of Packaging materials on keeping quality of self-service meats. Food Technology 6, 8-12.

LANGE, and POPPE, 1910. Arb. kaiserl. Gesundheits., 33, 127. Ref. Callow, 1932.

LOCHHEAD,A.G. and LANDERKIN, G.B., 1935. Bacterial studies of dressed poultry. I. Preliminary investigation of bacterial action at chill temperatures. Sci.Agr. 15, 765, Ref. Ayres, 1960.

MORAN, T., 1935. Post-mortem and refrigeration changes in meat. J.Soc. Chem. Ind. 54, Pt 2, 149 T.

MORAN, T. SMITH, E.C. and TOMKINS, R.G., 1932. The Exhibition of mould growth on meat by carbon dioxide. J.Soc. Chem. Ind. 51, 114 T.

MOSSEL, D.A.A., DE BRUIN, A.S., van DIEPEN, H.M.J., VENDRIG, C.M.A. and ZOUTWELLE,G., 1956. The enumeration of anaerobic bacteria, and of Clostridium Species in particular, in foods. J.appl. Bact. 19 (1), 142-154.

OGILVY,W.S.,1950. Storage of meat in carbon dioxide atmospheres at temperatures above freezing. (unpublished Ph.D.thesis, Ames, Iowa State University Library). Ref. Ayres, 1960.

OGILVY, W.S. and AYRES, J.C., 1951 a. Post-mortem changes in stored meats. II. The effect of atmospheres containing carbon dioxide in prolonging the storage life of cut-up chicken. Food Technol. 5, 97-102.

OGILVY, W.S., and AYRES, J.C. 1951 b. Post-mortem changes in stored meats. III. The effect of atmosphere containing carbon dioxide in prolonging the storage life of frankfurters. Food Technol. 5, 300-303.

POHJA,M.S., and NIINIVAARA, F.P., 1964. Über die Eigenschaften und Bedeutung der in Rohwurst und in Pökellake vorkommenden lipolytischen Bakterien. Fleischwirtschaft 16 (in press).

POHJA, M.S., RIGLER, F., and NIINIVAARA , F.P., 1960. Ein Verfahren zum Nachweis der Proteolyse im Fleisch Fleischwirtschaft 12, 834 - 835.

SCHMID, W., 1931. Einfluss von Temperatur und Feuchtigkeit auf das Bakterienwachstum auf gekühltem Fleisch. Beih. Z.ges. Kalteindustr., Reihe 3, Heft 6. Ref. Ayres, 1960.

SCOTT, W.J., 1936. The growth of microorganism on ox-muscle. I. The influence of water content of substrate on rate of growth at -1°C. Australia J. Council Ind. Research, 9, 177. Ref. Ayres, 1960.

VALLEY, and RETT GER, 1927. J.Bact. 14, 101. Ref. Callow, 1932