

Untersuchungen zur Mikroflora von vorverpackten, aufgeschnittenen Brüh- und Kochwürsten

G. REUTER

Institut für Lebensmittelhygiene der Freien Universität Berlin
Bundesrepublik Deutschland

Die Vorverpackung aufgeschnittener Fleischwaren unter Vakuum wurde in den letzten Jahren auch auf Brüh- und Kochwurst ausgedehnt, nachdem früher vornehmlich Rohwurst und Pökelerzeugnisse derartig verpackt dem Käufer angeboten wurden. Während über die Mikroflora in vorverpackten, aufgeschnittenen Pökelfleischwaren einige Untersuchungen vorliegen (LEVETZOW, 1961), insbesondere aber bei Bacon (INGRAM 1960; CAVETT, 1962; HANSEN u. RIEMANN, 1962; TONGE *et al.*, 1964; SPENCER, 1967), bestehen über den mikrobiellen Status bei vorverpackten Brüh- und Kochwurstwaren bedeutend weniger und unseres Erachtens unzureichende Mitteilungen. Dieses Gebiet wurde offensichtlich etwas vernachlässigt. Das ist insofern bedenklich, als die an Pökelfleischwaren gewonnenen Erkenntnisse gar nicht auf die genannten Fleischwaren übertragen werden können. Brüh- und Kochwürste besitzen nämlich vor dem Aufschneiden und Verpacken im Gegensatz zu Rohwurst und Pökelfleischwaren keine ausgeprägte Eigenflora, wenn man von den wenigen Sporenbildnern absieht, die den Erhitzungsprozess überstanden haben. Daher kommt bei diesen Warengruppen der beim Aufschneiden und Verpacken eintretenden Kontamination eine viel grössere Bedeutung zu. Diese bestimmt im wesentlichen den mikrobiologischen Status. Eine weitere wesentliche Beeinflussung desselben ist von der Aufbewahrungstemperatur zu erwarten, und schliesslich können sich auch das Nährstoffangebot und die Hemmfaktoren im Substrat selbst auswirken.

Bisher liegen quantitative mikrobiologische Untersuchungen an vorverpackten aufgeschnittenen Fleischwaren, die bei ihrer ursprünglichen Herstellung einer Hitzebehandlung unterzogen worden waren, aus USA und Schweden vor (ALLEN u. FOSTER, 1960; ALM *et al.*, 1961; SHANK u. LUNDQUIST, 1963; WARNECKE *et al.*, 1966). Leider erfolgten die Mikroflora-Analysen nicht selektiv für alle Keimgruppen. Es wurden meist nur der Gesamtkeimgehalt und der dominierende oder leicht zu erkennende Flora-Anteil erfasst. Das Ergebnis dieser Arbeiten war, dass die Haltbarkeit durch Vakuumverpackung um einige Tage verlängert werden konnte, wobei Laktobazillen begünstigt und andere Keimgruppen gehemmt wurden.

Bei den eigenen Untersuchungen wurde eine selektive quantitative Analyse aller wesentlichen Mikroflora-Anteile angestrebt. Zunächst wurden im Handel befindliche Waren geprüft. Anschliessend wurde der Einfluss der drei Faktoren Kontamination, Temperatur und Substrat in Reihenuntersuchungen näher untersucht, mit dem Ziel, hygienische Bedenklichkeiten zu erkennen und Wege zu ihrer Beseitigung zu finden.

EIGENE UNTERSUCHUNGEN

MATERIAL

A: Einzeluntersuchungen

Untersucht wurden 17 Brühwurst- (Jagdwurst, Mortadella, Bierschinken) und 10 Kochwurstproben (Blutwurst, Sülzwurst) aus dem Handel. Sie wurden stichprobenmässig aus mehreren Verkaufsstätten entnommen und stammen von verschiedenen Herstellern.

B: Verlaufsuntersuchungen

Da sich bei den Einzelproben ein auffallend hoher und gleichzeitig vielgestaltiger Keimgehalt gezeigt hatte, wurden 5 fabrikmässig hergestellte Chargen Brüh- und 3 Chargen Kochwurst auf ihrem Verarbeitungsgang vor und nach dem Aufschneiden bis zum Verpacken in Stufenkontrollen verfolgt und die Keimfloraentwicklung bei verschiedenen Aufbewahrungstemperaturen (4–6°, 10–12°, 20–25°) geprüft (Verlaufsuntersuchungen). Dazu wurden von jeder Charge hintereinander entsprechend viele Packungen gleicher Gewichte gesammelt und diese in 3 Gruppen für die Lagerung bei verschiedenen Prüftemperaturen aufgeteilt. Zum jeweiligen Prüfzeitpunkt wurde aus jeder Gruppe je eine Packung geöffnet.

Als Untersuchungsproben wurden je 20 g Material, bestehend aus einem Sektor und damit sowohl aus Rand-, Oberflächen- und Innenpartien, mit 80 ml Verdünnungsflüssigkeit elektromechanisch homogenisiert.

METHODIK

Es wurde mit der quantitativen selektiven Untersuchungsmethodik gearbeitet, die bereits zusammenfassend beschrieben wurde (REUTER, 1968). Dabei wurden folgende Keimgruppen abgegrenzt: Enterobacteriaceae; Pseudomonadaceae; Mikrokokken und innerhalb dieser Gruppe die eigelbpositiven Staphylokokken; Enterokokken im engeren Sinne (also *Sc. faecalis* und *Sc. faecium* mit Varianten); die TTC-reduzierenden Streptokokken, sowie *Pediococcus* und *Leuconostoc*-Arten; Laktobazillen; Bazillen mit Augenmerk auf eigelbpositive Stammformen; *Cl. perfringens* als sulfitreduzierende

Clostridien; Hefen und Schimmel. Der nachweisbare untere Grenzwert war, da das Plattenoberflächenkultivierungsverfahren angewendet wurde, für die meisten Keimgruppen $10^2/g$, nur für *Cl. perfringens* $10^1/g$. Die kulturellen Analysen erfolgten zu Beginn einer Untersuchungsreihe in kürzeren Abständen (2–3 Tage), später in grösseren (5–8 Tage). Neben dem kulturellen Befund wurden auch die organoleptischen Veränderungen sowie der pH-Wert der Proben registriert.

ERGEBNISSE

A: Einzeluntersuchungen

Die Ergebnisse der Einzeluntersuchungen sind in einer Tabelle zusammengefasst, in der für die wichtigsten angetroffenen Keimgruppen jeweils die Variationsbreite und der Medianwert der Logarithmen der Keimzahlen aufgeführt sind. Es war angezeigt, eine Aufteilung der Kochwürste in Blut- und Sülzwürste vorzunehmen. Letztere unterschieden sich etwas in ihrer Flora, letztlich wohl dadurch bedingt, dass der Ausgangs-pH-Wert bei diesen Würsten niedriger lag. So waren bei diesen keine *Enterobacteriaceen* oberhalb des methodisch bedingten Grenzwertes nachzuweisen, und auch die *Laktobacillen* erreichten nicht die entsprechend hohen Werte wie bei Blut- oder Brühwürsten. Da es sich nur um 4 untersuchte Sülzwürste handelte, wurde auf die Angabe der Median-Werte verzichtet.

Aus den Angaben der Tabelle ist zu entnehmen, dass die Gruppe der *Laktobazillen* in allen Fällen dominierte und dass Medianwerte von 8,4 (\log_{10}) üblich waren. Solche Keimzahlen in Lebensmitteln, die in unverpacktem Zustand normalerweise nur geringe Keimgehalte aufweisen, gingen, natürlich mit organoleptischen Veränderungen (Säuerung) einher. Doch wurden diese Waren immer noch zum Verkauf vorrätig gehalten und offensichtlich beanstandungslos gekauft und konsumiert.

Die Keimzahlen der *Enterobacteriaceen* bewegten sich in Grössenordnungen bis annähernd $10^6/g$ und ebenso die der *Mikrokokken*. Es kamen aber weder *Salmonellen* noch eigelb-positive *Staphylokokken* vor. Die *Bazillen* waren in ihrer Zahl nicht bedeutend und auch *Bac. cereus* konnte nicht nachgewiesen werden.

Bei den Streptokokken waren die *Enterokokken* nicht in jedem Fall eindeutig abzutrennen, da wir anfangs nur das Thallium-Acetat-Medium nach BARNES (1956) und nicht das hochselektive Enterokokken-medium (REUTER, 1968) benutzten.

B: Verlaufsuntersuchungen

Die Verlaufsuntersuchungen sollten Anschluss über die Keimflora-Dynamik vom Zeitpunkt der Verpackung an erbringen. Insbesondere sollte geprüft

werden, ob einzelne Keimgruppen zwischenzeitlich Werte erreichen, die hygienisch als bedenklich anzusehen sind. Zur Prüfung solcher Entwicklungsmöglichkeiten waren die verschiedenen Lagerungstemperaturen (4–6°, 10–12°, 20–25°) sehr geeignet. Bei den einzelnen Keimgruppen gab es unterschiedliche Tendenzen, ja nach Ausgangskeimgehalt, Temperaturführung und Ausgangssubstrat. Am stärksten traten die Variationen bei den Gruppen der Enterobacteriaceen, der Mikrokokken und der Enterokokken in Erscheinung.

Die mikrobiologischen Befunde im einzelnen

1) Laktobazillen

Unabhängig von der anfangs vorhandenen Kontaminationsmenge entwickelten sich die Laktobazillen bei allen 3 Aufbewahrungstemperaturen zum dominierenden Keimflora-Anteil, je nach Temperaturführung natürlich in unterschiedlich langen Zeiträumen. Auch eine strikte Einhaltung der Aufbewahrungstemperatur von 4 bis maximal 6° C konnte die Entwicklung einer Laktobazillenflora bis auf Werte zwischen 10^8 und 10^9 /g nicht verhindern. Bei 20° waren diese Keimzahlen bereits nach 3 Tagen erreicht, bei 10° nach etwa 6–10 Tagen und 4–6° nach 12–17 Tagen.

2) Enterobacteriaceen

a) Brühwurst

Bei für die Enterobacteriaceenentwicklung günstigen Voraussetzungen, d.h. hohem Kontaminationsgrad (über 10^4 /g) und höheren Temperaturen (über 10° C) kam es bei einer Mortadella zu Keimzahlanstiegen bis auf 10^8 /g innerhalb 5–7 Tagen, trotz gleichlaufender Laktobazillenentwicklung. Bei anderen Brühwürsten (Jagdwurst und Bierschinken) lagen Maximalwerte zwischen 10^6 und 10^7 vor. Ein einmal erreichtes Niveau blieb im gesamten Beobachtungszeitraum, d.h. bis zu 25 oder mehr Tagen, bestehen. Bei niedriger Aufbewahrungstemperatur (4–6°) lagen die Maxima um 10^5 /g, meist bewegten sich die Werte zwischen 10^4 und 10^5 /g. Die Enterobacteriaceen waren in allen 5 Brühwurstchargen in diesen Mengen vorhanden.

b) Kochwurst

Bei 2 Chargen Blutwurst mit Fleischeinlagen (»Fleischrotwurst«) und bei Sülzwurst kamen Enterobacteriaceen auch bei höheren Temperaturen zu keiner nennenswerten Entwicklung, d.h., sie überschritten nicht die Grenze von 10^4 /g. Bei einer Blutwurstcharge mit Zungeneinlage (Zungenwurst) trat jedoch in allen 3 geprüften Temperaturbereichen eine so starke Enterobacteriaceenvermehrung ein, dass Werte zwischen 10^7 und 10^8 /g erreicht

Abb. 1

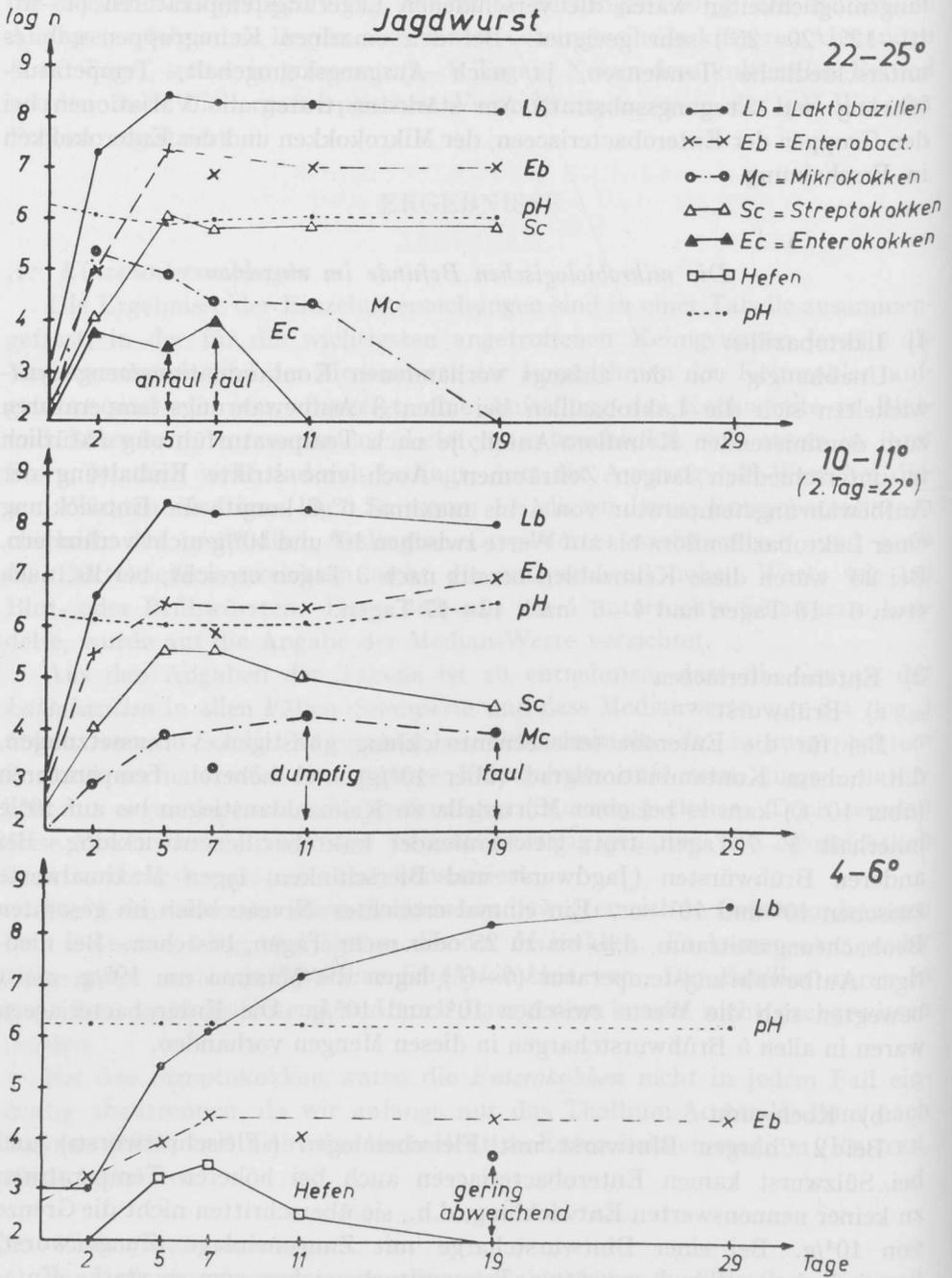
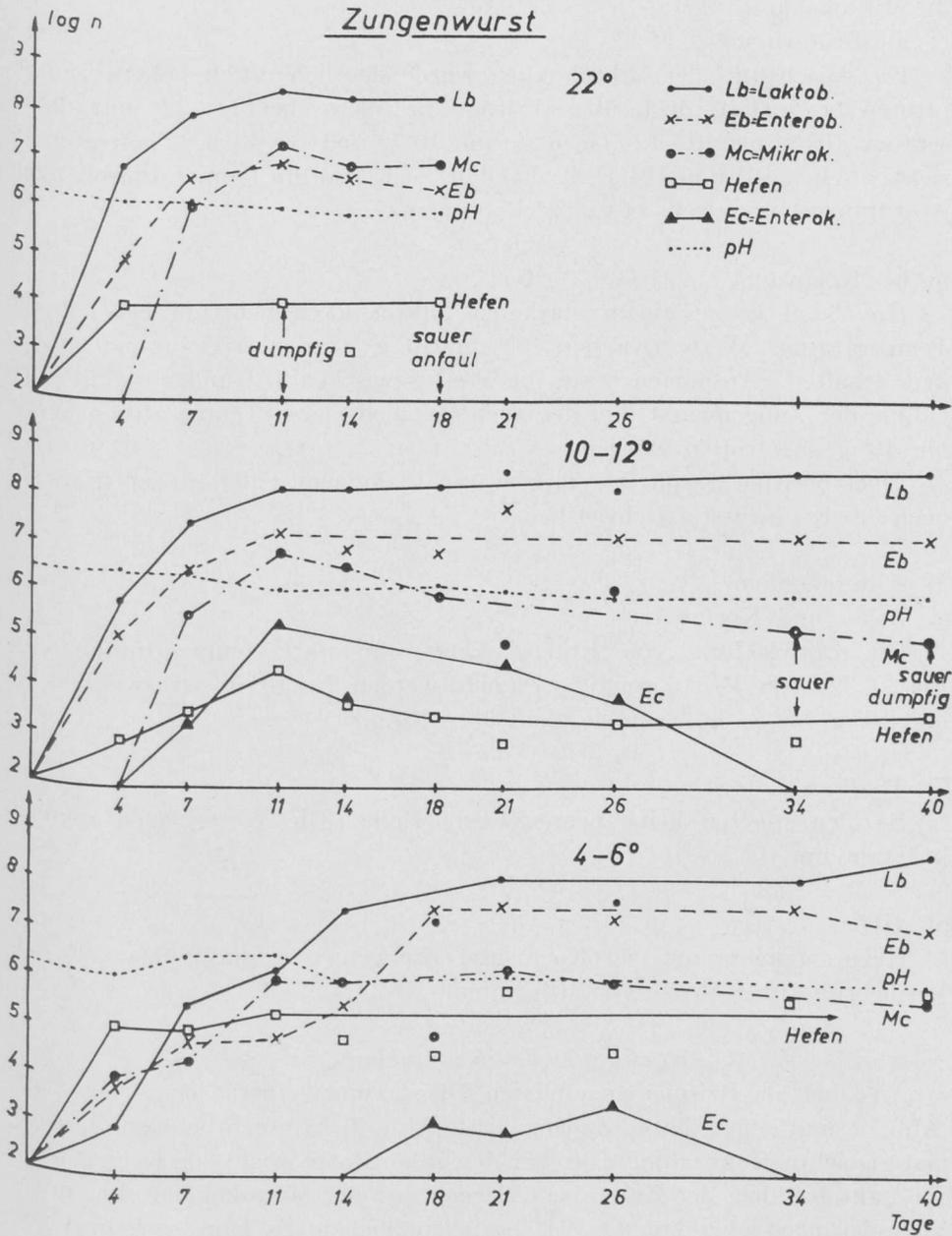


Abb. 2

Zungenwurst



wurden, bei 4–6° allerdings zeitlich stark verzögert, und zwar erst nach 18 Tagen.

3) Mikrokokken

a) Brühwurst

Das Wachstum der Mikrokokken wurde deutlich durch höhere Temperaturen begünstigt, doch überschritten die Werte bei 20–22° nur unwesentlich $10^5/g$, bei 10–12° lagen sie um $10^4/g$ und bei 4–6° C bewegten sie sich zwischen 10^3 und $10^4/g$. Es handelte sich also um temperaturabhängige Abstufungen um jeweils etwa 1 Zehnerpotenz.

b) Kochwurst

Hier kam es zu einem stärkeren Mikrokokkenwachstum bei höheren Temperaturen. Werte zwischen 10^6 und $10^7/g$ wurden erreicht und längere Zeit gehalten. Ansonsten lagen die Werte zwischen 10^4 und 10^5 , mit Ausnahme der Zungenwurst, bei der auch bei niedrigeren Temperaturen Werte um $10^6/g$ angetroffen wurden.

Eigelbpositive Staphylokokken waren in keinem Falle, weder in Brüh- noch in Kochwurst, nachweisbar.

4) Enterokokken

Brüh- und Kochwurst

Die Entwicklung von Enterokokken war stark temperaturabhängig. Bei 20° konnten Werte um $10^6/g$ erreicht werden, bei 10° Werte zwischen 10^4 und $10^5/g$, bei 4–6° lagen sie nicht über $10^3/g$.

5) Bazillen

Bazillen spielten keine nennenswerte Rolle. Die Werte lagen ziemlich konstant um $10^3/g$.

6) Hefen

Hefen erzielten nur bei Kochwurst (Zungenwurst und Sülzwurst) eine Vermehrung über Werte von $10^4/g$ hinaus.

Kontinuität des Keimzahl-niveaus

Aus den als Beispiel angeführten Diagrammen einer Charge Jagdwurst (Abb. 1) und einer Charge Zungenwurst (Abb. 2) ist zu entnehmen, dass einmal erreichte Keimzahl-niveaus bei den quantitativ wichtigen Keimgruppen der Laktobazillen, der Enterobacteriaceen und der Mikrokokken ohne grosse Veränderungen über längere Zeit bestehen blieben. Es kam zu keinen vorübergehenden massiven Keimzahlanstiegen einzelner Keimgruppen, die nach kurzer Zeit nicht mehr erkennbar gewesen wären.

Organoleptische Befunde

Der organoleptische Befund wurde bei jeder Untersuchung aufgenommen. Als erste Veränderungen zeigten sich immer ein saurer Geruch und Geschmack. Für die proteolytischen Veränderungen wurden als Abstufungen zur Charakterisierung zunehmender Verderbnis die Begriffe dumpfig, anfaul und faul verwendet.

1) Säuerung

Bei den Brühwürsten zeigte sich die deutlich wahrnehmbare Säuerung mehrfach erst 3–6 Tage nach dem exponentiellen Anstieg der Laktobazillenzahlen auf 10^8 – 10^9 /g. Bei Kochwürsten machten sich Säuerungserscheinungen zum Teil erst 3 Wochen danach eindeutig bemerkbar.

2) Proteolytische Veränderungen

Proteolytische Geruchs- und Geschmacksabweichungen standen im Zusammenhang mit den Enterobacteriaceenbefunden. Doch korrelierten diese keineswegs immer. Mangelnde Übereinstimmungen gab es insbesondere bei Blutwurst mit starker Würzung (Majoran). Hier kam es vor, dass ein Enterobacteriaceengehalt von 10^7 /g 3 Wochen bestand, ohne dass proteolytische Veränderungen organoleptisch festzustellen gewesen wären. Bei Brühwürsten war nach Überschreiten von 10^7 /g ein dumpfiger Geruch bemerkbar. Die Stadien »anfaul« und »faul« waren nach jeweils 3 weiteren Tagen bei gleicher Keimzahlhöhe festzustellen. Weiterer Keimzahlanstieg beschleunigte die Verderbnis.

pH-Wert-Bestimmungen

Die pH-Werte konnten nur in einigen Fällen als Hinweis auf mikrobielle Veränderungen gewertet werden. Es handelte sich um Brühwurstproben, bei denen es zu einem Abfall bis unter 5,0 kam. Bei solchen Chargen waren neben den Laktobazillen die übrigen Keimgruppen nur in geringen Anteilen vorhanden. Dabei korrelierte auch der organoleptische Befund weitgehend mit den pH-Werten. Bei grösseren Mengen proteolytischer Anteile dagegen war aus dem Verlauf der pH-Werte keine Aussage zu erhoffen, da »Säurebildner« und »Proteolyten« konträr einwirkten.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

Mit Hilfe der Verlaufsuntersuchungen war es möglich, die Befunde der Einzeluntersuchungen zu bestätigen und zu interpretieren.

Da bei den Verlaufsuntersuchungen innerhalb der entstehenden Mikroflora keine kurzfristigen Umschichtungen erfolgten, sondern die erreichten Niveaus einzelner Keimgruppen längere Zeit bestehen blieben, gewinnen die

Tabelle 1. Logarithmen der Keimzahlen in vakuumverpackten aufgeschnittenen Brüh- und Kochwürst:n

(Variationsbreite u. Median, unterer Grenzwert 2,0)

n	Brühwurst 17	Blutwurst 6	Süßwurst 4
Enterobacteriaceae (Salmonellen)	3,0 – 5,78 4,7 (–)	3,08 – 4,78 3,78 (–)	– (–)
Mikrokokken (eig. + Staph.)	2,8 – 4,9 3,48 (–)	3,34 – 6,78 4,18 (–)	2,3 – 7,4 (–)
Streptokokken (= Enterokokken?)	3,9 – 5,6 4,48	2,0 – 5,42 4,3	2,0 – 5,15
Bazillen (Bac. cereus)	2,0 – 4,3 2,7 (–)	2,0 – 3,3 2,3 (–)	2,3 – 2,9 (–)
Hefen	2,0 – 4,1 3,1	2,0 – 5,15 2,6	2,4 – 5,7
Laktobazillen	5,8 – 9,0 8,4	5,9 – 8,9 8,43	6,7 – 8,26
Cl. perfringens	–	–	–
Pseudomonadaceae	–	–	–
pH	6,1 – 5,6	6,3 – 5,8	5,9 – 4,9

mikrobiellen Befunde an Einzelproben an Aussagewert. Von diesen sind daher ohne weiteres Rückschlüsse auf abgelaufene Entwicklungen möglich. Der *mikrobielle Status einer Einzeluntersuchung* kann deshalb zur hygienischen Beurteilung einer Probe dienen.

Wesentlich problematischer ist dagegen der *organoleptische Befund*. Verschiedene substratabhängige Komponenten (z.B. starke Würzung) sowie gegenteilige Einflüsse verschiedener Keimfloraanteile beeinträchtigen den Befund und erschweren Rückschlüsse auf den mikrobiologischen Zustand.

Das ist im Hinblick auf den vorkommenden hohen Gehalt an *Enterobacteriaceen* bedauerlich. Bei beiden Fleischwarengruppen traten diese nämlich in hygienisch bedenklichen Mengen auf. Einige Arten, wie Klebsiella, Enterobacter, Proteus und Arizona, können bei Keimzahlen von $10^7/g$ zu enterotoxischen Symptomen führen, ganz abgesehen natürlich von den eigentlichen Infektionserregern, den Salmonellen. Die Gefahr für den Kon-

sumenten ist dabei grösser bei Kochwürsten mit starker Würzung, bei denen die proteolytischen Veränderungen längere Zeit überdeckt werden, als bei Brühwürsten.

Die Ausbildung einer starken *Laktobazillenflora* ist nichts Neues. Bemerkenswert ist jedoch die Feststellung, dass diese nicht in der Lage ist, die Gruppe der Enterobacteriaceen stärker zu hemmen. Das verwundert insbesondere deshalb, weil Laktobazillen in anderen Lebensmitteln eine wesentlich bessere protektive Rolle spielen, z.B. in Rohwurst oder in Milch. So haben Enterobacteriaceen in reifender Rohwurst neben den Laktobazillen kaum eine Chance zur nennenswerten Vermehrung (REUTER *et al.*, 1968). Dabei ist die Laktobazillenflora in Rohwurst und in vacuumverpackten Brüh- und Kochwürsten von annähernd gleicher qualitativer Zusammensetzung. In beiden Bereichen handelt es sich vorwiegend um atypische Streptobakterien (REUTER, 1967 u. 1969). Hieraus ergibt sich ganz deutlich die Substratabhängigkeit für den Entwicklungsverlauf einer Mikroflora.

Nur ein ungewöhnlich hoher Kontaminationsgrad an Laktobazillen im Ausgangsmaterial ($10^5/g$) war in einem Fall in der Lage, von vornherein so stark hemmend zu wirken, dass die Enterobacteriaceen auch bei 20° den Wert von $10^5/g$ nicht überschritten. Solche Ausgangsbedingungen sind jedoch nicht üblich und eigentlich als Ergebnis einer ungewollten Beimpfung anzusehen (Verwendung einer ungereinigten Aufschnittmaschine im Anschluss an vorherige Rohwurstverarbeitung!).

Mikrokokken scheinen in Kochwürsten bessere Entwicklungsmöglichkeiten als in Brühwürsten zu besitzen. Trotz Anwendung von Spezialnährmedien zum Nachweis eigelb-positiver *Staphylokokken* (KRANEP und Eigelb-Pyruvat-Agar; REUTER, 1968) konnten jedoch derartige Mikroorganismen nicht ermittelt werden. Es besteht also kaum die Gefahr einer Anreicherung von Staphylokokken-Entero-Toxin. Die Gruppe der übrigen Mikrokokken ist trotz Werten von 10^6 – $10^7/g$ nach heutigen Erkenntnissen hygienisch nicht bedenklich.

In der Literatur gibt es einige Arbeiten, die sich experimentell mit der Vermehrungsfähigkeit von *Staph. aureus* in vorverpackten Produkten befassten. Auch dort hatten die Staphylokokken bei einer starken Begleitflora keine Möglichkeit der Vermehrung (EDDY u. INGRAM, 1962; THATCHER *et al.*, 1962; CHRISTIANSEN u. FCSTER, 1965; SPENCER, 1967).

Die *Bazillen* stellten keine Gefahr dar. Es kam zu keinen nennenswerten Zunahmen über Werte von $10^3/g$, und Stammformen mit positiver Eigelb-Reaktion traten gar nicht in Erscheinung.

Streptokokken zeigten stärkere Vermehrungstendenzen, wobei die Entwicklung von Enterokokken stärker temperaturabhängig war. Die Enterokokken erreichten jedoch niemals Maximalwerte, die Anlass für enterale

Reaktionen hätten sein können. Man hält dafür aufgenommene Mengen von insgesamt 10^{10} geeignet (APHA, 1963).

Mit den *Laktobazillen* als unvermeidlichem Bestandteil aller vacuumverpackten Fleischwaren auch bei sachgemässer Lagerung (5°C) hat man sich abzufinden. Die Keime bestimmen dabei durch starke Säuerung die Haltbarkeitsgrenze.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Allen, J. R., Foster, E. M.: Food Res. 25, 19–25 (1960).
- 2) Alm, F., Erichsen, J., Molin, N.: Food Techn. 15, 199–203 (1961).
- 3) APHA: Americ. Public Health Assoc.: Diagnostic procedures and reagents 4. Ausg., 1963 Bact. food poisoning, 330–332.
- 4) Barnes, E. M.: J. appl. Bact. 19, 193 (1956).
- 5) Cavett, J. J.: J. appl. Bact. 25, 282–289 (1962).
- 6) Christiansen, L. N., Foster, E. M.: Appl. Microb. 13, 1023–1025 (1965).
- 7) Eddy, B. P., Ingram, M.: J. appl. Bact. 25, 237–247 (1962).
- 8) Hansen, N. H., Rieman, H.: Fleischwirtsch. 14, 861–868 (1962).
- 9) Ingram, M.: J. appl. Bact. 23, 206–215 (1960).
- 10) Levetzow, R.: Untersuchungen an vorverpackten Rohwurst- und Räucherwaren Vet. med. Diss. FU Berlin (1961).
- 11) Reuter, G.: Fleischwirtsch. 47, 397–402 (1967).
- 12) Reuter, G.: Arch. Lebensmittelhyg. 19, 53–57, 84–89 (1968).
- 13) Reuter, G., Langner, H. J., Sinell, H. J.: Fleischwirtsch. 48, 170–176 (1968).
- 14) Reuter, G.: (1969). Bisher nicht veröffentlichte Daten.
- 15) Shank, J. L., Lundquist, B. R.: Food Technol. 17, 1163–1166 (1963).
- 16) Spencer, R.: 13. Meet. Europ. Meat. Res. Workers, Rotterdam, 1967.
- 17) Thatcher, F. S., Robinson, J., Erdman, J.: J. appl. Bact. 25, 120–124 (1962).
- 18) Tonge, R. J., Baird-Parker, A. C., Cavett, J. J.: J. appl. Bact. 27, 252–264 (1964).
- 19) Warnecke, M. O., Ockermann, H. W., Weiser, H. H., Cahill, V. R.: Food. Technol. 20, 686–688 (1966).