ANWENDUNG ESSBARER ÜBERZÜGE BEI DER AUFBEWAHRUNG DES FLEISCHES

I.Stud ium der mikrobieller Vorgänge

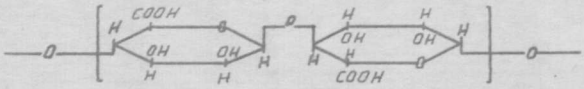
Iw.Stojanow und N.Nestorow

Die Veränderungen in Kohlehydraten, Fetten und Eiweiß, welche post mortem im Fleisch auftereten, werden unter Einwirkung von Fleischenzymen und bakteriellen Stoffwechselproducten hervorgerufen.

Eine Verlängerung der Haltbarkeit des Fleisches, könnte durch Blokierung der eigenen Enzymsysteme und negative Verschiebung der Wachstumsbed ingungen für die vorhandene Mikroflora, durch Einführing von bakterizid , bzw.bakteriostatisch wirkende biologisch aktive Substanzen,(3,13,16,4,29)erreicht werden.

Durch Anwendung von Überzügen (nichtgenießbare Polymere und andere Verpakungsmittel(1,5,8,22,24,6),und genie baren Filmen(7, 10,14,17), konnte nicht nur eine sekundäre Infektion vermieden werden,sondern eine wesentliche Verminderung der Gewichtsverluste während der Aufbewahrung erzielt werden.

Die Entwicklung eines vielseitigen Spektrums von Alginatpräparaten* schuf in jüngster Zeit die Voraussetzungen für ihre breite Anwendung in der Lebensmittelindustrie,als sogenannte essbare Überzüge (26). Das Ziel unserer Arbeit war die Untersuchung der Möglichkeiten zur Verlängerung der Haltbarkeit von Frischfleisch



Alginsäure nach Hirst und Jones 1939

und zugleich durch kombinierte Anwendung von essbarem Überzügen, chemisch und biologisch aktive Substanzen gewichtsverluste zu verringern.

MATERIAL UND METHODIK

Fleischproben: Angewendet wurden M.semimembranosus und M.semitendinosus von 26 mitelstark gemasteten Rindern und Schweinen.

Test-Mikroorganismen: Als Testorganismen dienten reine Kulturen von Schimmelpilzen: Aspergillus niger und Penicillium glaucum von Bakterien: Staph.aureus,E.coli und B.subtilis,die vom Veterinär-bakteriologischen Institut in Sofia zur Verfügung gestellt wurden.

Chemisch und biologisch aktive Substanzen: Bei der Durchführung der Versuche fanden die Nipaester: Progalin A,LA,O,P[1], Vitamin K_5[2], und biologisch aktive Substanzen Nisin[3], und Nispol[4] Anwendung.

Essbare Überzüge: Untersucht wurden die filmbildenden Algiate:ABH,ABHF,SFPH,SP und BR der Firma Protan.*
Die Alginatgele,bzw.Filme wurden nach der Arbeitsmethode der oben erwähnte Firma unter Zusatz von Salzen ($CaSO_4.2H_2O$ oder $CaCl_2$)hergestellt.Zur Beschleunigung der Reaktion wurde auch Glucono Deltalakton zugesetz.

Als bakterizid wirkende Substanz wurde das Antibiotik Nisin, bzw. Nispol in Konzentration 60-80x10^6 Reading Einheiten und Vitamin K_5 250 bis 450 mg/ml.zugefügt.

*Dramen - Norwegen

1.Nipalaboratories Limited,South Wales,Großbritanien

2.1-Hydroxyl-2-methylnaphtalinamonium (4)-chlorid ($C_{11}H_{12}ClNO$)-Merck (500969)

3. Nisin, Firma Alpin & Barett ltd.,Yeovil,Somerset,Gro britanien

4.Nispol. Nisin polnische herstellung

Nipaester (Progalin A,LA,O und P)wurden als Bakteriostatikum und Antioxidans angewendet.

Gut abgerundete Fleischstücke von M.semitendinosus und M.semimemranosus werdwn folgendermaßen behandelt:

A)Die Fleischstücke werden mit Suspensionen der einzelnen Test-Organismen in physiologischer Kochsalzlösung $10-20x10^{-8}$ /mlinfiziert und 30 Minuten später werden sie mit Alginat-Überzüge,denen verschiedene Konzentrationen von Nipaester,Vitamin K5 und Nisin bzw.Nispol zugesetzt wurden überschichtet.

B)Die Fleischstücke werden mit Alginat-Überzügen versehen und 120-150 Minuten nach der Bildung des Schutzfilms werden sie mit Suspensionen der Test-Organismen in physiologischer Kochsalzlösung infizient

C)Die Fleischstücke werden mit Alginat-Überzüge beschichtet und in diesem Zustand weiter aufbewahrt.

D)Die Fleischstücke der erwähnten zwei Muskeln(M.semitendinosus und M.semimemranosus) werden in nativem Zustand aufbewahrt. Alle die nach dem geschilderten Verfahren A,B,C,D behandelten Versuchsproben werden in getrennt bei Temperaturen von 4°,10° und $20^{o}C$ ($\pm 1^{o}C$)bis zu 25 Tagen aufbewahrt und untersucht.

Mikrobiologische Untersuchungen:

Die Fleischproben (5g.)wurden in 45 ml.Peptonwasser 5 Minuten homogenisiert und entsprechende Verdünungen davon auf verschiedene Platten(Blutagar,Mannitol-Agar,Kristallviolett-Galle-Laktose-Agar,Czapek-Dox-Agar)ausgestrichen.Nach 2,5,bzw.,7 Tage bei einer Bebrütung von 10°,20°,25° und $37^{o}C$ wurde die Anzahl von Bakterien und Schimmelpilzen bestimmt.

Sensorische Analyse:

Die sensorischen Bestimmungen wurden mit einem Prüffer-Team

bestehend aus 6 Personen durchgeführt. Als Differenztest wurde Paarweise Unterschiedsprüfung (Paired difference teast)nach Krum, 1955 an aufbewahrte Proben durchgeführt.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Bei der gegenwertigen Arbeit wurde die Möglichkeit zur einer Verminderung der Gewichtsverluste und Verlängerung der Haltbarkeit bei der Aufbewahrung von Frischfleisch überprüft.

Die Einwirkung der genießbarer Überzüge auf den pH, Wert,die Gewichsverluste und den Bakterienwachstum im Fleisch.

Bei diesen Versuchen wurden M.semitendinosus und M.semimembranosus ausschließlich mit genießbare Überzügen wie ABH,ABHF, SFPH,SPH und BR behandelt. Die Alginatfolien aus wasserlöslichen Alginaten sind wasserlöslich,können aber auch unlöslich gemacht werden. Die Alginatfilme werden nach folgende drei Hauptverfahren hergestellt: a)Durch Verdunsten des Wassers eines ausgestrichenes Films entsprechender Alginatlösung(wasserlöslicher Film);
b) Behandlung eines ausgestrichenen Films einer Alginatlösung mit einem Fällungsmittel(wasswrlöslicher F Film)und
c) Durch Extrudieren einer Alginatlösung in einem Fällungsbad, wobei das Alginat ausgefällt wird.Durch diese Methode wird ein wasserunlöslicher Film hergestellt.
Wie aus abb.1 zu ersehen ist,weisen die mit Alginatpräparaten behandelten Fleischproben im Vergleich zur Kontrolle vom Anfang an bis zu 25.Tag eine Verzögerung bei der Erhöhung des pH-Wertes von ca.20-38 % auf.

Die Gewichtsverluste der Fleischproben(M.semimembranosus-Rind)mit und ohne(Kontrolle)genießbarem Überzügen bei 4°,10°, 20°C Aufbewahrung sind aus Abb.2 ersichtlich.

Wie aus Abb.2 abzuleiten ist,weisen die Alginatfilme unterschiedliche Durchläigkeit auf und können entsprechend eingegliedert werden: a)ABH,ABHF bei 4°C,10 und 20°C ergeben die Gevichtsverluste von 0.62-1.86 % und SFPH,SPH,BR bei dennen solche von 0.62-2.4% zu verzeichnen sind.Die Fleischproben die ohne Überzüge aufbewahrt wurden zeigten am 5.bzw.25 Tag bei 4°C Aufbewahrung, Gewichtsverluste von 3.12-9% bzw.3.75-13.30% und bei 20°C 4.38-18.75%.

In einer Versuchsreine konnte die Wachstumsdynamik von einigen Grampositiven und Gram-negativen Testorganismen ($90x10^5$ - $20x10^6$/g) auf M.semitendinosus und M.semimembranosus mit Alginatfilmen beschichtet verfolgt werden.

In Abb.3 ist das Wachstum von Staphylococcus aureus,E.coli und Aspergillus higer auf M.semimembranosus (Rind)mit essbaren Überzgen behandelt und bei 20°C aufbewahrt dargestellt.
Aus der erwähnten Abb.ist zu ersehen,daß sowohl die Grampositiven als auch Gramnegativen Keime bis zum 5.Tag ihr Spitzenwachstum $20x10^8$bis $6x10^7$ erreichen,während am 25.Tag ihre Wachstumskurwe auf 10^4 bzw.10^3 sinkt. Die Entwicklung von Schimmelpilzen,dagegen läuft ungehindert bis zum 20.Tag weiter und weist $50x10^9$/g auf.

Effect von chemisch und biologisch aktive Substanzen auf das Wachstum von Testorganismen.

Da Alginate Kohlenhydratensined,werden sie von Enzymen und Bakterien angegriffen,die eine Fermentierung, Schimmelbildung und Depolymerisation mit sich führen,An Stelle einiger von der Firma Protan empfolener Konservierungsmittel,die durch die Lebensmittelgesetzgebung mancher Länder nicht zugelassen sind,wurden biologisch aktive Substanzen(Nisin,Vitamin K_5)und chemische Verbindun-

gen (Nipaester) in Alginatüberzüge eingeführt.

Die Einwirkung der erwähnet Konservierungssubstanzen bei der Anwendung von Alginatfilmen ist in Abb 4-7 dargestellt. Untersucht wurde die Wachstumsdynamik von Testorganismen: Staph. aureus, E.coli, Aspergillus niger. Der M.semimembranosus wurde mit nisinhaltigem Alginatfilm ABH und ABHF beschichtet und 120-150 Minuten später mit Testorganismen (10-20x10^8/g.) infiziert und bei 20°C aufbewahrt.

Unter Einwirkung des Antibiotikums Nisin (80x10^6 Reading Einheiten), konnte bei allen Testorganismen eine Abnahme der Wachstumskurwe von 10^8/g bis unter 10^5/g beobachtet werden.Durch Aufbewahrung der Proben bei 20°C konnte bei Staph.aureus das Absinken der Keimzahl auf unter 10^5/g schon am 4.Tag; bei E.coli am 14 Tag und bei Aspergillus niger am 19.Tag (Abb.4) festgestellt werden.

In einer weiteren Versuchsgruppe mit den gleichen Alginatüberzügen (ABH,ABHF),wurde als Inhibitor für das Bakterienwachstum Vitamin K_5 in Konzentrationen von 250-450 ug/ml.eingeführt.Unter der Einwirkung des Vit.K_5 mit 320 ug/ml. im Alginatfilm wurde ein Absinken der Wachstumskurve auf unter 10^5/g erziehlt, wobei Staph.aureus diesen Status am 5.Tag; E.coli am 14.Tagerreichen konnte.Dagegen, zeigte Aspergillus niger nach 25 tägige Aufbewahrung der Probe noch eine Keimzahl von 10^6/g (Abb.5).

Um parallel mit dem antibakteriellen Effekt, bei der Aufbewahrung der Proben von 20°C eine antioxidative Einwirkung erzielen zu können, wurden in einer Versuchsreihe die kombinierte Wirkung von Alginatüberzügen und Nipaester (Progalin A 0.01%, LA 0.01%, 0.01%,P 0.05%)Abb.6,bzw.letztere mit Vitamin K_5(Abb.7),überprüft.

Die Kombination Alginatüberzüge, Nisin, Nipaester bewirkt eine Abnahme des Wachstums von Staphylococcus aureus schom bei 72

Std.;E.coli am 7.Tag;Aspergillus niger am 13.Tag (Abb.6).

Bei einem Austausch von Nisin mit Vitamin K_5, resultiert dagegen eine Verzögerung der Abnahme der Wachstumskurve und ergibt Keimzahlwerte von unter 10^5/g für Staph.aureus am. 4.Tag;E.coli am 13.Tag und Aspergillus niger am 21.Tag post mortem.

Geschmacksveränderungen bei der Anwendung von essbaren Überzügen.

Aus Tab.1 sind die Ergebnisse der geschmacklichen Bestimmungen von Proben der M.semimembranosus mit genießbaren Überzügen die biologisch aktive Substanzen (Nisin und Vit.K_5) und Antioxidanten (Nipaester) enthalten.ersichtlich.Bei der Auswertung des Geschmackes des Fleisches konnten Differenzen zwischen unterschiedlich behandelten Versuchsproben ermittelt werden, wobei die höhe Signifikanz, besonders bei den Versuchen mit Alginatüberzügen ABHF,Nisin und Nipaester am 25.Tag p.m.festzustellen war.

Dagegen konnten bei der Beurteilung von Fleischbrühen keine nennenswerten Unterschiede beobachtet werden.

Die Ergebnisse der durchgeführte Versuche haben bewiesen, daß ähnlich, wie in der Fischverarbeitung (7,10,14,17),die Alginat Überzüge auch in der Fleischverarbeitung bei der Aufbewahrung von Fleisch und Fleischerzeugnisse (21) angewendet werden können.

Die reiner Alginatfilme (wasserlöslich und unlöslich)allein stellen keinesfahls einen ausreichenden effektiven Schutz, gegenüber der Einwirkung von Mikroorganismen und ihren Stoffwechselproducten dar,Abb Der inhibitore (gegenüber Test-organismen) Effekt von Vit. K_5 das in einem genießbaren Film besonders in einer Konzentration von 300-450µg ml.enthalten ist, wird durch Untersuchungen anderer Autoren bestätigt, (19,11,28).

TABELLE 1.

Sensorische Analyse von Rindfleisch (M.semimembranosus und M.semitendinosus) mit und ohne essbarem Überzügen und bakterizid wirkende Substanzen bei 20°C aufbewahrt.

Überzüge und Biostat.	Aufbewahr. (Tage)	Proben			
		Fleisch		Brühe	
		Auswertung	Signif.*	Auswertung	Signif.**
ABHF Nisin	0 - 25	17:10	0	22:11	0
- " -	- " -	7:21	x	18:10	0
- " -	- " -	0:21	xx	14:7	0
ABHF Vit.K_5	0 - 25	8:12	0	16:9	o
- " -	- " -	6:18	x	10:5	0
- " -	- " -	0:18	xx	12:14	0
ABHF Nisin+ Nipaester	0 - 25	1:10	x	12:7	0
	- " -	2:18	x	10:6	0
	- " -	0:21	xx	16:14	0
Kontrolle (ohne Überz. und bakteriz. Substanz.)	0 - 25	3:15	0	6:12	0
		10:11	0	18:5	0
		7:14	0	3:14	0

xx=P 0.001
x=P 0.01
0=P 0.05

Die im Vergleich zu Vitamin K_5 erhaltenen Ergebnisse mit Nisin, das als bakterizid wirkende Komponente in Alginat Überzügen zugesetzt wird beweisen den höheren bakterizide Effekt dieses

Antibiotikums, (3,2). Die kombinierte Anwendung von Nipaester, Nisin und Vitamin K_5 ergab mit Begründung (20) erwartete ermutigende Resultate.

Literatur:

1. Alm, F., Erichsen, J. and Molin, N. (1961) Fd. Technol. Champaign 15, 199
2. Barnes, E.M. (1955) J. appl. Bacteriol. 18, 549
3. Campbell, L.L., and R.T. O'Brien, (1955) Fd. Technol. 9, 461
4. Campbell, L.L. et al. (1955) Food Technol. 13, 462
5. Cavett, J.J. (1962) J. appl. Bacteriol. 25, 282
6. Gardner, G.A. (1968) J. appl. Bacteriol. 31, 462
7. Helgerud, O. (1954) Kältetechnik 6, 7, 190
8. Ingram, M. (1960) J. appl. Bacteriol. 23, 205
9. Karplyuk, J.A. (1962) Gigiena i Sanit. 27, 12, 34
10. Konokotin, G.S. u. Zuikowa, L.O. (1960) II F. Tagung, Komm. 4 Marseille 1960
11. Kowalski, S. (1952) Polska Akad. Umiejetnosci Rozprawy Wydz. Lekar 12, 1
12. Krum, J.K. (1955) Food Eng. 27, 7, 74
13. Lück, H. und E. Rickel (1959) Z. Lebensm. Unters. Forsch. 109, 322
14. v. Mameren, J (1956) Arch. f. Lebensmit. Hyg. 7, 13, 168
15. Merrifield, L. and H.Y. Yang (1965) Appl. Mikrobiol. 13, 5, 766
16. O'Brien, R.T. et al. (1956) Food Technol. 10, 352
17. Pawlow, E.G. (1956) Ryb. Choz., Moskva 32, 6, 73
18. Pratt, R. et. al. (1950) J. Am. Pharm. Soc. Sci. Ed. 39, 127
19. Sabalitschka, Th. (1965) Seifen, Öle-Fette-Wachse 15, 21, 7
20. Stojanow, Iw. und N. Nestorow (1968), INRA, Sofia Patent 9418v. 15.2. 1968
21. Shank, J.L. and Lundquist, B.R. (1963) Fd. Technol, Champaigen 17, 1163
22. Somogyi, J.L. and H. Kunding (1961) Z. Vitamin Forsch. 31, 221
23. Spenser, R. (1967) Research Rep. No136 B.F.M.I.R.A. Leatherhead Surrey
24. Stuckey, B.N. and C.E. Osborne (1965) J. Am. Oil. Chem. Soc. 42, 3, 228
25. Szeitli, J. (1966) Die Nahrung 10, 509
26. Tonge, R.J. et al. (1964) J. appl. Bacteriol. 27, 252
27. Verona, O (1953) Agr. Ital. (Pisa) 8, 120
28. Wyss, O. (1948) Adv. Fd. Res. 1, 373

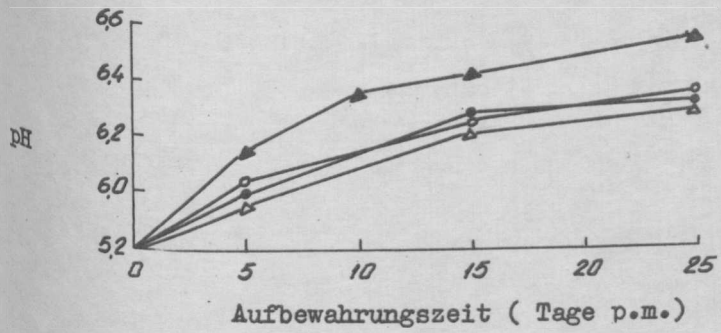


Abb.1 Veränderungen der pH Wert im M.semimembranosus (Rind) , während Aufbewahrung bei 20° in natürlichem Zustand (1) ; und mit essbarer Überzüge : ABH , ABHF (2) ; SFPH , SPH (3) ; und BR (4).

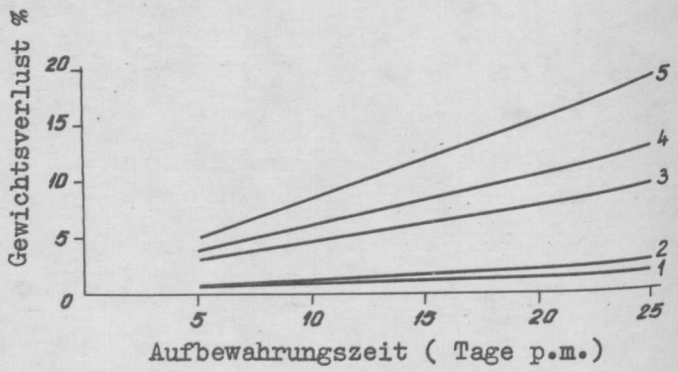


Abb.2 Gewichtsverluste (in %) von M.semimembranosus- Rind mit essbarem Überzügen : ABH , ABHF (1) ; SFPH , SPH , BR (2) bei 4°, 10°, 20° und Kontrolle bei 4°C (3) ; bei 10°C (4) und bei 20°C (5) Aufbewahrung

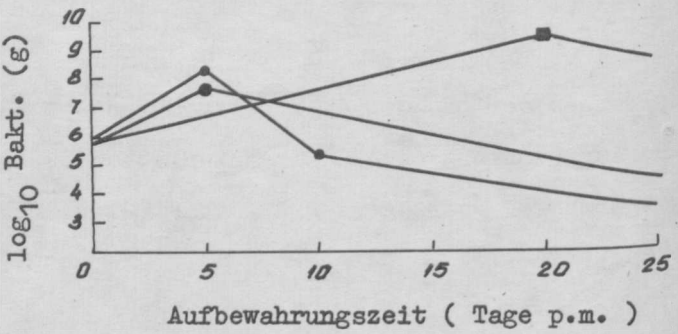


Abb.3 Wachstumsdynamik von Staph.aureus (o) ; E.coli (o) und Aspergillus niger ( ) auf M.semimembranosus (Rind) mit essbaren Überzügen behandelt und bei 20°C aufbewahrt.

Abb.4

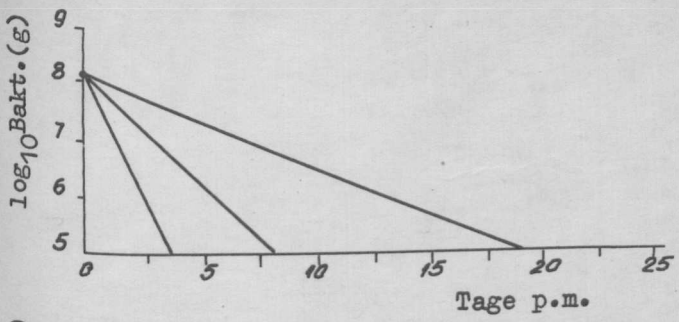


Abb.5

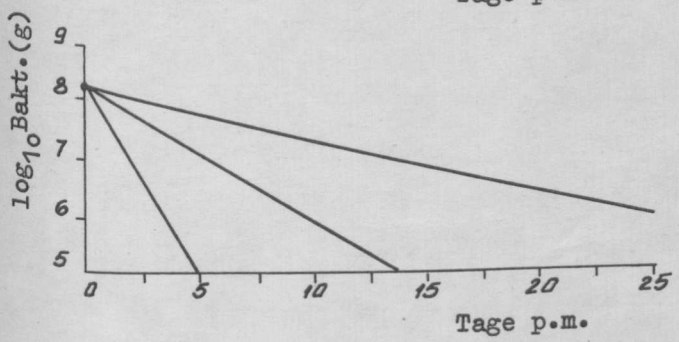


Abb.6

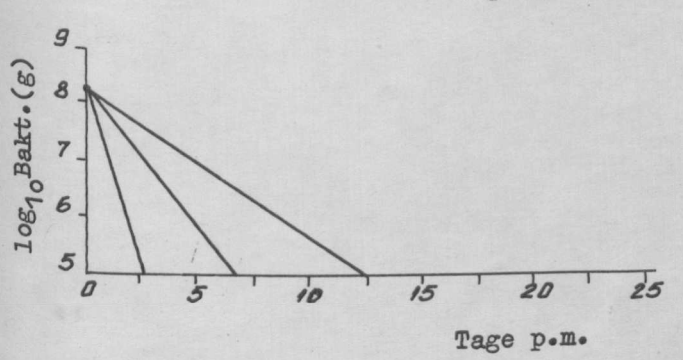
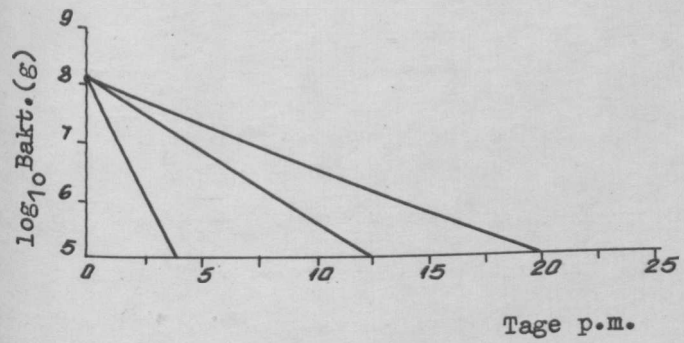


Abb.7



Wachstum von Testorganismen:a) Staph.aureus; b) E.coli; c) Aspergillus niger auf M.semimembranosus (Rind) mit essbarem Überzugen: ABH, ABHF, SFP, BR, Nisin, Vitamin K_5, Nipaester (Progalin A, LA, O, P) behandelt.