

# Schimmelpilzkontamination von Fleischerzeugnissen über Gewürze

R. HADLOK

Institut für Tierärztliche Nahrungsmittelkunde der Justus-Liebig-Universität Giessen  
Bundesrepublik Deutschland

## EINLEITUNG

Unbehandelten Naturgewürzen ist — im Gegensatz zu entkeimten Gewürzen und Gewürzextrakten (Bartels und Hadlok 1966, Coretti 1955 b, Coretti 1957, Gisske 1954, Schönberg 1962) — als mikrobieller Kontaminationsquelle bei der Herstellung von Fleischerzeugnissen eine besondere Rolle, zuzuschreiben (Eschmann 1965, Jensen, Wood und Jansen 1934, Mossel 1955, Schönberg 1955, Walz 1956).

Von allen Untersuchern die sich mit den in Naturgewürzen vorkommen den Mikroorganismen in quantitativer und qualitativer Hinsicht befassten wird übereinstimmend berichtet, dass Naturgewürze als in unterschiedlichem Masse keimhaltig anzusehen sind und in ihnen stets mit dem Vorkommen von Bazillen, Clostridien und Schimmelpilzen bzw. deren Sporen zu rechnen ist (Coretti 1955 a 1956, Frazier 1967, Hadlok 1957, Hille 1937, Hobbing 1955, Hüttmann 1954, Kammer 1961, Pohja 1957, Schönberg 1959, Walz 1956, Weiser 1962, Yesair and Williams 1942).

Über die in naturbelassenen Gewürzen vorkommenden Gesamtschimmelpilzzahlen (Coretti 1957, Eschmann 1965, Pohja 1957, Yesair and Williams 1942) und besonders über die darin enthaltenen Schimmelpilzgattungen und -arten (Senser 1967, Westerdijk 1949) liegen nur wenige Angaben vor.

Es lassen sich deshalb über die potentielle Möglichkeit einer quantitativen Schimmelpilzkontamination von Fleischerzeugnissen durch naturbelassene Gewürze nur unzureichende Aussagen, und praktisch gar keine Aussagen über die potentielle Möglichkeit einer qualitativen Kontamination mit Schimmelpilzarten besonders der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und der *Aspergillus*-Gruppen *A. glaucus* und *A. flavus* machen.

Schimmelpilzarten der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und der *Aspergillus*-Gruppe *A. glaucus* treten nach den Untersuchungen von Frank 1966, Hadlok 1969, Jirkovsky und Galgoczy 1966, Leistner, Ayres und Lillard 1965 und Leistner und Ayres 1967 bei Fleischerzeugnissen insbesondere bei gepökelten, vorwiegend auf; Stämme von Arten der *A. flavus* Gruppe und

auch der *A. glaucus*-Gruppe können Mycotoxinbildner sein (Frank 1967, 1968, Hadlok 1968, Townsend 1967).

Es wurden deshalb mit einer speziell auf den Nachweis von Schimmelpilzen abgestimmten Methodik unbehandelte Naturgewürze untersucht. Ausser der Feststellung der Gesamtzahl an Schimmelpilzen pro Gramm Gewürz erfolgte die anteilmässige Bestimmung insbesondere der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und innerhalb der Gattung *Aspergillus* vor allem der Gruppen *A. glaucus* und *A. flavus*.

## EIGENE UNTERSUCHUNGEN

### *Material und Methodik*

Zur Untersuchung gelangten 28 naturbelassene, feingemahlene Gewürze von 12 Gewürzmühlen und Gewürzgrosshandlungen. Es handelte sich bei den Gewürzen um 12 Proben Pfeffer (schwarz), 11 Proben Piment und 5 Proben Senfkörner.

5 g von der Gewürzmühle gemahlen gelieferten Gewürzes wurden in ein Gemisch aus 74 ml steriler physiologischer NaCl und 1 ml 1 %-iger Natriumlaurylsulfatlösung (NLS) gegeben. Die Zugabe von NLS dient der Benetzung der Sporen und damit ihrer gleichmässigen Verteilung in der Suspension (Raper und Fennell 1965). Diese Gewürzsuspension wurde 30 Sekunden lang auf Stufe 1 im Waring Blendor (etwa 12 000 Umdrehungen pro Minute) homogenisiert. Danach blieb diese Gewürzsuspension 2 Minuten stehen. Anschliessend erfolgte die Zugabe von 20 ml Carboxylmethylcellulose, ca. 35/37 %, Flocken, (CMC) in 10 %-iger Lösung und erneutes Homogenisieren für 1 Minute bei Stufe 1. CMC dient der Viskositäts-erhöhung und damit einer weitgehend stabilen Verteilung der Gewürzpartikel und Schimmelpilzsporen in der Suspension (Gams 1968).

Von dem Gewürzhomogenisat, das eine Gewürzverdünnung 1:20 darstellte, wurde in 10fachen Verdünnungsstufen bis 1:200 000 weiter verdünnt. Das verwendete Verdünnungsmedium setzte sich zusammen aus physiologischer Kochsalzlösung und 2 % CMC. Die steigenden Verdünnungen wurden durch Pipettieren von 1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe in ein 9 ml Verdünnungsröhrchen bereitet. Die anschliessende Durchmischung erfolgte durch Drehen des Verdünnungsröhrchens aus dem Handgelenk heraus 10 mal im Uhrzeigersinn und 10 mal im entgegengesetzten Uhrzeigersinn und anschliessendes 10maliges Aufsaugen und Auslaufenlassen der Pipette. Von jeder Verdünnungsstufe wurden in jede von 3 Petrischalen mit einer lichten Bodenweite von 10,5 cm je 1 ml pipettiert. Danach wurden 15 ml des verflüssigten, 45° C warmen Nährmediums in jede Petrischale gegeben.

Als Nährmedium fanden zur Erfassung der Gesamtschimmelpilzzahl Malt-Agar (Oxoid) plus 3 % Saccharose (pH 4,5) und zur Erfassung der

Aspergillus glaucus-Gruppe und hier insbesondere osmophiler Arten Czapek-Dox-Agar (Oxoid) plus 17 % Saccharose (pH 4,5) Anwendung. Unmittelbar nach dem Giessen wurden das Medium und die Impfmenge durch 5maliges Hin- und Herbewegen, 5 kreisende Bewegungen im Uhrzeigersinn, 5maliges Hin- und Herbewegen im rechten Winkel zu der beim ersten Mal gewählten Richtung und 5 kreisende Bewegungen gegen den Uhrzeigersinn gemischt. Nachdem sich das Medium in den Petrischalen verfestigt hatte, wurden diese mit dem Deckel nach unten im Brutschrank bei  $+25^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) bebrütet. Das Wachstum der Schimmelpilze und die Zahl der Kolonien wurden nach 12 Stunden und dann alle 24 Stunden bis zu 7 Tagen geprüft. Jede durch Mycelwachstum charakterisierte Kolonie wurde aus dem Nährmedium der für die Pilzzählung günstigsten Verdünnungsstufen unter dem Plattenmikroskop Okular  $18 \times$  Objektiv  $1 \times$  ausgestochen und zur Weiterzüchtung und Differenzierung auf Malt-Schrägagararröhrchen verbracht. Das Wachstum der in die Schrägagararröhrchen verbrachten Pilzkolonien wurde alle 24 Stunden überprüft.

Die Differenzierung erfolgte nach der bereits veröffentlichten Methodik (Hadlok 1969).

## ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Ergebnisse der Untersuchungen über den Schimmelpilzgehalt pro Gramm Gewürz sind in der Tabelle 3 für Pfeffer (schwarz), in der Tabelle 4 für Piment und in der Tabelle 5 für Senfkörner aufgeführt (siehe Anhang). Für jedes der 28 Gewürze finden sich dort Angaben über die Gesamtschimmelpilzzahl allein und aufgliedert nach a) Verschiedene Gattungen, b) Gattung *Penicillium*, c) Gattung *Aspergillus* und über den Anteil der *Aspergillus*-Gruppen *A. flavus* und *A. glaucus* an der Schimmelpilzzahl der Gattung *Aspergillus*. Weiterhin sind Angaben über die sich für die drei Gewürzarten daraus ergebenden Durchschnittswerte und Schwankungsbreiten gemacht.

Es konnte festgestellt werden, dass die meisten Proben der 3 Gewürzarten einen Pilzgehalt von bis zu 100 000 pro Gramm aufwiesen. Die Verteilung der Pilzzahlen wurde in Tabelle 1 dargestellt.

Pfeffer (schwarz) wies die höchsten Gesamtpilzzahlen auf (bis zu 880 000), beim Piment lag die höchste Zahl bei 161 000 und bei den Senfkörnern bei 41 000. Der unterschiedliche Schimmelpilzgehalt der 3 Gewürzarten kommt auch in den Durchschnittswerten aus den bei den einzelnen Gewürzen ermittelten Gesamtpilzzahlen zum Ausdruck (abgerundet): Pfeffer (schwarz) 190 000, Piment 70 000, Senfkörner 9 000.

Der Anteil der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und der *Aspergillus*-Gruppen *A. flavus* und *A. glaucus* an der Gesamtpilzzahl stellt sich, prozentual gesehen, aus den Durchschnittswerten errechnet, wie folgt dar:

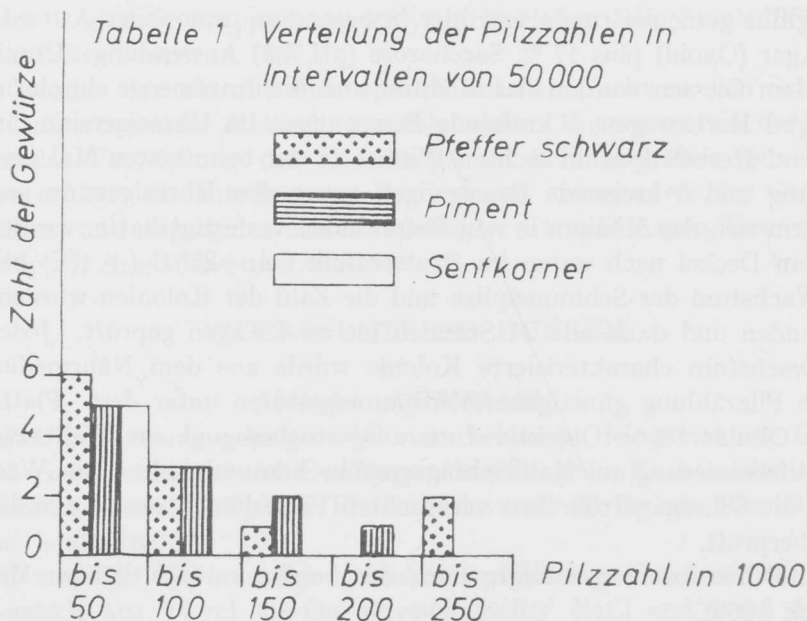


Tabelle 2. Prozentuale Gattungs- und Gruppenangaben

Gewürzart	Gattungen		Gruppen	
	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A.flavus</i>	<i>A.glaucus</i>
Pfeffer schwarz	8,3	85,9	10,8	29,4
Piment	0,4	96,9	2,1	3,0
Senfkörner	39,1	56,5	0,9	37,0

Aus der Tabelle 2 ist ersichtlich, dass die Gattung *Aspergillus* wesentlich zahlreicher vertreten war als die Gattung *Penicillium* und die *A. glaucus*-Gruppe bei den Gewürzen Pfeffer (schwarz) und Senfkörner zahlreicher als die *A. flavus*-Gruppe; bei Piment waren beide Gruppen etwa in gleicher Menge vertreten.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die untersuchten Gewürzarten und innerhalb der Gewürzarten die einzelnen Gewürzproben unterschiedliche Gesamtschimmelpilzzahlen aufwiesen. An Gattungen traten *Penicillium* und *Aspergillus* auf, wobei Pilze der Gattung *Aspergillus* überwogen. Innerhalb der Gattung *Aspergillus* war die *A. glaucus*-Gruppe häufiger vertreten als die *A. flavus*-Gruppe.

Den Untersuchungsergebnissen zufolge stellen die Gewürze Pfeffer (schwarz), Piment und Senfkörner in naturbelassenem Zustand, und hier

insbesondere Pfeffer (schwarz) und Piment, eine Kontaminationsquelle für Fleischerzeugnisse dar, bei denen vor allem Pilze der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und der *A. glaucus*-Gruppe gefunden werden können. Diese Gewürze kommen auch als Reservoir für Pilze der *A. flavus*-Gruppe in Betracht.

Die nachgewiesenen Schimmelpilzzahlen für Pfeffer (schwarz) lagen in ihrer Schwankungsbreite niedriger als bei Yesair und Williams 1942 (80 000 bis 1 300 000) und in etwa gleicher Höhe mit den von Coretti 1957 gefundenen Durchschnittswerten ( $22 \times 10^4$ ); mit den von Eschmann 1965 gefundenen sind sie nicht vergleichbar.

Beim Piment waren die gefundenen Schimmelpilzzahlen in der Schwankungsbreite niedriger als bei Yesair und Williams 1942 (50 000 bis 220 000) und höher im Durchschnittswert als bei Coretti 1957, der Piment als frei von Schimmelpilzen fand und höher als bei Eschmann 1965, der 50 Schimmelpilze pro Gramm nachwies.

Für Senf wurden höhere Schimmelpilzzahlen gefunden als von Yesair und Williams 1942 (0 bis 3 000) und als von Coretti 1957 (0).

Insgesamt gesehen ist die Tendenz der Höhe der Gesamtschimmelpilzzahlen der eigenen Untersuchungen mit denen der Untersuchungen von Yesair und Williams 1942 vergleichbar.

Über den Anteil der Gattungen *Penicillium* und *Aspergillus* und der *Aspergillus*-Gruppen *A. flavus* und *A. glaucus* an der in Gewürzen nachweisbaren Gesamtschimmelpilzzahl waren aus der zugänglichen Literatur keine Vergleichbaren Angaben zu erhalten.

Tabelle 3. Schimmelpilzgehalt pro Gramm Gewürz

Gewürzart und Gewürznummer	Gesamtzahl nach Gattungen				Anteil von <i>Aspergillus</i> -Gruppen	
	Gesamtzahl	Verschiedene	<i>Penicillium</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>A. flavus</i>	<i>A. glaucus</i>
Pfeffer, schwarz						
1 .....	66 400	600	8 000	57 800	5 800	22 000
3 .....	880 000	100 000	80 000	700 000	66 000	6 000
4 .....	26 200	600	4 000	21 600	200	15 400
6 .....	12 300	500	300	11 500	700	10 200
8 .....	40 400	800	12 600	27 000	10 000	6 000
9 .....	46 400	1 200	8 600	36 600	6 000	18 000
10 .....	98 600	9 400	46 600	42 600	12 000	14 000
11 .....	39 800	800	4 000	35 000	2 000	16 000
12 .....	82 000	4 000	4 000	74 000	14 000	20 000
13 .....	866 000	6 000	20 000	840 000	120 000	460 000
14 .....	1 600	600	—	1 000	—	200
15 .....	115 200	6 000	1 200	108 000	8 000	80 000
Durchschnitt	189 600	10 900	15 800	162 900	20 400	55 700
Schwankung	1 600	500	0	1 000	0	200
von — bis	880 000	100 000	80 000	840 000	120 000	460 000

Tabell 4. Schimmelpilzgehalt pro Gramm Gewürz

Gewürzart und Gewürznummer	Gesamtzahl nach Gattungen			Anteil von Aspergillus-Gruppen		
	Gesamtzahl	Verschiedene	Penicillium	Aspergillus	A.flavus	A.glaucus
Piment						
1 .....	161 000	1 000	—	160 000	—	2 000
4 .....	4 000	1 200	600	2 200	200	400
6 .....	62 600	600	—	62 000	2 000	—
8 .....	99 000	400	600	98 000	600	1 200
9 .....	124 000	8 000	—	116 000	1 200	2 000
10 .....	42 000	2 000	—	40 000	600	1 200
11 .....	8 000	1 200	200	6 600	—	2 000
12 .....	27 000	600	400	26 000	600	4 000
13 .....	83 000	200	200	82 600	9 400	7 400
14 .....	114 000	4 000	600	109 400	600	1 000
15 .....	49 000	2 000	400	46 600	800	2 400
Durchschnitt	70 300	1 900	300	68 100	1 500	2 100
Schwankung	4 000	200	0	2 200	0	0
von — bis	161 000	8 000	600	160 000	9 400	7 400

Tabelle 5. Schimmelpilzgehalt pro Gramm Gewürz

Gewürzart und Gewürznummer	Gesamtzahl nach Gattungen			Anteil von Aspergillus-Gruppen		
	Gesamtzahl	Verschiedene	Penicillium	Aspergillus	A.flavus	A.glaucus
Senfkörner						
4 .....	41 200	1 200	18 000	22 000	400	14 000
6 .....	2 800	400	—	2 400	—	2 000
9 .....	400	—	200	200	—	200
14 .....	800	200	—	600	—	200
15 .....	1 000	200	—	800	—	600
Durchschnitt	9 200	400	3 600	5 200	80	3 400
Schwankung	400	0	0	200	0	200
von — bis	41 200	1 200	18 000	22 000	400	14 000

#### LITERATUR

- Bartels, H. und Hadlok, R. 1966: Organoleptische und bakteriologische Untersuchungen von Gewürzextrakten aus Naturgewürzen. *Fleischwirtschaft* 46, 234—239.
- Coretti, K. 1955 a: Der Keimgehalt von Gewürzen. *Fleischwirtschaft* 7, 305—308.
- Coretti, K. 1955 b: Gewürzentkeimung eine hygienische Notwendigkeit. Zur Entkeimung durch UV-Bestrahlung. *Fleischwirtschaft* 7, 386—389.

- Coretti, K. 1957: Kaltentkeimung von Gewürzen mit Äthylenoxyd. *Fleischwirtschaft* 9, 183—190.
- Eschmann, K. H., 1965: Gewürze — eine Quelle bakteriologischer Infektionen. *Alimenta* 4, 83—87.
- Frank, H. K. 1966: Aflatoxine in Lebensmitteln. *Arch. Lebensmittelhyg.* 17, 237—242.
- Frank, H. K. 1967: Mykotoxine und ihre Produzenten. *Med. Klinik* 62, 1933—1941.
- Frank, H. K. 1968: Sind Mykotoxine in unserer Nahrung eine Gefahr? *Therapiewoche* 18, 1172—1180.
- Frazier, W. C. 1967: *Food Microbiology*, 2nd Ed. McGraw-Hill Book Company New York, London.
- Gisske, W. 1954: Keimfreie Gewürzpräparate für die Herstellung von Fleischgerichten und Wurstwaren. *Fleischwirtschaft* 6, 280, 286.
- Goresline, H. E. et al. 1943: (Report of the Committee on Microbiological Examination of Foods) Microbiological examination of spices, fermented foods, and fruit juices. *Amer. J. Publ. Health Nat. Health* 33, 725—728.
- Hadlok, R. 1957: Über die Resistenz nativer Sporen aerober Sporenbildner bei verschiedenen Temperaturen. *Veter. Med. Diss. Hannover.*
- Hadlok, R. 1969: Schimmelpilze bei Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft* 49, 455—460.
- Hadlok, R. 1968: Unveröffentlichte Untersuchungsergebnisse
- Hille, J. 1937: Der Keimgehalt der Gewürze Majoran, weisser Pfeffer, Nelken und seine Bedeutung in der Wurstfabrikation. *Veter. Med. Diss. Berlin.*
- Hobbing, E. 1935: Die bakteriologische Bedeutung der pflanzlichen Gewürze in der Wurst. *Tierärztl. Rdsch.* 41, 252—255.
- Hüttmann, H. 1954: Untersuchung über den Keimgehalt der in Deutschland üblichen Gewürze und seine Beziehung zur Entstehung von Fehlfabrikaten. *Veter. Med. Diss. Hannover.*
- Jensen, L. B., Wood, I. H. and Jansen, C. E. 1934: Swelling in canned chopped hams. *Ind. Eng. Chem.* 26, 1118—1120.
- Jirkovsky M. und Galgoczy, J. 1966: Die Untersuchung der Schimmelpilzflora der ungarischen Wintersalami. *Fleischwirtschaft* 46, 128.
- Kammer, J. 1961: Über die besonderen Eigenschaften der aeroben Bazillen in Gewürzen unter besonderer Berücksichtigung der Eiweisszersetzung. *Veter. Med. Diss. Hannover.*
- Leistner, L., Ayres, J. C. and Lillard, D. A. 1965: Occurrence and significance of fungi in cured meats. *Fourth Symposium of the World Association of Veterinary Food-Hygienists, Lincoln, Nebraska, U.S.A., Proceedings*, P. 262—268.
- Leistner, L. und Ayres, J. C. 1967: Schimmelpilze und Fleischwaren. *Fleischwirtschaft* 47, 1320—1326.
- Mossel, D. A. A. 1955: The importance of the bacteriological condition of ingredients used as minor components in some canned meat products. *Ann. Inst. Pasteur Lille* 7, 171—178.
- Mossel, D. A. A., Visser, M. and Mengerink, W. H. J. 1962: A comparison of media for the enumeration of moulds and yeasts in foods and beverages. *Labor. Practice* 11 February.
- Pohja, M. S. 1957: Vergleichende Untersuchungen über den Mikrobengehalt fester und flüssiger Gewürze. *Fleischwirtschaft* 9, 547—549.
- Raper, K. B., Fennell, D. I. and Austwick, P. K. 1965: *The Genus Aspergillus*. Williams and Wilkins Company, Baltimore.
- Schönberg, F. 1955: Die Bedeutung keimfreier bzw. keimarmer Naturgewürze für die Erzielung einwandfreier Rohwurst. *Fleischwirtschaft* 7, 243—244.
- Schönberg, F. 1959: Zum Wert der Untersuchung von Gewürzen auf proteolytische Keime mit Hilfe des Calcium-Casein-Pepton-Agars und gleichzeitig zur Prüfung der Frage des Einflusses der Temperatur auf das Wachstum der in Gewürzen vorkommenden Bazillen. *Arch. Lebensmittelhyg.* 10, 281—282.

- Schönberg, F. 1962: Zur Verwendung von Gewürzessenzen aus Naturgewürzen für die Herstellung von Fleischwaren. Fleischwirtschaft 14, 272—273.
- Senser, F. 1967: Vorkommen und Bestimmung toxinbildender Schimmelpilze der Gruppe *Aspergillus flavus*. Dt. Lebensm. Rdsch. 63, 140—144.
- Townsend, R. J. 1967: Toxic moulds and their metabolites. Int. Biodetn. Bill. 3, 47—58.
- Walz, E. 1956: Ein eindrucksvolles Beispiel von Verkeimung (Bazillen- und Schimmelpilzbe- fall) in der Fleischwirtschaft verwendeter Gewürze. Arch. Lebensmittelhyg. 7, 138—143.
- Weiser, H. H. 1962: Practical food microbiology and technology. The Avi Publishing Company, Westport, Connecticut.
- Westerdijk, J. 1949: The concept »association» in mycology. Antonie van Leeuwenhoek, 15, 187.
- Yesair, J and Williams, M. H. 1942: Spice contamination and its control. Food Res. 7, 118—126.