

NITRITES AND NITROSAMINES IN PROCESSED MEATS

SESSION G - MICROBIOLOGY

L. L e i s t n e r

Bundesanstalt für Fleischforschung, Kulmbach
Bundesrepublik Deutschland

In der Sektion G liegen fünf Beiträge vor, von denen nur einige mit der Wirkung von Nitrit auf Mikroorganismen im Zusammenhang stehen. Zunächst seien die Beiträge behandelt, die keinen direkten Bezug zum Nitrit-Problem in Fleischwaren haben, sondern mikrobiologische Fragen behandeln, die in anderer Hinsicht für die Fleischforschung von Interesse sind.

Tabelle 1: Von ZYSS und STRATILATOWA, Sowjet-Union, wird ein Nährboden zum Nachweis von Clostridium perfringens in Fleisch und Fleischwaren beschrieben. Die meisten Nährmedien, die früher zum Nachweis von Clostridium perfringens verwendet wurden, waren nicht ausreichend selektiv. Das trifft auch für den Sulfit-Polymyxin-Neomycin-Agar zu, der von MARSHALL, STEENBERGEN und McCLUNG (Appl. Microbiol. 13, 559, 1965) vorgeschlagen wurde, und zwar soweit es die Abgrenzung anderer Clostridien-Arten von C. perfringens betrifft. ZYSS und STRATILATOWA ersetzten die Antibiotika Polymyxin und Neomycin, die in dem Nährmedium von MARSHALL et al. verwendet werden, durch D-Cycloserin, das ebenfalls ein Antibiotikum ist. Als Basal-Medium verwendeten ZYSS und STRATILATOWA Casein-Hefe-Agar eigener Herstellung, dem Eisensulfat-Lösung und Natriumsulfid-Lösung zugesetzt wurden sowie D-Cycloserin in Konzentrationen von 200 bis 600 µg/ml. Die Auswertung der beimpften Nährmedien erfolgte nach acht bis 12 Stunden Bebrütung bei 46 °C. Wie die Tabelle 1 zeigt, hat sich dabei ein D-Cycloserin-Zusatz von 400 µg/ml bewährt, da bei dieser Konzentration C. perfringens Typ A nur wenig, andere Clostridien-Arten jedoch deutlich gehemmt werden. Fakultativ anaerobe Mikroorganismen sind durch Cycloserin ebenfalls ausgeschaltet worden. Mit dieser Arbeit konnten ZYSS und STRATILATOWA die Ergebnisse von HARMON, KAUTTER und PEELER (Appl. Microbiol. 22, 688, 1971) sowie von HAUSCHILD et al. (Appl. Microbiol. 27, 78, 521, 527, 1974) weit-

Table 1: Effect of concentration of D-cycloserine on per cent recovery of clostridia in sulfite-polymyxin-neomycin-agar (SPN) and D-cycloserine-agar (SZS)

Species	S Z S (TSC*)					S P N (TSN**) polymyxin (200 E/ml) neomycin (500 E/ml)
	D-cycloserine concentration in µg/ml					
	200	300	400	500	600	
1. <i>C. perfringens</i> type A isolated from meats	100	100	100	84	54	100
2. <i>C. perfringens</i> type A other sources	100	100	74	63	-	100
3. <i>C. botulinum</i> type A, B, E, F	100	77	44	-	-	100
4. <i>C. sporogenes</i>	100	100	48	-	-	100
5. <i>C. bifermentans</i>	100	100	62	-	-	100
average of 3, 4 and 5	100	92	51	-	-	100

* HARMON, KAUTTER and PEELER (1971)

** MARSHALL, STEENBERGEN and McCLUNG (1965)

gehend bestätigen. Der von HARMON und Mitarbeitern (1971) empfohlene Tryptose-Sulfite-Cycloserine-Agar enthält noch Eigelb, wodurch das Medium noch besser indikativ werden soll, während HAUSCHILD und Mitarbeiter (1974) den Zusatz von Eigelb zu Tryptose-Sulfite-Cycloserine-Agar nicht empfehlen. Als Bebrütungstemperatur wird sowohl von HARMON et al. (1971), als auch von HAUSCHILD et al. (1974) 35 bis 37 °C angewandt.

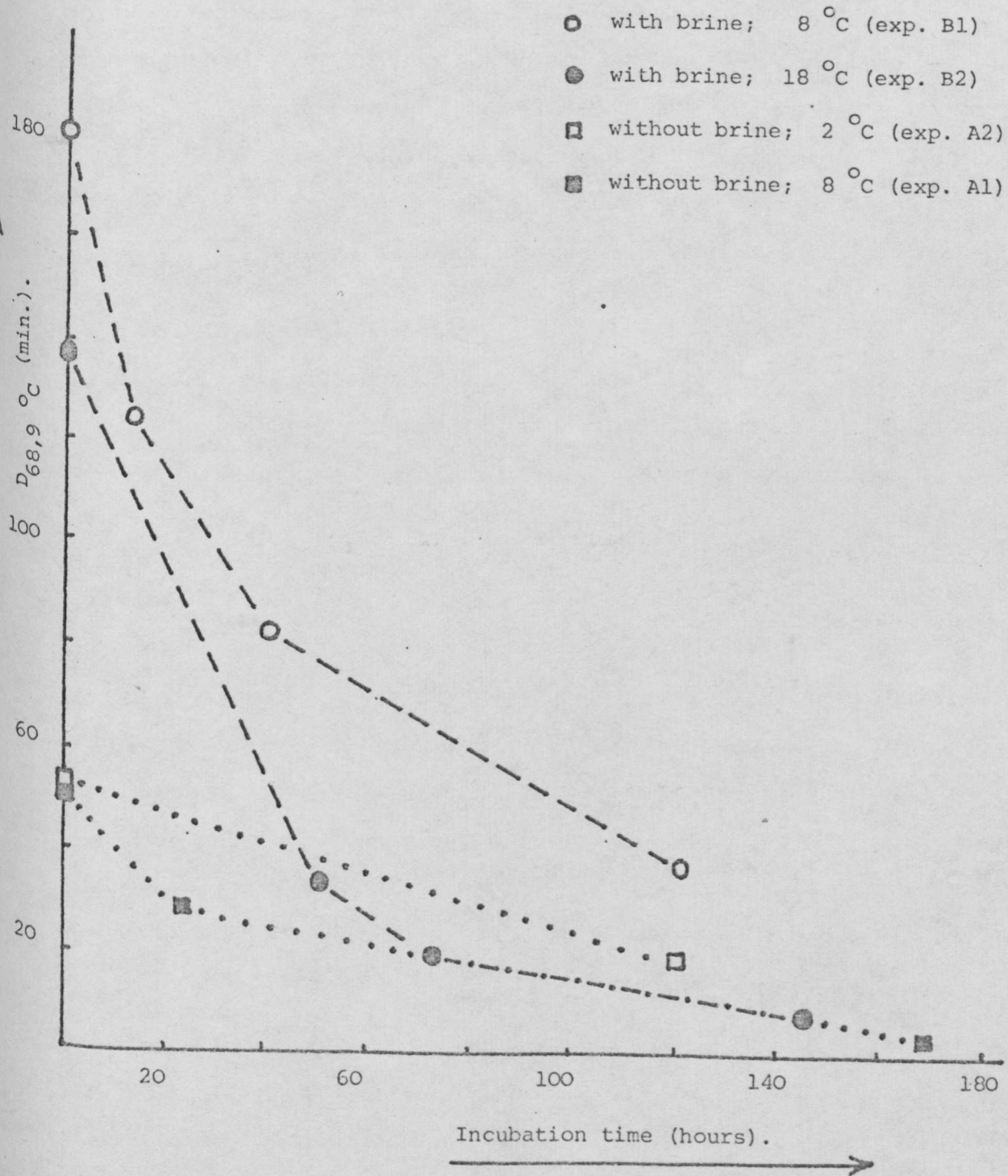
Allgemein kann man aus den Ergebnissen verschiedener Autoren, einschließlich der vorliegenden Arbeit von ZYSS und STRATILATOWA (1974), folgern, daß Sulfite-Cycloserin-Agar für den Nachweis von C. perfringens in Fleisch und Fleischwaren gut geeignet ist.

Tabelle 2: Von HOUBEN, Niederlande, ist die Hitzeresistenz von Enterokokken in Schweinefleisch-Suspension untersucht worden. Bei dieser Untersuchung wurden Enterokokken aus Fleisch-Halbkonserven isoliert, und drei Stämme von Streptococcus faecium sind in einer Schweinefleisch-Suspension auf ihre Hitzeresistenz geprüft worden. Die Hitzeresistenz der Enterokokken, d. h. deren D-Werte, wurde bei einer Temperatur von 68,9 °C (156 °F) ermittelt. Vor der Erhitzung sind die Enterokokken-Stämme bei 2 oder 8 oder 18 °C bis zu acht Tagen in der Schweinefleisch-Suspension bebrütet worden. Dabei trat bei 2 und 8 °C keine oder nur eine geringe Vermehrung der Enterokokken auf, während die Vermehrung bei 18 °C deutlich war. In manchen Ansätzen ist zu der Schweinefleisch-Suspension Spritzpökellake zugesetzt worden, die u. a. Kochsalz, Polyphosphat, Dextrose und Nitrit enthielt.

HOUBEN beobachtete, daß die Hitzeresistenz der Enterokokken in Gegenwart von Lake, d. h. von Salzen, bedeutend höher war als in der Schweinefleisch-Suspension ohne Lakezusatz (Tabelle 2). Das bestätigt das Ergebnis der Untersuchung von VRCHLABSKÝ und LEISTNER (1970), die in Gegenwart von Kochsalz eine maximale Hitzeresistenz von Enterokokken bei einem a_w -Wert von 0.95 ermittelten. Der a_w -Wert der Schweinefleisch-Suspension mit Lake, wie sie von HOUBEN verwendet wurde, beträgt nach unserer Berechnung etwa 0.97. Möglicherweise haben darin die Enterokokken noch nicht ihre maximale Hitzeresistenz erreicht.

J. H. HOUBEN, The Netherlands

Table 2: Decline of the $D_{68,9}^{\circ C}$ - value during incubation



Interessant ist die Beobachtung von HOUBEN, daß sich die Hitzeresistenz von Enterokokken vermindert, wenn sie vor der Erhitzung einige Zeit in einer Schweinefleisch-Suspension gehalten werden. Diese Verminderung der Hitzeresistenz der Enterokokken trat auch in Schweinefleisch-Suspension ohne Lake auf, war jedoch in Gegenwart von Lake deutlicher (Tabelle 2). Die Ursache der stark abnehmenden Hitzeresistenz der Enterokokken in Gegenwart von Lake konnte vom Autor noch nicht geklärt werden. HOUBEN vermutet jedoch, daß die Phosphate in der Lake wesentlich zur Herabsetzung der Hitzeresistenz beitragen. Auch andere Autoren haben beobachtet, daß die Hitzeresistenz von Mikroorganismen abnimmt, wenn sie in Gegenwart von Fleisch mit einem Zusatz von Phosphaten erhitzt werden.

Da die Schweinefleisch-Suspension mit Lake einen Zusatz von 120 ppm Natriumnitrit enthielt, sollte auch geprüft werden, inwieweit das Nitrit zur Verminderung der Hitzeresistenz der Enterokokken beitragen kann, denn eine Nitrit-Konzentration von 120 ppm wirkt bei niedriger Bebrütungstemperatur bakteriostatisch gegenüber zahlreichen Mikroorganismen.

Für die Praxis könnte es aufgrund der Ergebnisse von HOUBEN von Vorteil sein, mit Lake gespritzte Schinken vor der Erhitzung mehrere Tage bei niedriger Temperatur zu lagern, denn dadurch könnte sich die Hitzeresistenz der Enterokokken vermindern. Bei dem traditionellen Verfahren zur Dosenschinken-Herstellung wirkten die Pökelsalze etwa eine Woche auf das Fleisch ein. Bei der modernen Methodik zur Kochschinken-Herstellung nach dem Tumbler-Verfahren kann allerdings die Lake nur noch ein bis zwei Tage einwirken, und daher könnte die Hitzeeinwirkung von Enterokokken in mit dem Tumbler behandelten Schinken höher sein.

Tabelle 3: GORBATOV, MIKHAILOVA, MAROUSHKINA, MIKHAILOVA und LOUDANOVA, Sowjet-Union, untersuchten den Einfluß einer Starterkultur auf die chemischen und organoleptischen Eigenschaften von "Vetchina" Dosenschinken, hergestellt mit einem technologischen Schnellverfahren.

Im Allunions-Forschungsinstitut für Fleisch wurde eine Starterkultur für Kochschinken entwickelt, die aufgrund biochemischer Merkmale ausgewählte Stämme von Streptococcus lactis, Lactobacillus plantarum, Micrococcus caseolyticus, Micrococcus varians und Achromobacter guttatus enthält. Es wurde von den Autoren geprüft, inwieweit diese Starterkultur Farbe, Geruch, Geschmack und Konsistenz von Kochschinken verbessert, die mit einem neuen Schnellverfahren hergestellt wurden. Bei diesem Schnellverfahren werden die Schinken in der geschlossenen Dose gepökelt, gereift und gekocht.

V. W. GORBATOV, A. E. MIKHAILOVA, V. I. MAROUSHKINA, M. M. MIKHAILOVA,
N. V. LOUDANOVA, Soviet-Union

Table 3: "Vetchina" canned ham production with starter culture

<u>Starter culture:</u>	<u>Streptococcus lactis</u> , <u>Lactobacillus plantarum</u> , <u>Micrococcus caseolyticus</u> , <u>Micrococcus varians</u> , <u>Achromobacter guttatus</u>
<u>Curing, ageing and cooking:</u>	take place in sealed cans
<u>Optimal ageing time:</u>	5 hours at 3 - 4 °C
<u>After 5 hours of ageing these are improved:</u>	color, odour, taste, texture
<u>After 5 hours of ageing these are accumulated:</u>	free amino acids (288 %) volatile fatty acids (211 %) lactic acid (112 %) volatile carbonyls (111 %)

Wurden die Kochschinken mit 10^8 Mikroorganismen der Starterkultur pro Gramm Schinken beimpft und 3, 5, 9 und 24 Stunden bei 3 bis 4 °C in der geschlossenen Dose gereift, dann zeigte sich nach einer 14tägigen Lagerung des Fertigproduktes, daß eine Reifezeit von fünf Stunden bereits optimal war, und zwar waren Farbe, Geruch, Geschmack und Konsistenz nach dieser Reifezeit deutlich besser als bei den Kontrollschinken ohne Starterkultur.

Um aufzuklären, worauf die Aromaverbesserung der Schinken mit Starterkultur nach fünf Stunden Reifezeit zurückzuführen ist, führten die Autoren chemische

Untersuchungen durch. Dabei zeigte sich in den Schinken mit Starterkultur, im Vergleich zu Kontrollschinken, daß nach fünf Stunden Reifezeit die freien Aminosäuren, die flüchtigen Fettsäuren sowie Milchsäure und flüchtige Carboneyle in größerer Menge als bei Kontrollschinken nachweisbar waren (Tabelle 3). Es handelt sich dabei um Substanzen, die zur Aromabildung beitragen können. Nach 24 Stunden Reifezeit waren diese Substanzen, im Vergleich zu Kontrollschinken, in geringerer Menge nachweisbar. Das kann darauf zurückzuführen sein, daß die Mikroorganismen der Starterkultur diese leicht verfügbaren Substanzen als Nährsubstrat benutzten.

Die Autoren folgerten, daß die ausgewählte Starterkultur es ermöglicht, die Reifezeit von Kochschinken auf fünf Stunden zu verkürzen. Aufgrund dieser Starterkultur sind nach dieser Reifezeit bereits Aromastoffe sowohl chemisch als auch sensorisch nachweisbar.

Nach meiner Auffassung ist zu begrüßen, daß sich die Autoren bemühen, bei ihrem Schnellverfahren nicht nur die Ausbildung der Farbe und Konsistenz in kurzer Zeit zu erreichen, sondern auch Wert auf ein ansprechendes Aroma legen. Im allgemeinen führen Schnellverfahren zur Dosenschinken-Herstellung, so auch das Tumbler-Verfahren, zu gewissen Mängeln in der Aromabildung.

Im Zusammenhang mit dem Bestreben, den Zusatz von Nitrit zu Fleischerzeugnissen zu vermindern, sollte geprüft werden, ob die nach dem russischen Schnellverfahren hergestellten Dosenschinken mit Starterkultur, da sie mehr Milchsäure enthalten, eine Verminderung des Nitritzusatzes zu Dosenschinken ermöglichen.

Tabelle 4: DSHEVISOV untersuchte den Einsatz des Stammes P₄ als Starterkultur bei der industriellen Herstellung von Rohwurst in der Volksrepublik Bulgarien. Im Rahmen dieser Untersuchung wurde während zwei Jahren der Mikrokokken-Stamm P₄ industriell als Starterkultur für vier verschiedene Sorten von Rohwurst, die in Tabelle 4 aufgeführt sind, eingesetzt. Nach den Ergebnissen von DSHEVISOV wird dadurch eine Verkürzung der Herstellungszeit um 40 bis 45 %, im Vergleich zu der vorher üblichen Herstellung ohne Starter-

kulturen, erzielt. Einige Abschnitte des traditionellen Herstellungsprozesses konnten aufgrund der Starterkultur eingespart werden, weiterhin erschienen die mit der Starterkultur hergestellten Erzeugnisse gleichmäßiger im Hinblick auf Bindung, Umrötung und Geschmack sowie den pH-Verlauf und die Mikroflora. Die Starterkultur wird nach einer amtlichen Richtlinie hergestellt, sodann werden 5 ml einer 20 Stunden bebrüteten Bouillonkultur pro kg Brät während der Zerkleinerung zugesetzt. Die Mikroorganismen des Stammes P₄ sollen in der Rohwurst bereits während der ersten Reifetage und dann während des gesamten Trocknungsprozesses vorherrschend sein und einen beschleunigten pH-Abfall, im Vergleich zu den Produkten ohne Starterkulturen, verursachen. Aufgrund des schnelleren pH-Abfalles können während der Reifung etwas höhere Temperaturen, eine geringere relative Luftfeuchtigkeit und eine höhere Luftbewegung eingesetzt werden.

Da im Hinblick auf das Nitrosamin-Problem allgemein eine Reduzierung des Zusatzes von Nitrat und Nitrit zu Fleischwaren angestrebt wird, dürfte von Interesse sein in weiteren Untersuchungen zu prüfen, inwieweit bei der Verwendung des Mikrokokken-Stammes P₄ als Starterkultur eine Herabsetzung der Zugabe von Nitrat oder Nitrit zu Rohwurst möglich ist. Da es sich um Mikrokokken handelt, wird zugesetztes Nitrat möglicherweise vollständiger zu Nitrit umgesetzt als in Rohwurst ohne Starterkulturen. Weiterhin könnte das Nitrit, aufgrund des rascheren pH-Abfalles, stärker bakteriostatisch gegenüber unerwünschten Mikroorganismen wirken als in Produkten mit einem höheren pH-Wert. Inwieweit für eine optimale Auswirkung des bakteriostatischen Effektes des gebildeten oder zugesetzten Nitrits neben den Mikrokokken auch Laktobazillen erforderlich sind, d. h. ob eine Mischkultur von Mikrokokken und Laktobazillen als Starterkultur eine weitgehendere Herabsetzung des Nitritzusatzes ermöglichen würde, wäre ebenfalls von Interesse zu untersuchen.

Die Tabelle 5 zeigt die Kochsalz-, Nitrit- und Nitrat-Konzentrationen in den verwendeten Pökellaken sowie im entsprechenden Bacon, und zwar beim Bacon zum Zeitpunkt der Verpackung. Weiterhin ist von uns in diese Tabelle eingefügt worden, welche Lagerzeit, aufgrund bakteriologisch bedingter Veränderungen, bei den mit unterschiedlichen Nitrit- und Nitratmengen gepökelten Bacon erreicht worden ist. Gelagert wurde bis zu fünf Wochen bei + 5 °C und bis zu zwei Wochen bei + 15 °C.

SHAW folgerte aus seiner Untersuchung, daß Pökellaken mit 1000 ppm Nitritzusatz bei Back Bacon ausreichen, um ein Produkt zu erzielen, das zu Beginn der Lagerung 60 bis 100 ppm Nitrit und 4 % Kochsalz enthält und daher - mit einem Sicherheitsfaktor - vakuumverpackt mindestens fünf Wochen bei + 5 °C und zwischen ein und zwei Wochen bei + 15 °C lagerfähig ist. Ein Nitratzusatz zu den Pökellaken wird von SHAW bei Back Bacon nicht für erforderlich gehalten. Die Lagerfähigkeit von Back Bacon wird vor allem durch Milchsäurebakterien begrenzt.

Etwas anders liegen die Verhältnisse bei Collar Bacon. Hier folgert SHAW, daß Nitrat in den Pökellaken wichtig ist für die Haltbarkeit des vakuumverpackten Produktes, und zwar vor allem im Hinblick auf eine Hemmung Gramnegativer Bakterien. Ein Weglassen des Nitrats bei der Pökellung von Wiltshire Collar Bacon könnte nach Auffassung von SHAW zu einer Verminderung der Haltbarkeit bei diesem Produkt führen.

Der von SHAW beobachtete höhere pH-Wert von Collar Bacon, im Vergleich zum Back Bacon, ist wahrscheinlich auf den höheren Gehalt an Fett beim Collar Bacon zurückzuführen. Aufgrund dieses höheren pH-Wertes können sich kältetolerante Gram-negative Stäbchen beim Collar-Bacon vielleicht besser vermehren.

Nach meiner Auffassung sollte es möglich sein, auch Collar Bacon ohne Nitratzusatz zu Pökellake herzustellen, wenn man das verpackte Produkt bei etwas niedrigerer Temperatur und nicht zu lange lagert. Sicherlich handelt

S. DSHEVISOV, Bulgaria

Table 4: Advantages of Micrococcus strain P₄ used as starter culture for industrial production of:

1. Beef and pork Loukanka (60 % beef and 40 % pork)
2. Pork Loukanka (100 % pork)
3. Ambaritsa sausage (80 % pork and 20 % beef)
4. Moussala sausage (100 % pork)

Production time is reduced by 40 to 45 %, since some production steps are eliminated and others accelerated
Product uniformity is improved (sensoric, pH, and microflora)

Tabelle 5: Der letzte Beitrag der Sektion steht in direktem Zusammenhang mit dem Thema der Session G, denn SHAW, Großbritannien, untersuchte, inwieweit die bakteriologische Stabilität von vakuumverpacktem Bacon vermindert wird, wenn Nitrat aus den Pökellaken herausgelassen und der Nitritzusatz vermindert wird.

In Großbritannien sind bei gepökelten Fleischwaren im Fertigprodukt 500 ppm Nitrat und 200 ppm Nitrit zugelassen. Die für die Herstellung von Bacon verwendeten Spritz- und Aufgußlaken können sowohl Nitrat als auch Nitrit enthalten. In der Untersuchung von SHAW wurde jeweils die rechte und die linke Seite eines Schweines zur Herstellung von Back Bacon (aus der Rücken-Muskulatur) und Collar Bacon (aus der Kamm-Muskulatur) mit der gleichen Kochsalzmenge, aber mit unterschiedlichen Nitrit- und Nitratzusätzen gepökelt. Dabei hatten jeweils die Spritz- und Aufgußlaken, die für ein Fleischstück verwendet wurden, die gleiche Zusammensetzung. Nach der Herstellung, die 12 Tage in Anspruch nahm, wurde der Bacon aufgeschnitten, vakuumverpackt und entweder bei + 5 °C oder + 15 °C gelagert.

es sich auch hier um einen Hürdeneffekt, d. h. eine geringere Nitrit- und Nitratreserve im Produkt kann durch andere Hürden, z. B. Temperatur und Zeit, ausgeglichen werden.

B. G. SHAW, England

Table 5: Concentrations of salt, nitrite and nitrate added to brines and analysis of bacon at beginning of storage

Comparison Cure BACK BACON		Brines (Added Conc.)			Bacon				Shelf In 5°C
		NaCl (%)	NaNO ₂ (ppm)	NaNO ₃ (ppm)	pH	NaCl (%)	NaNO ₂ (ppm)	NaNO ₃ (ppm)	
A	1	26	1,000	5,000	5.5	3.2	52	524	35
	2	26	1,000	-	5.5	3.5	57	27	35
B	1	26	2,000	-	5.8	4.5	176	39	35
	2	26	1,000	-	5.7	4.5	81	25	35
C	1	26	2,000	-	5.7	4.5	150	26	35
	2	26	500	-	5.6	4.5	34	18	35
D	1	26	2,000	-	5.8	4.2	144	42	35
	2	26	250	-	5.7	3.5	17	7	14-35
COLLAR BACON									
E	1	26	1,000	5,000	6.0	5.4	126	746	20
	2	26	1,000	-	5.9	5.0	105	186	20
F	1	26	1,000	5,000	5.9	5.2	110	756	20
	2	26	2,000	-	6.0	5.3	225	97	20

Tabelle 6: Es ist noch unzureichend geklärt, inwieweit durch eine Verminderung des Nitrat- und Nitritzusatzes zu Fleischerzeugnissen das Risiko einer Nitrosaminbildung in Pökelfleischwaren herabgesetzt wird. Dennoch sollte man Fleischwaren auf jeden Fall nur so wenig wie möglich, wenn auch so viel wie notwendig, Nitrat und Nitrit zusetzen. Denn bei dem zugesetzten Nitrit oder aus Nitrat durch Reduktion gebildetem Nitrit handelt es sich keineswegs um eine harmlose Substanz. Eine Verminderung des Nitrat- und Nitritzusatzes zu Fleischerzeugnissen würde also die Gesamtbelastung des Menschen durch toxische Substanzen verringern. Da aus Nitrat schlecht berechenbare Mengen von Nitrit gebildet werden, sollte man, nach Möglichkeit, auf den Zusatz von Nitrat zu Pökelfleischwaren überhaupt verzichten. Ist nun ein Verbot des Nitratzusatzes und eine Verminderung des Nitritzusatzes bei Fleischwaren möglich?

In den vergangenen Jahren sind von verschiedenen Autoren zahlreiche Untersuchungen über die Bedeutung des Nitrits für Pökelfleischwaren durchgeführt worden.

Tabelle 6: Necessary addition of nitrite to meats

Color	20 - 40 ppm*
Flavor	30 - 50 ppm
Preservation	60 - 150 ppm

* with addition of 300 to 500 ppm ascorbate

Aus diesen Untersuchungen und eigenen Arbeiten läßt sich folgern, daß die geringste Nitritmenge für die Ausbildung der Pökelfarbe notwendig ist, ein etwas höherer Nitritzusatz ist für das typische Pökelaroma erforderlich und noch höher liegt der Nitritzusatz, der die gewohnte Stabilität von Pökelfleischwaren garantiert. In Tabelle 6 ist aufgeführt, welcher Nitritzusatz für Farbe, Aroma und Konservierung von Pökelfleischwaren nach unserer

Auffassung notwendig ist. Dabei wird die Farbbildung mit 20 bis 40 ppm Natriumnitrit nur dann erreicht, wenn gleichzeitig 300 bis 500 ppm Natriumascorbat zugesetzt werden. Aus Tabelle 6 läßt sich folgern, daß der Mikrobiologe zu entscheiden hat, wie weit der Zusatz von Nitrat und Nitrit zu Fleischerzeugnissen vermindert werden kann, denn der Technologe kommt im Hinblick auf die Pökelfarbe und das Pökelaroma mit viel geringeren Nitrat- und Nitritmengen aus, als bisher allgemein als Zusatz üblich sind. Die für die Konservierung der Fleischwaren erforderliche Nitritmenge wird in Tabelle 6 mit 60 bis 150 ppm Natriumnitritzusatz angegeben, denn die verschiedenen Fleischerzeugnisse erfordern einen etwas unterschiedlichen Nitritzusatz. Für Brüh- und Kochwürste reichen nach unseren Erfahrungen bereits etwa 65 ppm Nitritzusatz aus, für Rohwürste ist ein Nitritzusatz von 100 bis 110 ppm erforderlich und bei den Fleischkonserven richtet sich der notwendige Nitritzusatz nach der angewandten Hitzekonservierung. Halbkonserven, wie Dosschinken, erfordern einen Nitritzusatz von mindestens 90 ppm, Dreiviertelkonserven, wie Luncheon Meat, von mindestens 70 ppm, dagegen reicht für Vollkonserven bereits ein Nitritzusatz von 40 ppm aus. Welche Faktoren bei den verschiedenen Produkten im Hinblick auf den erforderlichen Nitritzusatz von Bedeutung sind, sei an einigen Beispielen aufgezeigt.

R o h w u r s t

Untersuchungen im Institut für Technologie der Bundesanstalt für Fleischforschung haben ergeben, daß der bei Rohwurst übliche Nitritzusatz im Hinblick auf Farbe und Aroma ohne Schwierigkeit um 50 % vermindert werden kann. Das heißt, der für die verschiedenen Rohwurst-Sorten erlaubte und übliche Nitritzusatz in der Bundesrepublik von 135 bis 150 ppm kann auf 65 bis 75 ppm vermindert werden. Es kommt bei diesem verminderten Nitritzusatz zur gleichen Farbbildung und das Aroma der Rohwürste mit einem um 50 % verminderten Nitritzusatz ist sogar besser, da sich in der Anfangsphase der Reifung Gramnegative Stäbchen, die zur Aromabildung beitragen, stärker vermehren (WIRTH, Kurzfassungen der Vorträge der Kulmbacher Woche 1974).

Tabelle 7: Mikrobiologisch wurde nun geprüft (LEISTNER, HECHELMANN, BEM und ALBERTZ, Fleischwirtschaft 53, 1751, 1973), ob eine 50%ige Verminderung des Nitritzusatzes die erforderliche Stabilität garantiert. Zur Prüfung dieser Frage sind die Rohwürste mit Salmonellen beimpft worden. Hat die Salmonellen-Beimpfung 100 000 pro g Brät betragen, dann ist es bei den Rohwürsten, die nur 50 % der üblichen Nitritmenge enthielten, schnell zu einer starken Vermehrung der Salmonellen gekommen, ohne Nitrit war das auch der Fall. Da die Salmonellen-Zahl bei diesen Würsten über 10^6 pro g lag, hätten die Produkte wahrscheinlich Lebensmittelvergiftungen verursacht. Bei einer geringen Salmonellen-Beimpfung, von 100 Salmonellen pro g Brät, war eine 50%ige Reduktion des Nitritzusatzes tragbar, denn nur in den Würsten ohne Nitrit ist eine Zunahme der Salmonellen während der Reifung aufgetreten.

Tabelle 8: Das ist ein Versuch mit Rohwurst (LEISTNER, HECHELMANN, BEM und ALBERTZ, Fleischwirtschaft 53, 1751, 1973), der 1000 Salmonellen pro g Brät zugesetzt wurden, unterschiedliche Mengen von Nitrit und zum Teil Glucono-delta-Lacton, das bekanntlich zu einer schnellen pH-Senkung während der Rohwurstreifung führt. In den Würsten ohne Glucono-delta-Lacton hat die Salmonellen-Zahl wiederum ohne Nitritzusatz und bei einem um 50 % verminderten Nitritzusatz stark zugenommen. Durch den Zusatz von 0.5 % Glucono-delta-Lacton zum Wurstbrät wurde die Vermehrung der Salmonellen vermindert oder ein schnelleres Absterben der Salmonellen während der Rohwurstreifung herbeigeführt. Bei einer 25%igen Nitrit-Reduktion ist die gleiche Stabilität wie mit der vollen Nitritmenge in Gegenwart von Glucono-delta-Lacton nachgewiesen worden. Die Stabilität war etwas geringer, wenn nur 50 %, d. h. 73 ppm, der üblichen Nitritmenge zugesetzt wurden.

Tabelle 9: In diesem Rohwurstversuch (LEISTNER, HECHELMANN, BEM und ALBERTZ, Fleischwirtschaft 53, 1751, 1973) sind 100 Salmonellen pro g Brät eingeimpft worden und allen Rohwurst-Chargen wurde 2,6 % Kochsalz, jedoch Nitrit in unterschiedlicher Menge zugesetzt. Weiterhin sind die Würste teilweise

Table 7: Fermented sausage (Teewurst), produced with 2,6 % sodium chloride and inoculated with Salmonella

Days of ripening	100 000 Salmonella/g				100 Salmonella/g			
	0 %	50 %	75 %	100 %	0 %	50 %	75 %	100 %
0	10^5	10^5	10^5	10^5	10^2	10^2	10^2	10^2
5	10^7	10^6	10^5	10^5	10^5	10^2	10^2	0
10	10^7	10^6	10^5	10^5	10^4	10^2	0	0
15	10^7	10^6	10^5	10^5	10^4	10^2	10^2	0

100 % = 135 ppm nitrite added, 75 % = 101 ppm, 50 % = 68 ppm, 0 % = no nitrite

Table 8: Fermented sausage (Cervelatwurst), produced with 2,8 % sodium chloride and inoculated with Salmonella

Days of ripening	1000 Salmonella/g				1000 Salmonella/g			
	Without GdL				0,5 % GdL			
	0 %	50 %	75 %	100 %	0 %	50 %	75 %	100 %
0	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3
10	10^6	10^4	10^3	10^3	10^5	10^3	10^3	10^3
20	10^6	10^6	10^4	10^2	10^4	10^2	10^2	10^2
30	10^6	10^6	10^4	0	10^4	10^4	0	0

100 % = 146 ppm nitrite added, 75 % = 110 ppm, 50 %, = 73 ppm, 0 % = no nitrite

Table 9: Fermented sausage (Teewurst), produced with 2.6% sodium chloride and inoculated with Salmonella

Days of ripening	100 Salmonella/g				100 Salmonella/g			
	0 %	Without starter			With Lactobacilli			
	0 %	50 %	75 %	100 %	0 %	50 %	75 %	100 %
0	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2
5	10^6	10^3	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2
10	10^6	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2	10^2

100 % = 135 ppm nitrite added, 75 % = 101 ppm, 50 % = 68 ppm, 0 % = no nitrite

mit Laktobazillen als Starterkultur und teilweise ohne Starterkultur hergestellt worden. Die Starterkultur verursachte einen schnelleren und stärkeren pH-Abfall während der Rohwurstreifung. Aufgrund dieses pH-Abfalles ist die Stabilität der Rohwürste deutlich verbessert worden, denn selbst die Rohwürste ohne Nitrit oder nur mit 50%igem Nitritzusatz zeigten keine Vermehrung der Salmonellen. Folglich kann die Stabilität von Rohwurst sowohl durch GdL als auch durch Laktobazillen verbessert werden. Dadurch wird eine 25%ige Reduktion des üblichen Nitritzusatzes möglich, während bei einer 50%igen Reduktion auch in Gegenwart von GdL oder Laktobazillen die Stabilität des Produktes zweifelhaft erscheint.

Tabelle 10: Auch durch den Zusatz von Ascorbinsäure läßt sich die Stabilität von Rohwurst verbessern (HECHELMANN, BEM und LEISTNER, Kurzfassungen der Vorträge der Kulmbacher Woche 1974), da anscheinend die Abbauprodukte des Nitrits bei herabgesetztem Redoxpotential stärker bakteriostatisch sind. Die Tabelle 10 zeigt einen Versuch mit Rohwurst, der 10 000 Salmonellen pro g Brät und 2,6 % Kochsalz, jedoch Nitrit in unterschiedlicher Menge zugesetzt wurden. In den Rohwürsten, die nur 50 %, d. h. nur 68 ppm, Nitrit als Zusatz erhielten, haben sich die Salmonellen während der Reifung in kurzer Zeit erheblich vermehrt. In Gegenwart von 300 ppm Natriumascorbat war das nicht der Fall. Dabei wirkt das Natriumascorbat selbst nicht hemmend auf die Salmonellen, denn die Rohwürste, die kein Nitrit, aber 600 ppm Natriumascorbat erhielten, zeigten eine sehr starke und schnelle Vermehrung der Salmonellen.

Aus den durchgeführten Rohwurstversuchen haben wir gefolgert, daß für die Stabilität von Rohwurst ein Nitritzusatz von 100 bis 110 ppm ausreicht, also eine 25%ige Reduktion des bisher üblichen Nitritzusatzes möglich ist, zumal wenn GdL oder Laktobazillen oder Natriumascorbat zum Brät zugesetzt werden. Inwieweit GdL sowie Laktobazillen aufgrund der pH-Wert-Senkung und möglicherweise auch Natriumascorbat die Bildung von Nitrosoverbindungen fördern (NAGATA und MIRNA, Fleischwirtschaft 54, 1781, 1974), bedarf weiterer Untersuchungen.

Table 10: Fermented sausage (Teewurst), produced with 2,6 % sodium chloride and inoculated with Salmonella

Days of ripening	10 000 Salmonella/g			
	135 ppm nitrite (100 %)	68 ppm nitrite (50 %)	68 ppm nitrite 300 ppm ascorbate	no nitrite added 600 ppm ascorbate
0	10^4	10^4	10^4	10^4
3	10^3	10^5	10^4	10^7
6	10^3	10^5	10^4	10^7
10	10^3	10^4	10^3	10^7
15	10^3	10^4	10^3	10^7

Tabelle 11: Welchen Einfluß hat nun der Zusatz von Nitrat auf die Stabilität von Rohwurst? Auch diese Frage wurde von uns (HECHELMANN, BEM und LEISTNER, Kurzfassungen der Vorträge der Kulmbacher Woche 1974) durch eine Salmonellen-Beimpfung zu klären versucht. Die Tabelle 11 zeigt einen Versuch mit Rohwurst, der 2,8 % Kochsalmz und 1000 Salmonellen pro g, jedoch wieder Nitrit und Nitrat in unterschiedlichen Mengen zugesetzt worden sind. Bei der vollen Nitritmenge zeigten die Salmonellen keine Vermehrung, dagegen wurde, wie in anderen Versuchen auch, bei 50 % der üblichen Nitritmenge eine starke Vermehrung der Salmonellen beobachtet. Bei einem Zusatz von 600 ppm Kaliumnitrat, der in der Bundesrepublik zulässig ist, zeigte sich ebenfalls eine schnelle und starke Vermehrung der Salmonellen, die sogar noch stärker war als wenn nur 214 ppm Nitrat zugesetzt worden sind, denn anscheinend stellt das Nitrat eine schnell verwertbare

Stickstoffquelle dar. Im weiteren Verlauf der Reifung ist zwar die Salmonellen-Zahl aufgrund der Nitrat-Reduktion, d. h. der Nitritbildung, zurückgegangen, aber auch am Ende der Reifung waren noch relativ hohe Salmonellen-Zahlen bei den Nitratwürsten nachweisbar. Auch ein Mischsalz, das sowohl Nitrat als auch Nitrit enthielt, hat nicht die erwünschte Stabilität der Rohwurst gebracht. Aus diesen und ähnlichen Versuchen haben wir gefolgert, daß ein Nitratzusatz zu Rohwurst die Stabilität nicht erhöht, denn es kommt vor allem auf die Nitritmenge zu Beginn der Reifung an. Die nur mit Nitrat hergestellten Rohwürste haben häufig ein besseres Aroma als nur mit Nitrit hergestellte Produkte, auch das kann mit der stärkeren Vermehrung von Gram-negativen Stäbchen zu Beginn der Reifung in Zusammenhang stehen. Ein gleich gutes Aroma wie bei den mit Nitrat gefertigten Würsten läßt sich jedoch auch durch eine Verminderung des Nitritzusatzes auf 50 % der bisher üblichen Menge erzielen (WIRTH, Kurzfassungen der Vorträge der Kulmbacher Woche 1974).

Brühwurst

Technologische Untersuchungen in der Bundesanstalt für Fleischforschung haben ergeben, daß man Brühwürste, wie sie in der Bundesrepublik üblich sind, ohne Beeinträchtigung von Farbe und Aroma mit 50 % des bisher üblichen Nitritzusatzes herstellen kann (WIRTH, Fleischwirtschaft 53, 363, 1973). Das würde einem Nitritzusatz von nur 42 ppm entsprechen. Mikrobiologisch erscheint nur eine 25%ige Reduktion des üblichen Nitritzusatzes vertretbar, d. h. es sollten 65 ppm Natriumnitrit für die Stabilität zugesetzt werden.

Tabelle 12: Das ist ein Versuch mit Brühwurst (LEISTNER, HECHELMANN, BEM und ALBERTZ, Fleischwirtschaft 53, 1751, 1973), der bei der Herstellung 1,6 % Kochsalz und Natriumnitrit in unterschiedlicher Menge zugesetzt wurden. Nach der Herstellung wurde die Brühwurst aufgeschnitten, mit

Table 11: Fermented sausage (Cervelatwurst), produced with 2,8 % sodium chloride and inoculated with Salmonella

Days of ripening	1000 Salmonella/g				
	146 ppm nitrite	73 ppm nitrite	600 ppm nitrate	214 ppm nitrate	73 ppm nitrite 54 ppm nitrate
0	10^3	10^3	10^3	10^3	10^3
3	10^3	10^6	10^7	10^6	10^6
6	10^3	10^6	10^6	10^6	10^6
10	10^2	10^6	10^6	10^5	10^6
15	10^2	10^6	10^5	10^5	10^5
20	0	10^6	10^5	10^4	10^5

Salmonellen beimpft, vakuumverpackt und bei + 8 °C gelagert. Während der Lagerung ist es bei einer Beimpfung mit 10 000 Salmonellen pro g Brühwurst ohne Nitrit zu einer starken Vermehrung der Salmonellen gekommen. Auch bei 50 und 75 % des üblichen Nitritzusatzes trat noch eine gewisse Vermehrung der Salmonellen auf. Beim Nitritzusatz in voller Menge, das sind 83 ppm, zeigte sich keine Salmonellenvermehrung während der Lagerung des vakuumverpackten Brühwurstaufschnittes. Wurde die Brühwurst nur mit 100 Salmonellen pro g beimpft, dann haben sich die Salmonellen nur bei der Brühwurst ohne Nitrit vermehrt.

Table 12: Vacuum packed Bologna, produced with 1,6 % sodium chloride and inoculated with Salmonella

Days at + 8 °C	10 000 Salmonella/g				100 Salmonella/g			
	0 %	50 %	75 %	100 %	0 %	50 %	75 %	100 %
0	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ²	10 ²	10 ²	10 ²
10	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴	10 ⁴	10 ²	0	0	0
15	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁴	10 ⁴	10 ³	0	0	0
20	10 ⁷	10 ⁵	10 ⁵	10 ⁴	10 ³	10 ²	0	0

100 % = 83 ppm nitrite added, 75 % = 62 ppm, 50 % = 42 ppm,
0 % no nitrite

Tabelle 13: In vakuumverpacktem Brühwurstaufschnitt befinden sich häufig als Kontaminanden Laktobazillen, die sich während der Lagerung des Produktes vermehren und zur Stabilität des Brühwurstaufschnittes beitragen, sofern sie keine zu starke Vermehrung zeigen und damit eine Säuerung des Produktes verursachen. Die Tabelle 13 zeigt einen Brühwurstversuch (LEISTNER, HECHELMANN, BEM und ALBERTZ, Fleischwirtschaft 53, 1751, 1973), in

dem neben Salmonellen auch Laktobazillen zur Beimpfung verwendet wurden. Die Laktobazillen haben die Stabilität des Produktes verbessert, denn die Salmonellen haben sich selbst bei einer 50%igen Reduktion des Nitritzusatzes nicht bei der Brühwurst während der Lagerung vermehrt.

Table 13: Vacuum packed Bologna, produced with 1,6 % sodium chloride and inoculated with Salmonella and Lactobacillus

Days at + 8 °C	10 000 Salmonella/g + 100 Lactobacilli/g			
	0 %	50 %	75 %	100 %
0	10^4	10^4	10^4	10^4
10	10^4	10^3	10^3	10^3
15	10^2	10^2	10^2	10^2
20	10^3	10^2	10^2	10^2

100 % = 85 ppm nitrite added, 75 % = 62 ppm,
50 % = 42 ppm, 0 % = no nitrite

Aus den in der Bundesanstalt für Fleischforschung durchgeführten Untersuchungen mit Brühwurst, von denen hier nur wenige Beispiele diskutiert wurden, haben wir gefolgert, daß eine Reduktion des üblichen und zulässigen Nitritzusatzes um 25 % bei Frischware (nicht eingedost) vertretbar erscheint, wenn gleichzeitig andere Sicherheitsfaktoren etwas verstärkt werden. Das heißt, ein Zusatz von 65 ppm Natriumnitrit reicht für die Stabilität von Brühwurst aus, wenn entweder der pH-Wert oder der a_w -Wert oder die Lagertemperatur etwas erniedrigt werden oder die Lagerzeit etwas verkürzt wird.

Fleischkonserven

Die Stabilität von Fleischkonserven wird sicherlich durch den Zusatz von Nitrit mitbestimmt, darauf haben zahlreiche Untersucher hingewiesen, insbesondere INGRAM, PIVNICK und GREENBERG. Das Nitrit in Fleischkonserven soll vor allem zur Hemmung von Clostridium botulinum beitragen. Daher ist der Nitritzusatz insbesondere für mild erhitzte Fleischkonserven, z. B. Dosenschinken, von Bedeutung. In der Bundesrepublik werden üblicherweise zu eingedosten Kochschinken etwa 120 ppm Natriumnitrit zugesetzt, damit wird offenbar eine ausreichende Stabilität erreicht. Die Farbe und das Aroma sind bereits voll ausgebildet, wenn nur 60 ppm Natriumnitrit zugesetzt werden. Dabei kann die Farbe durch den gleichzeitigen Zusatz von 300 bis 500 ppm Natriumascorbat noch verbessert werden. Wird überhaupt kein Nitrit zu Dosenschinken zugesetzt, dann ergibt sich allerdings ein völlig anderes Produkt, sowohl in der Farbe als vor allem auch im Aroma.

Tabelle 14: Nach den Untersuchungen von GREENBERG (Proceedings of the Meat Industry Research Conference in Chicago, p. 25, 1972) ist für eine ausreichende Stabilität von Dosenschinken ein Nitritzusatz von 200 ppm erforderlich. Allerdings wurde das Untersuchungsmaterial mit 100 Clostridium botulinum-Sporen Typ A und B pro Gramm beimpft und sechs Monate bei etwa 27 °C (80 °F) gelagert. Obwohl GREENBERG die Clostridien-Sporen-Menge, die zur Beimpfung verwendet worden ist, als gering bezeichnet, kann man sie auch als relativ hoch ansehen, denn sie dürfte in der Praxis kaum angetroffen werden. Auch ist eine Lagertemperatur von 27 °C für Dosenschinken zwar nicht ungewöhnlich, aber als zu hoch anzusehen.

Tabelle 15: Bei den in der Bundesrepublik üblichen Fleischkonserven werden von der Bundesanstalt für Fleischforschung vier Typen unterschieden (LEISTNER, WIRTH und TAKACS, Fleischwirtschaft, 50, 216, 1970). Bei den Tropenkonserven (Typ IV) und Vollkonserven (Typ III) wird durch die an-

Table 14: Effect of nitrite on botulinum toxin formation in canned ham, inoculated with 90 spores of C. botulinum type A and B

Nitrite added, ppm	Days until toxin first detected	Total no. toxic cans
0	7	45/80
50	7	32
100	28	16
150	68	2
200	> 180	0
300	> 180	0
400	> 180	0
500	> 180	0

gewandte Hitzeeinwirkung Clostridium botulinum mit Sicherheit ausgeschaltet und es treten auch keine Verderbnisprobleme auf, wenn die Konserven entsprechend gelagert werden. Daher muß diesen Konserven nur so viel Nitrit zugesetzt werden, wie für die Ausbildung der Pökelfarbe und des Pökelarom notwendig sind. Das heißt für die Fleischkonserven der Typen III und IV dürfte ein Nitritzusatz von 40 bis 50 ppm ausreichend sein. Schwieriger zu beurteilen ist die Stabilität der sog. Dreiviertelkonserven (Typ II), in denen Clostridium botulinum die übliche Hitzebehandlung überstehen können. Nach den Untersuchungen von WIRTH, TAKÁCS und LEISTNER (Fleischwirtschaft 51, 923, 1971) können jedoch diese Dreiviertelkonserven, zu denen z. B. Luncheon Meat gehört, auch so erhitzt werden, daß Clostridium botulinum-Sporen mit Sicherheit ausgeschaltet sind. Allerdings kommt es dabei zu gewissen Qualitätseinbußen, die jedoch bei Anwendung moderner Technologien gering sind. Nur bei Halbkonserven (Typ I), zu denen die Dosenschinken gehören, ist keine Hitzebehandlung anwendbar, die zu einer sicheren

Abtötung von Clostridium botulinum-Sporen führt. Wenn Dosenschinken mit einem verminderten Nitritzusatz hergestellt werden, erlangt die Lagertemperatur besondere Bedeutung. Wir halten die Reduzierung des Nitritzusatzes um 25 %, d. h. bis auf 90 ppm, auch bei Dosenschinken vertretbar, wenn die Lagertemperatur + 5 °C nicht überschreitet.

Wenn es erforderlich sein sollte, ist also eine Reduzierung der Nitritzugabe auch bei Fleischkonserven denkbar. Bei Halbkonserven, auch bei Dosenschinken, könnten 90 ppm Nitritzusatz ausreichen, wenn eine Lagertemperatur von + 5 °C nicht überschritten wird. Bei Dreiviertelkonserven, zu denen Brühwurstkonserven, einschließlich Luncheon Meat gehören, reicht ein Nitritzusatz von 70 ppm wahrscheinlich aus, wenn der angewandte F_s -Wert über 2,5 liegt. Für Vollkonserven und Tropenkonserven ist ein Nitritzusatz von 40 bis 50 ppm ausreichend, da es bei diesen Produkten nur auf die Ausbildung von Farbe und Aroma ankommt.

Table 15:

Canned meat products in Germany

Type	Preservation	Treatment	Eliminated	Maximal shelflife
I	Semi	> 65 - 75 °C in center	vegetative organisms	6 months < + 5 °C
II	Three-quarter	Fs 0.65- 0.80	as I and mesophilic <u>Bacillus</u> spores	.6 - 12 months < + 15 °C
III	Full	Fs 5.0 - 6.0	as II and mesophilic <u>Clostridium</u> spores	4 years < + 25 °C
IV	Tropical	Fs 16.0- 20.0	as III and thermophilic <u>Bacillus</u> & <u>Clostridium</u> spores	1 year > + 40 °C

Clostridium botulinum requires Fs 2.5

S c h l u ß f o l g e r u n g

Bei den in der Bundesrepublik Deutschland üblichen Pökelfleischwaren ist ein Zusatz von 80 bis 160 ppm Natriumnitrit üblich und zulässig. Dabei erfolgt der Nitritzusatz ausschließlich durch die Verarbeitung von Nitritpökelsalz. Diese Regelung halten wir für gut, da sie auf einfache Weise eine Überdosierung von Nitrit vermeidet. Nach Auffassung der Bundesanstalt für Fleischforschung ließe sich der in der Bundesrepublik bisher übliche Nitritzusatz, wenn es notwendig werden sollte, um 25 % reduzieren. Es würden also zu den Pökelfleischwaren 60 bis 120 ppm Natriumnitrit, ebenfalls über Nitritpökelsalz, zugesetzt werden. Bei einer derartigen Reduzierung müßten jedoch andere Sicherheitsfaktoren, die zusammen mit dem Nitrit die Stabilität der Fleischwaren gewährleisten, etwas verstärkt werden. Zu den Sicherheitsfaktoren, die alternativ zu Nitrit die Stabilität von Pökelfleischwaren gewährleisten können, gehören die Temperatur, die Zeit, der pH-Wert, der a_w -Wert, der Eh-Wert sowie die Hygiene. Eine gewisse Verstärkung dieser Sicherheitsfaktoren ist nicht unrealistisch und könnte eine Reduktion des bisher in der Bundesrepublik bei Fleischwaren üblichen Nitritzusatzes ermöglichen.