

Hygienische Bedeutung der Verfolgung Proteolytischer Mikroflora in Dosenschinken

JARMILA ZLÁMALOVÁ

Forschungsinstitut für Fleischwirtschaft
Brno, ČSSR

Die Herstellung von Dosenschinken und Halbkonserven ähnlichen Charakters ist bezüglich der Rohstoffqualität, der Arbeitshygiene, der Sanitation von Betriebsräumen, Geräten und Anlagen, die in direkte Berührung mit den Schinken kommen, sehr anspruchsvoll. Gleichfalls wichtig ist auch die Einhaltung der technologischen Verfahren, usw, nicht erst während des Erzeugungsprozesses, sondern schon bei dem Schlachten der Schweine.

Der Grad der oberflächlichen Verunreinigung des Fleisches hängt vor allem von den hygienischen Bedingungen des Betriebes ab. Kontamination geschieht meistens durch Mikrokokken, Sporenbildner und Darmmikroflora. Diese Keime können unter gewissen Bedingungen die Qualität des für die Herstellung von Halbkonserven bestimmten Fleisches ungünstig beeinflussen.

Zu den negativen Beschaffenheiten dieser Mikroflora gehört vor allem ihre enzymatische Aktivität, bezüglich der Herstellung von Halbkonserven, besonders die proteolytische Aktivität und die Gasbildungsfähigkeit. Manche Stämme können sehr aktiv sein, während die Aktivität der anderen hinsichtlich der Fleischverarbeitung völlig bedeutungslos ist. Dies bedeutet, dass die Bestimmung der Keimzahl nur zur Orientierung bezüglich der Fleischkontamination dienen kann; aber für die hygienische Bewertung der untersuchten Proben ist sie nicht ausreichend.

Die Mehrheit der Fleischmikroflora besitzt eine grosse Adaptierungsfähigkeit bezüglich der Umwelttemperatur und des Substrats und gerade diese Tatsache spielt ihre Rolle in der Frage der Haltbarkeit von Halbkonserven. Es ist bekannt, dass einige dieser Keime normalerweise die Pasteurisationstemperaturen bei der Schinkenherstellung überleben. Da auch in den besten Betriebsbedingungen eine gewisse Fleischkontamination nicht vermieden werden kann, besteht nun das Problem, inwieweit bei den überlebenden Mikroorganismen die Vermehrung und andere physiologische Gänge, besonders die proteolytische Aktivität durch Wärmebearbeitung beeinflusst werden können.

Die Aktivität der Bakterienproteasen hängt hauptsächlich nicht von der

Temperatur des Mediums ab (1, 2, 3), aber man spricht von einem gewissen Zusammenhang zwischen der Proteolytischen Aktivität, der Salzkonzentration und pH-Wert (4). Vom Standpunkt der Haltbarkeit von Dosenschinken ist die Frage der Proteaseninaktivierung durch Wärme von besonderer Wichtigkeit. Die Wirksamkeit der einmal schon entstandenen Proteasen hat einen viel breiteren Temperaturbereich im Vergleich zum Wachstumsoptimum der Mikroben, d.h. dass die Proteasen mehr thermoresistent und auch bei Kühlraumtemperaturen aktiv sind. Dadurch können die oft vorkommenden grossen Unterschiede zwischen dem bakteriologischen Befund (z.B. geringe Keimzahl) und dem organoleptischen Bewerten (z.B. Verderbnis, fäulnis) erklärt werden. Wenn ein Nahrungsmittel mit hoher Keimzahl erhitzt wird, wird die Mikrobenzahl reduziert, aber die thermoresistenten Proteasen werden nicht inaktiviert. In diesen Fällen können natürlich Proteolyten nicht ermittelt werden, denn zur Zonenbildung auf geeigneten bakteriologischen Nährmedien ist zuerst die Bildung einer Kolonie notwendig (1). Proteolytische Aktivität der die Pasteurisation überlebenden Keime ist nach dem Erhitzen unterschiedlich, in Übereinstimmung mit dem Stamm und dem Nährmedium, worauf die Aktivität verfolgt wird (5).

Das Studium der Mikrobenquantität gibt eine Voraussetzung für die Beurteilung der Haltbarkeit von Fleisch und Fleischwaren. Das Studium der Aktivität und Resistenz des proteolytischen mikrobiellen Enzyms bei Kühlraum- und Fleischverarbeitungstemperatur könnte näher die Ursachen der Bombagenentstehung, event. der unspezifischen Lebensmittelvergiftungen erläutern (3,5).

In dieser Arbeit wurde die proteolytische Mikroflora im Fleisch aus Schweinekeulen und -schultern im Verlauf des technologischen Herstellungsverfahrens und in fertigen Dosenschinken verfolgt.

METHODIK

Die Proben zur bakteriologischen Untersuchung wurden vom Muskelfleisch bei dem Entbeinen von Schweinekeulen und -schultern, vom Fleisch von dem Verschliessen in Dosen und von fertigen pasteurisierten Produkten (Dosenschinken) entnommen. Die Muskelfleischproben, Einwaage ungefähr 1 g, wurden in Reagenzgläsern mit physiologischer Lösung, die Dosen-schinkenproben mit Bouillon im Verhältniss 1:10 übergossen und auf Kolbenhomogenisator homogenisiert. Die Homogenisierungsdauer betrug 30 Sekunden bei 3.000 U/min. Aus dem Homogenat wurden noch weitere Verdünnungen nach der vorausgesetzten Verunreinigung dargestellt, uzw. bei Proben von dem Entbeinen und vor der Pasteurisation bis 10^{-6} , bei Endprodukten 10^{-2} . In die Petri-Schalen oder Reagenzgläser wurden alle Verdünnungen pipettiert.

Ausserdem wurde die Abhängigkeit des Vorkommens der proteolytischen Mikroflora in Dosenschinken von der Keimzahl und der Herstellungsperiode verfolgt; diese Untersuchungen wurden in zwei Betrieben bei allen während sechs Monaten erzeugten Chargen durchgeführt.

Bei allen Proben wurde die Gesamtkeimzahl auf Nähragar mit Laktose, thermostabile anaerobe Mikroflora auf Leberagar, gasbildende Mikroflora in Leberbouillon, Gelatine-verflüssigende Mikroflora am Gelatine-Boden und proteolytische Mikroflora auf Kalzium-Kaseinatagar festgestellt.

Die Gesamtkeimzahl und die Zahl der anaeroben thermoresistenten Mikroflora ist in den Ergebnissen auf 1 Gramm der untersuchten Probe umgerechnet. Die gasbildende, Gelatine-verflüssigende und proteolytische Mikroflora wurde nach der positiven Reaktion in höchster Verdünnung folgend ausgewertet: 1 = positiv nur in der Verdünnung 1:10, 10 = positiv in Verdünnung 1:100, 100 = positiv in Verdünnung 1:1000. Dabei haben wir uns bemüht auch die Zahl der positiven Reagenzgläser in bestimmter Verdünnung und auf den Platten die Zahl der positiven Kolonien folgendermassen zum Ausdruck zu bringen: 1 positives Reagenzglas in Verdünnung 1:10 = 1; 2 positive Reagenzgläser in derselben Verdünnung = 2; 3 positive Reagenzgläser in Verdünnung 1:100 = 30 usw. Die Bewertung der Proteolyten wurde folgend durchgeführt: 1 bis 5 Kolonien in Verdünnung 1:10 wurde als 1 bewertet, 6 bis 30 Kolonien als 2 und mehr als 30 Kolonien in derselben Verdünnung als 3. Dasselbe Wachstum in Verdünnung 1:100 wurde mit 10, 20, 30 bezeichnet usw. Wenn auch die genannte Auswertungsart der Ergebnisse nicht üblich ist, für diesen Anwendungszweck war sie ihrer Einfachheit wegen, besonders aber für graphische Darstellung der Ergebnisse, gut geeignet.

ERGEBNISSE

Das mikrobiologische Bild der Schinkenprobe, die während des technologischen Verfahrens verfolgt wurden, stellt die folgende Tabelle dar:

Tabelle 1.

Probe	Keimzahl	Anaerobenzahl	Gelatine		
			gasbildende Mikrof.	verflüssigende Mikr.	Proteolyt.
Schinken beim Entbein.	1,5.10 ⁴	3.10 ³	60	100	50
vor der Pasteur.	6.10 ⁴	8.10 ³	70	100	50
Pasteurisierte Schinken	2.10 ²	3.10	0,5	0,9	0,5

Bei der Verfolgung der Qualität der Aerober im Verlauf der Schinkenherstellung konnte die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die Zahl beim Entbeinen Fleisch anwesende Keime während der weiteren Verarbeitung noch um eine bis zwei Ordnungen erhöht wird. Der Aufstieg der Anaerobier ist im Vergleich zum Aeroberaufstieg im Grunde unbedeutend.

Während der technologischen Bearbeitung von Schinken kommt es aber zur wesentlichen Steigerung proteolytischer Aktivität der Mikrobe, die erst durch Pasteurisation reduziert wird. Bei gründlichem Studium der Proteolyten im frischen Schweinefleisch wurde bewiesen, dass in einigen Fleischproben beim Entbeinen Mikroflora mit hoher Aktivität vorkam, in anderen dagegen ist es überhaupt nicht gelungen proteolytische Mikroflora zu ermitteln. Der Aufstieg der Gesamtkeimzahl während des Schinkenherstellungsverfahrens beeinflusst nur unwesentlich die Proteolytenquantität in Schweinekeulen. Allerdings die Erhöhung ihrer Aktivität, beeinflusst die Qualität und Haltbarkeit des Endproduktes.

Zur proteolytischen Mikroflora können auch die Gelatine-verflüssigenden Keime gezählt werden. Durch Pasteurisation werden diese Keime zumeist vernichtet, bei den überlebenden wird die enzymatische Aktivität reduziert. Bei der Anwesenheit einer grossen Menge Gelatine-verflüssigender und proteolytischer Mikroflora in Schinken vor der Pasteurisation besteht eine geringe Voraussetzung für Devitalisation oder völlige Inaktivierung.

In der folgenden Tabelle wird der Zusammenhang zwischen dem Proteolytenvorkommen in Keulen beim Entbeinen und in pasteurisierten Schinken dargestellt:

Tabelle 2.

Probe	Versuch Nummer					
	I	II	III	IV	V	
frische Keule	50	100	15	0	75	Aktivität der Proteolyten
pasteur.Schinken	0,1	0,9	0	0	0,3	

Wenn die höchste proteolytische Aktivität der Mikroben in Dosenschinken 1 beträgt, d.h. alle Platten in Verdünnung 1:10 sind positiv, ist es anzunehmen, dass bei dieser Ware eine hohe Wahrscheinlichkeit der Bombagenentstehung besteht, falls noch obendrein die Schinken in für die Entwicklung proteolytischer Mikroflora günstige Bedingungen kommen und gleichzeitig auch die Gesamtkeimzahl hoch ist.

Aus diesen Erkenntnissen geht hervor, dass die Verfolgung proteo-

lytischer Mikroflora in Fleischwaren von grosser hygienischer Bedeutung sei. Durch diese Methode kann die Genauigkeit der Haltbarkeitskontrolle bei pasteurisierter Ware erhöht werden.

Um diese Voraussetzung beweisen zu können, wurde die Häufigkeit des Vorkommens von Proteolyten in einer ganzen Reihe von Dosenschinken verfolgt. Ausserdem wurde bei diesen Produkten auch der Zusammenhang zwischen der Keimzahl und der Proteolyten, der Gelatine-verflüssigenden Mikroflora und der gasbildenden Mikroflora verfolgt. Die Ergebnisse in der Tabelle werden nach den Monaten der Untersuchungen präsentiert.

Tabelle 3.

Monat	Proben Zahl	durchschnitt. Keimzahl in 1 g Probe	Prozente positiver Proben		
			Gelatine	Kasein	Leberbouillon (Gasbildung)
I	41	60	0	10	15
II	34	90	70	10	15
III	40	100	30	45	10
IV	31	220	35	25	20
V	40	250	45	15	25
VI	26	400	55	35	20

Proteolytische Aktivität nach dem Wachstum auf Petri-Schalen in Verdünnung 1:10 wurde in einzelnen Monaten bei Dosenschinken folgend ausgewertet:

I. — 0 bis 0,1	IV. — 0,2 bis 0,6
II. — 0 bis 0,1	V. — 0 bis 0,2
III. — 0 bis 0,1	VI. — 0 bis 0,2

Aus dem Erwähnten erfolgt, dass die Anwesenheit proteolytischer Mikroflora in Dosenschinken nicht ausgeschlossen werden kann. Die Häufigkeit des Vorkommens war in den Wintermonaten geringer als in der wärmeren Periode. Die Aktivität nach dem obengenannten Schema betrug in Wintermonaten 0 bis 0,1, was in positiven Fällen Anwesenheit etlicher Proteolyten in Verdünnung 1:10 darstellt; in der wärmeren Periode war die Aktivität höher (bis 0,2). Der höchste Aufstieg der Aktivität wurde im April festgestellt (bis 0,6).

Die Prozente des Vorkommens der Gelatine-verflüssigenden Mikroflora sind in keinem Zusammenhang mit dem Vorkommen der Proteolyten. Wir sind zur Schlussfolgerung gekommen, dass für die Bestimmung der Zahl oder der Aktivität dieser Keime in Dosenschinken die Anwendung von Gelatine

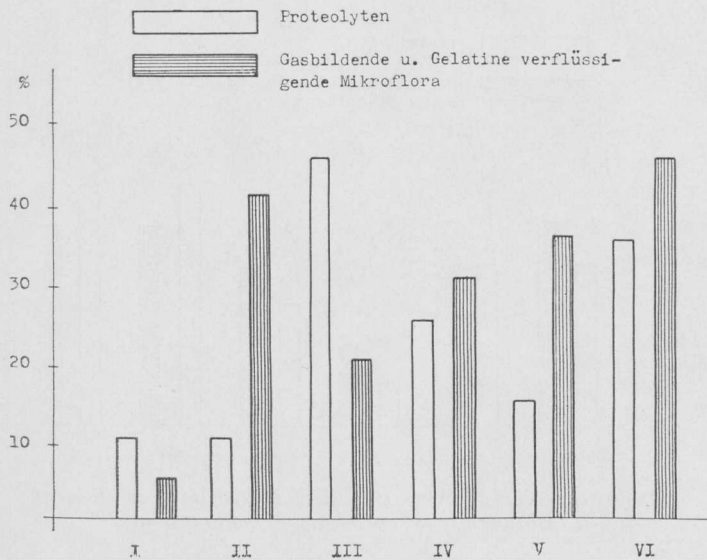


Diagram Nr. 1. Aktivität der Mikroflora in einzelnen Monaten.

Boden in Reagenzgläsern mit Inkubation bei 37° C nicht günstig sei, denn bei dieser Temperatur wird die Gelatine zum Vermehrungsboden.

Das prozentuelle Vorkommen der gasbildenden Mikroflora war nicht in beweiskräftigem Zusammenhang mit der Jahreszeit. Die proteolytische Aktivität und die Aktivität der Gelatine-verflüssigenden Mikroben nebst der gasbildenden Mikroflora nach dem Vorkommen in einzelnen Monaten stellt das Diagramm Nr. 1 dar.

Bei gründlicherem Studium wurde eine gewisse Abhängigkeit des prozentuellen Vorkommens der Proteolyten in Dosenschinken von einzelnen Wochentagen bezüglich der Herstellung festgestellt. Derselbe Schluss erfolgt auch aus der Bewertung des prozentuellen Vorkommens der Gelatine-verflüssigenden und gasbildenden Mikroflora, während die Gesamtkeimzahl ordnungsgemäss unverändert blieb.

Die prozentuellen Befunde der aktiven Mikroflora in Dosenschinken gleichzeitig mit den Durchschnittswerten der Keimzahl demonstriert kurz die Tabelle Nr. 4 und das Diagramm Nr. 2.

Aus der angeführten Tabelle und dem Diagramm ist ersichtlich, dass die Anwesenheit aktiver Mikroflora von der mikrobiologischen Verunreinigung der Schinken vor der Pasteurisation abhängt und dass zumeist durch Pasteurisationstemperatur ungünstige Einfluss der vor der Wärmebearbeitung entstandenen Kontamination nicht ausgeglichen werden kann. Besonders die Befunde der proteolytischen Mikroflora mit ihrem Aufstieg gegen Wochen-

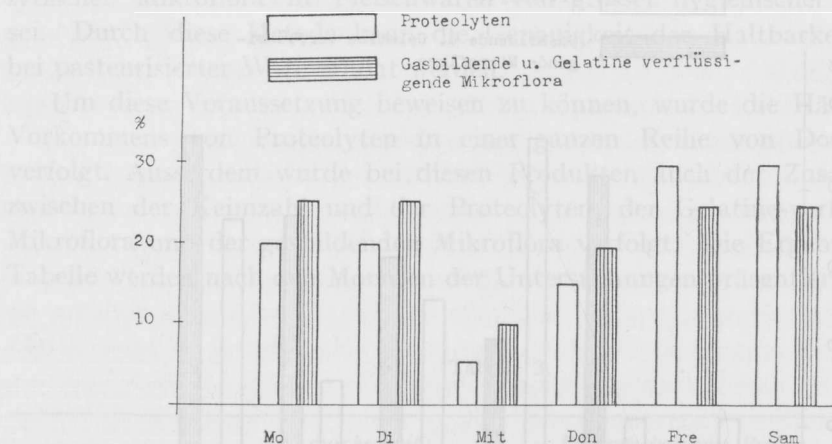


Diagram Nr. 2. Aktivität der Mikroflora in Dosenschinken von einzelnen Wochentagen.

Tabelle 4.

Tag der Herstellung	Mo	Di	Mit	Don	Fre	Sam
Proteolyten % des Vorkommens	20	20	5	15	30	30
Aktivität (Gas, Gelatine)	25	25	10	20	25	25
Keimzahl	130	140	140	170	170	250

ende sind beweiskräftig, während bei der gasbildenden und Gelatine-verflüssigenden Mikroflora die Schwankungen nicht so eindeutig sind. Nach den erzielten Ergebnissen kann vorausgesetzt werden, dass die bloße auf Nähragar bestimmte Gesamtkeimzahl keine ausreichende Übersicht hinsichtlich des verarbeiteten Rohmaterials bietet.

SCHLUSSFOLGERUNG

Bei dem Studium des mikrobiologischen Bildes der Schinken im Verlaufe ihrer technologischen Bearbeitung zu Dosenschinken wurde unsere Aufmerksamkeit auf einige Zusammenhänge durch welche eine höhere Genauigkeit der hygienischen Kontrolle und der Qualitätskontrolle des Endproduktes erzielt werden könnte, gerichtet. Die übliche Verfolgung der Gesamtkeimzahl auf Nähragar bei Dosenschinken bewies die Voraussetzung, dass die Qualität und Haltbarkeit der Ware weder von Keimzahl vor der Wärme-

bearbeitung, noch von ihrer Quantität nach der Pasteurisation direkt abhängt. Besser bewertbare Resultate wurden bei der gleichzeitigen Verfolgung der proteolytischen Aktivität der anwesenden Mikroflora nach positiven Reaktionen auf bestimmten Nährmedien erzielt.

Diese Absichtstudie soll als Grundlage für die Auswertung der Befunde bei bakteriologischer Untersuchung von Dosenschinken in üblicher Betriebskontrolle dienen.

LITERATUR

- 1) Kraus H.: Archiv f. die Lebensmittelhyg., 11, S. 90—93 (1960).
- 2) Schönberg F., Könekamp R.: Archiv f. die Lebensmittelhyg., 13, S. 160—162 (1962).
- 3) Schönberg, F., Könekamp R.: Archiv f. die Lebensmittelhyg., 13, S. 58—63 (1962).
- 4) Pohja M. S., Niinivaara F. P.: Die Fleischwirtschaft, 12, S. 932—934 (1960).
- 5) Shugart L. R., Beck R. W.: Journal of Bacteriology, 92, S. 338—341 (1966).