

21. Europäischer Fleischforscherkongreß Bern/Schweiz

MIKROBIOLOGIE UND HYGIENE DER FETTE TIERISCHEN URSPRUNGS

O. PRÄNDL

Institut für Fleischhygiene, Fleischtechnologie und Lebensmittelkunde, Tierärztliche Hochschule, Wien.

Es ist den Veranstaltern dafür zu danken, mit dem Thema "Mikrobiologie und Hygiene der Fette tierischen Ursprungs" ein bisher in diesem Kreise wenig behandeltes Thema auf das Programm des Fleischforscherkongresses gesetzt zu haben. Zu diesem Thema sind mir insgesamt 3 Arbeiten vorgelegt worden, wovon sich zwei mit Geruchsabweichungen, insbesondere dem Geschlechtsgeruch, im Fett von Schweinen befassen und eine Arbeit dem Zusammenhang zwischen mikrobieller Katalaseaktivität und Fettoxidation in fermentierten Würsten gewidmet ist. Bevor ich auf diese Arbeiten näher eingehe, möchte ich, dem Auftrag der Veranstalter entsprechend, einen Überblick über die Hygiene und Mikrobiologie tierischer Fette geben.

Tierische Fette können sowohl durch endogene als auch durch exogene Faktoren mannigfaltige Veränderungen erleiden, die wenigstens z.T. hygienisch bedenklich sind. Dies betrifft vor allem schädliche Stoffe, die sich intra vitam oder post mortem im Fettgewebe und in den daraus gewonnenen Fetten anreichern können. Das Hauptinteresse der Mikrobiologie der Fette tierischen Ursprungs ist dem Fettverderb und dessen Verhinderung sowie dem mikrobiellen Fettabbau im Rahmen der Fermentation von Fleischwaren gewidmet, aber auch dem Wachstum pathogener und toxinogener Mikroorganismen. Zunächst möchte ich gesundheitlich bedenkliche Rückstände von Stoffen besprechen, die das Tier mit dem Futter oder sonstwie aufnimmt, oder die dem Tier gesondert verabreicht werden und die eine besondere Affinität zum Fettgewebe besitzen.

An erster Stelle sind hier Pestizidrückstände zu nennen, vor allem Organo-Chlor-Verbindungen wie DDT, Dieldrin, Aldrin, Lindan (HCH), Toxaphen, Heptachlor und Endrin, die im Fettgewebe gespeichert werden und die eine, wenn auch unterschiedliche Toxizität aufweisen. Z.T. sind die Metaboliten dieser Pestizide stärker toxisch als die Pestizide selbst. Die mit tierischen Fetten dem Menschen zugeführten Organo-Chlor-Verbindungen nehmen in der Gesamtnahrung bereits einen erheblichen Anteil ein, wie zahlreiche Untersuchungen gezeigt haben. Mehrere Staaten und die WHO haben daher für die tägliche Aufnahme von Organo-Chlor-Verbindungen durch den Menschen Grenzwerte aufgestellt (ADI-Werte). Ferner wurde in einigen Staaten das Problem der Pestizidrückstände in tierischen Fetten in der Weise zu regeln versucht, daß für weniger toxische Organo-Chlor-Verbindungen wie DDT, Lindan und Toxaphen, Toleranzwerte vorgeschrieben wurden, während andere Pestizide für die Behandlung von Tieren und Tierställen zwar zugelassen wurden, im Fleisch und Fett der Tiere aber keine Rückstände hinterlassen dürfen. Besonders toxische Pestizide, wie Aldrin, Dieldrin, Endrin u.dgl., sind für die Behandlung von Tieren und Tierställen überhaupt auszuschließen.

Weitere, hygienisch relevante Stoffe sind solche, die absichtlich an Tiere verabreicht werden und zu Rückständen vorzüglich im Fettgewebe führen können. Dies sind Arzneimittel einerseits und sogenannte Wirkstoffe andererseits. Auf die Vielzahl der Arzneimittel einzugehen, die im tierischen Fettgewebe zu Rückständen führen können, würde im Rahmen dieses Referates zu weit führen. Von den sogenannten Wirkstoffen sind hier die Östrogene und die Thyreostatika zu nennen.

Östrogene führen insbesondere dann zu bedenklichen Rückständen im Fettgewebe, wenn zur Erzielung des gewünschten Effektes hohe Dosen an Östrogenen mit Depotwirkung verabreicht werden müssen.

Dies ist sowohl bei der Östrogenanwendung in der Geflügelmast der Fall, als auch bei der hormonalen Kastration der Eber. Da beim Geflügel die Anwendung von Östrogenen nur in der Endmast den gewünschten Erfolg ergibt, ist bei so behandeltem Schlachtgeflügel stets mit Östrogenrückständen, vorzüglich in der Leber und im Fettgewebe zu rechnen. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei hormonal kastrierten Ebern, da der Kastrationseffekt nur solange anhält, wie ein entsprechender Östrogenspiegel im Blut vorhanden ist. Auch dabei ist mit beträchtlichen Östrogenrückständen im Fettgewebe zu rechnen. Während die Geflügelmast mit Östrogenen in vielen Staaten verboten wurde, unterliegt die hormonale Kastration von Ebern in den meisten Staaten keiner speziellen lebensmittelhygienischen Regelung.

Für die Mast, insbesondere von Rindern, sind auch Thyreostatika in Form von Thiouracilen empfohlen worden. In wirksamen Dosen verursachen diese Stoffe, abgesehen von ihrem zweifelhaften Masteffekt, nicht nur in der Schilddrüse, sondern auch im gesamten Körperfett beachtliche Rückstände, weshalb die Verwendung dieser Stoffe in der Tiermast abzulehnen ist.

Soweit spezielle endogen verursachte Rückstandsfragen. Endogen bedingt kann es auch zu verschiedenen sensorischen Veränderungen des Fettgewebes kommen. In Betracht kommen Farb- sowie Geruchs- und Geschmacksveränderungen, die verschiedene Ursachen haben können. Gelbverfärbungen von Depotfetten können sowohl fütterungsbedingt sein, z.B. durch Anreicherung von Carotinen, als auch krankhafte Ursachen, wie Ikterus, haben. Vitamin-E-Mangel kann die "gelbe Fettkrankheit" (yellow fat disease) verursachen. Für die Differenzierung zwischen ikterischer Verfärbung und der fütterungsbedingten Gelbfärbung des Fettes gibt es eine Reihe einfacher, jedoch nicht immer zuverlässiger Methoden, die im Rahmen der Fleischschau Anwendung finden.

Geruchsabweichungen können mannigfaltige Ursachen haben. Sie können durch Verfütterung von Fischmehl mit zu hohem Trananteil, von Pflanzenbestandteilen mit stark riechenden fettlöslichen Stoffen oder von verdorbenen Schlacht- und Küchenabfällen, ferner durch Aufnahme anderer stark riechender fettlöslicher Stoffe hervorgerufen werden. Auch bestimmte Krankheitszustände können zu erheblichen Geruchsabweichungen auch im Fett führen.

Besondere Bedeutung kommt dem Geschlechtsgeruch vor allem im Fettgewebe männlicher Schweine zu. Zwei der in diesem Sitzungsabschnitt zu besprechenden Arbeiten sind diesem Problem gewidmet. Ich werde bei der Besprechung dieser Arbeiten auf die damit zusammenhängenden Fragen noch näher eingehen.

Endogene Faktoren für die hygienische Beschaffenheit tierischer Fette im weitesten Sinne sind auch solche, welche die Belastbarkeit der Fettgewebe bei der Lagerung und Verarbeitung negativ beeinflussen. Die stark unterschiedliche Neigung tierischer Fettgewebe zur Verderbnis hat bekanntlich verschiedene Ursachen: Von Bedeutung ist der Gehalt an ungesättigten Fettsäuren, der vor allem in Abhängigkeit von der Fütterung großen Schwankungen unterliegen kann. Ferner fördern gewebseigene Lipasen und Hämverbindungen die Verderbnisbereitschaft. Ob auch gewebseigene Oxidasen von Bedeutung sind, ist nicht eindeutig geklärt; spezifische Lipoxidasen sind bisher im tierischen Gewebe nicht nachgewiesen worden. Auch Mangel an Gewebskatalase kann die Lagerfähigkeit der Fette erniedrigen. Schließlich ist Vitamin-E-Mangel als endogener Faktor für Fettverderbnis zu nennen. Bei Mangel an Vitamin E soll nach Tappel (Hämatin Compounds and Lipoxidase as biocatalysts. AVI Publ.Co. Westpoint Connect. 1962) häufig und verstärkt hämatinkatalysierte Fettoxidation eintreten. Die Gelbverfärbung bei länger gelagertem Fettgewebe ist ebenfalls auf mangelhaften endogenen

Oxidationsschutz zurückzuführen. Da durch die endogenen Faktoren die Lagerfähigkeit tierischer Fettgewebe außerordentlichen Schwankungen unterliegt, wäre es wünschenswert und von hohem sowohl wirtschaftlichem als auch hygienischem Wert, Methoden zu erarbeiten, die eine Vorhersage über die Lagerfähigkeit von Fettgeweben erlauben.

Die Frage der Fettverderbnis in Form der hämatinaktivierten Oxidation spielt auch bei magerem Fleisch und bei Fleischprodukten eine beachtliche Rolle, wobei allerdings über endogene Faktoren bisher wenig bekannt ist.

Nun zu exogenen Faktoren, welche die hygienische Beschaffenheit der tierischen Fette zu beeinflussen vermögen.

Die Fettverderbnis wird bekanntlich von einer Reihe äußerer Einflüsse gefördert oder verursacht. Die spontane Oxidation durch molekularen Sauerstoff wird als Autoxidation bezeichnet und durch sogenannte Prooxidantien ausgelöst und beschleunigt. Als Prooxidantien gelten Licht, Temperatur und Metalle wie Kupfer, Eisen, Kobalt, Mangan und deren Salze, ferner Lipochrome wie Carotinoide, aber auch Kochsalz und Pökelsalz. Wegen der hohen Energie, die zur Spaltung von O_2 erforderlich ist, werden zunächst organische Peroxide vor allem in Form von Hydroperoxiden gebildet. Die im Gefolge auftretenden Umsetzungsprodukte sind zahlreich und stellen teilweise nur Übergangsstadien dar. Bei der Autoxidation der Fette bilden zwar die ungesättigten Fettsäuren den Hauptangriffspunkt, aber auch gesättigte Fettsäuren sind, insbesondere unter katalytisch wirkenden Umständen, der Autoxydation zugänglich.

Bei Fettgeweben von Schlachttieren und insbesondere bei Fleisch kommt, wie schon erwähnt, auch der hämatingekatalysierten Oxidation Bedeutung zu. Als besonders oxidationsanfällig gelten die Muskellipide, die integrierende Bestandteile verschiedener

Zellstrukturen wie der Zellwände, der Muskelfasern, der Mitochondrien und der Mikrosomen sind. Die Oxidationsanfälligkeit der Muskellipide beruht auf ihrem hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten Fettsäuren und darauf, daß durch den unmittelbaren Kontakt mit Hämverbindungen wie Myoglobin, Hämoglobin und Cytochrom C, die Oxidation dieser mehrfach ungesättigten Fettsäuren besonders leicht katalysiert wird. Die hämatinkatalysierte Oxidation weist eine wesentlich kürzere Induktionsperiode auf als die Autoxidation, was auf die relativ niedrige Aktivierungsenergie der hämatinkatalysierten Oxidation zurückzuführen ist. In diesem Zusammenhang verdient auch das erstmals von Watts (Meat Products In: Lipids and their Oxidation, AVI Publ.Co Westpoint Conn. 1962) festgestellte Phänomen besondere Beachtung, wonach vorgekochtes mageres Fleisch wesentlich rascher ranzig wird als rohes Fleisch. Die prooxidative Wirkung des Erhitzens wird damit erklärt, daß die im Fleisch vorhandenen antioxidativ wirkenden Substanzen durch Erhitzen inaktiviert werden. Die Oxidation der Muskellipide ist nicht nur wegen der Verderbnis, sondern auch in ernährungsphysiologischer Beziehung von Bedeutung, da die Muskellipide für den Menschen eine wichtige Quelle an mehrfach ungesättigten Fettsäuren darstellen. Die Oxidation der Muskellipide kann den Anteil an mehrfach ungesättigten Fettsäuren beträchtlich vermindern.

Die hämatinkatalysierte Fettoxidation spielt bei den Depotfetten zwar eine geringere Rolle als beim Muskelfleisch, weil in den Depotfetten nennenswerte Mengen an Hämverbindungen fehlen und weitaus weniger mehrfach ungesättigte Fettsäuren vorliegen, sie kann aber bei Speck vor allem dann eine gewisse Rolle spielen, wenn infolge zu heißen Brühens der Schweine und damit durch Lähmung der Haut- und Unterhautgefäße in diesem Bereich größere Restblutmengen verbleiben, die bei der Lagerung langsam in das Fettgewebe diffundieren und dann die katalytische Wirkung des Hämoglobins zum Tragen kommt.

Durch Gefrieren wird zwar die hämatinkatalysierte Fettoxidation praktisch zum Stillstand gebracht, sie verläuft aber nach dem Auftauen beschleunigt (Watts, B.M., Proc.Flavor Chem.Symp. S.83, Camden, N.J.: Campell Soup Co. 1961).

Durch Pökelsalz wird die Hämkatalyse unterdrückt, gleichzeitig aber die Autoxidation gefördert, die auch bei tiefen Temperaturen abläuft. Besonders bemerkenswert erscheint mir die von Tims und Watts (Food Technol. 12 (1958), 240) gemachte Beobachtung, daß kondensierte Phosphate, insbesondere Triphosphat, die hämaktivierte Fettoxidation im Fleisch unterdrücken. So soll nach Watts (1962, s.o.) sogar mit 0,01 %iger Triphosphat-Lösung noch ein ausreichender Oxidationsschutz in gekochtem Fleisch erzielt werden. Merkwürdigerweise hat diese für die Haltbarkeit von Fleischfertiggerichten doch sehr interessante Feststellung bisher nur wenig Beachtung gefunden. Im Gegensatz zu kondensierten Phosphaten bieten echte Antioxidantien keinen ausreichenden Schutz gegen hämaktivierte Fettoxidation.

Wenngleich bei der Fettverderbnis mikrobielle Prozesse hinsichtlich der Häufigkeit des Vorkommens gegenüber den abakteriellen Prozessen weit in den Hintergrund treten, so ist der mikrobielle Verderb von tierischen Fetten doch auch ein beachtliches Problem.

Die Wirkung von Mikroorganismen auf Fette hat Jensen (Microbiology of Meats, The Garrard Press, Champaign, Ill. USA, 1954) wie folgt eingeteilt:

1. Hydrolyse durch Freisetzung von Fettsäuren;
2. Induktion oxidativer Ranzigkeit;
3. Talgigwerden durch Oxidation.

Die hydrolytische Spaltung der Fette durch Mikroorganismen ist schon lange bekannt. Diese Reaktion wird auf die Wirkung bakterieller lipolytischer Enzyme zurückgeführt, die von

zahlreichen Mikroorganismen gebildet werden können. Hier sind u.a. Bazillen, Staphylokokken, Mikrokokken, Proteus-Arten, Pseudomonaden, Achromobakter und Aeromonas sowie Hefen und Schimmelpilze zu nennen. Die bakteriellen Lipasen besitzen multiple Enzymformen, es handelt sich also um multiple isodynamische Lipaseformen. So konnten in Präparaten von *Pseudomonas aeruginosa* (Sierra, G: Autonie von Leeuwenhoch 23 (1957), 241), *Mykobakterium phlei* (Myers, D.K: Biochem.J 65 (1957), 223) und in Sporen von *Bazillus coagulans* (Roberts. T.L, und H. Rosenkrantz: Biochem.J. 44 (1966), 671) jeweils mehrere isodynamische Lipaseformen nachgewiesen werden. Die mikrobielle Fetthydrolyse ist durch Zunahme der Säurezahl des Fettes gekennzeichnet, wobei aber im Gegensatz zur rein enzymatischen Hydrolyse das freiwerdende Glycerin von den Mikroorganismen in der Regel metabolisiert wird.

Die meisten bakteriellen Lipasen zeigen im pH-Bereich um 7 optimale Wirkung, es gibt aber auch Lipasen mit optimaler Wirksamkeit bei niedrigeren pH-Werten (*Aspergillus niger*, *Candida lipolytica*), selten auch bei höheren pH-Werten. Die Bakterien-Lipasen weisen im Gegensatz zu Schimmelpilz-Lipasen eine auffallend hohe Thermostabilität auf. So wurde selbst nach einstündigem Kochen in Medien, die Bakterien-Lipase enthielten, keine komplette Inaktivierung erreicht. Mikrobielle Lipasen können auch noch bei sehr tiefen Temperaturen Aktivität zeigen. So haben Lipasen von *Penicillium roqueforti*, *Pseudomonas fragi*, *Staph. aureus* und *Candida lipolytica* nach Untersuchungen von Alford und Pierce (Food Sci. 26 (1961) 518) selbst bei -29°C noch meßbare Aktivitäten gezeigt.

Bei ausschließlicher Hydrolyse tierischer Fette sind, mit Ausnahme bei Milchfett, in der Regel keine Geruchs- und Geschmacksabweichungen festzustellen, wenn sich die Fettspeicherung in Grenzen hält. Lediglich bei Fetten mit niedermolekularen Fettsäuren, wie Butter und Margarine, ist mit erheblichen

Geschmacksabweichungen infolge Bildung freier Butter-, Capron-, Capryl- und Caprinsäure zu rechnen. In tierischen Fetten kann es aber zu Konsistenzmängeln kommen. Besonders bei fermentierten Rohwürsten ist die Bildung einer ölig-klaren Flüssigkeit, bestehend aus freien Fettsäuren, Glyceriden und Glycerin, die auf Schnittflächen austritt und an der Oberfläche ausgeschwitzt wird, ein bekannter Mangel, der meist durch fettspaltende Hefen hervorgerufen wird.

Die Angriffspunkte der Lipasen im Fettmolekül sind zum Teil unterschiedlich. Während die meisten mikrobiellen Lipasen ebenso wie die Pankreaslipase nur die 1- und 3-Position der Fettsäuren im Triglyzerid angreifen, spalten *Aspergillus flavus* und *Staphylococcus aureus* vorzüglich auch die in Position 2 stehende Fettsäure ab.

Mikrobielle Lipasen weisen auch noch andere Substrat-spezifische Eigenschaften auf. So hängt das Ausmaß der Lipolyse durch bestimmte Mikroorganismen auch von der Kettenlänge der Fettsäuren und davon ab, ob es sich um gesättigte oder ungesättigte Fettsäuren handelt.

Der weitere mikrobielle Abbau der hydrolytisch freigesetzten Fettsäuren kann auf unterschiedliche Weise erfolgen. Einerseits kann es zur Methylketonbildung kommen, indem die freien Fettsäuren in β -keto-Säuren umgewandelt und decarboxiliert werden. Die als "Parfüm-" oder Ketonranzigkeit" bekannte mikrobielle Methylketonbildung soll lediglich bei Fettsäuren mit bis zu 14 C-Atomen auftreten. Smith und Alford (*J. Food Sci.* 34 (1969), 75) konnten aber nachweisen, daß bestimmte Mikroorganismen auch in Schweineschmalz mit nahezu ausschließlich höherkettigen Fettsäuren Methylketone bilden können. So führen *Pseudomonas fragi*, *Geotrichum candidum* und *Candida lipolytica* in frischem Schweineschmalz zur Methylketonbildung. Andere Mikroorganismen, z.B. *Aspergillus flavus*, können nur dann Methylketone bilden,

wenn bereits im Fett Peroxide vorhanden sind, wenn also das Fett schon einen gewissen Ranzigkeitsgrad erreicht hat. Methylketonbildung ist auch bei Rohwürsten beobachtet worden. Bei der mikrobiellen Methylketon-Bildung treten in der Regel auch gesättigte Kohlenwasserstoffe auf, die durch einfache Decarboxilierung entstehen (Smith und Alford, siehe oben).

Bestimmten Mikroorganismen wird auch die Fähigkeit zugesprochen, oxidative Prozesse zu induzieren, sei es durch Bildung von Lipoxidasen, wie sie auch in verschiedenen höheren Pflanzen vorkommen, oder sei es durch lipoxidaseähnliche Aktivitäten, die als Lipoxigenasen bezeichnet werden. Tappel (A.L. Lipoxidase in "The Enzymes" Vol.8, Acad.Press N.Y. 1963, S.275-283) hat jedoch postuliert, daß es für das Vorkommen von Lipoxidasen in Mikroorganismen keinerlei Anhaltspunkte gäbe, obwohl andere Untersucher behaupten, in Aspergillus, Penicillium, Pseudomonas und Achromobakter Lipoxidasen festgestellt zu haben (Mukherjee S., Arch.Biochem. 33 (1951), 364; Fukuba H., J. Agr.Chem.Soc. Japan, 26 (1952), 167; Shimahara K., J.Ferment. Technol. 44 (1966), 230).

Einige Autoren (Jensen, 1954, s.o.; Castell C.H., and E.H. Garrard, Canad.J.Res. 19 (1941), 106) waren der Meinung, daß Mikroorganismen, die gleichzeitig Lipase und Oxidase bilden, für die Ausbildung von oxidativer Ranzigkeit verantwortlich seien. Smith und Alford (s.o.) haben aber diese Vermutung widerlegt, indem sie zeigen konnten, daß zwischen der Produktion von Lipase und Oxidase durch Mikroorganismen und deren Fähigkeit zur Beschleunigung der Peroxidbildung sowie der Bildung von Monocarbylen, welche die oxidative Ranzigkeit bewirken, kein ursächlicher Zusammenhang besteht. So beschleunigt Micrococcus freudenreichii in frischem Schweineschmalz die Bildung von Peroxiden und bildet Monocarbyle, produziert aber weder Lipase noch Oxidase. Die Oxidase-Reaktion kann also keine

zuverlässige Auskunft darüber geben, ob ein Stamm in der Lage ist, Fett zu oxidieren oder nicht. Die mikrobiell verursachte oxidative Ranzigkeit ist sehr komplexer Natur und trotz zahlreicher wissenschaftlicher Untersuchungen die Vielfalt der Reaktionen auch heute noch nicht überschaubar.

Dem mikrobiellen Fettabbau kommt nicht nur im Zusammenhang mit der Fettverderbnis bei der Vorratshaltung tierischer Fette Bedeutung zu, sondern auch bei der Fermentation von Fleischwaren. So wird die Aromabildung in länger gereiften Fleischwaren vor allem auf die Freisetzung von aromatischen Fettabbauprodukten zurückgeführt. Hiefür wurden sowohl hydrolytische als auch oxidative Vorgänge verantwortlich gemacht. Wegen der Komplexität der Fermentation konnte aber bisher die Folge der Reaktionsabläufe noch nicht befriedigend aufgeklärt werden. Fest steht jedoch, daß es bei der Fermentation von Fleischwaren zu einer Freisetzung von Fettsäuren kommt. Es sei in diesem Zusammenhang auf Arbeiten von Nurmi und Niinivaara (X. Tagung europäischer Fleischforscher in Roskilde 1964), von Patterson und von Cantoni und Mitarb. (XI. Tagung europäischer Fleischforscher in Belgrad 1965) verwiesen, die bei den Fleischforscherkongressen in Roskilde und Belgrad präsentiert wurden, ferner auf Arbeiten von Poja und Niinivaara (Fleischwirtschaft 16(1964), 435), Terplan (Biologische chemische und physikalische Vorgänge bei der Herstellung von gepökelten und gereiften Fleischwaren, Verlag Röttger, München 1969) und viele andere. Die überwiegende Zahl der aus Rohwürsten isolierten Mikroorganismen vermögen Fett zu spalten. So fand Terplan bei 42 aus Rohwürsten isolierten Keimarten und -stämmen nur 7 Stämme (Streptokokken, einige Mikrokokkenarten und 1 Sarcinastamm), die keine lipolytischen Eigenschaften aufwiesen. In den meisten Fällen war auch die Bildung aromatischer Geruchsstoffe festzustellen, was auf Abbauvorgänge hinweist, die über die Hydrolyse der Triglyzeride hinausgehen. Zahlreiche Carbonylverbindungen aber auch Fettsäuren mit einer Kettenlänge von

weniger als 8 C-Atomen, die in frischem Schweinefett nicht vorkommen, konnten isoliert werden (Cantoni und Mitarb., s.o.) Ockermann und Mitarb. (J. Sci. Food Agric. 29 (1964), 123) haben auch aus fermentierten Schinken eine größere Anzahl von Carbonylen isoliert und identifiziert. Dolezalek und Mitarb. (Sbornik vysoké školy drem. v Praze 4/1 (1960), 137) isolierten aus Salami nach ungarischer Art Methylketone als Aromabildner, worauf ich schon hingewiesen habe.

Die Vielfalt mikrobieller Einwirkungen auf Fette wird dadurch noch erhöht, daß zahlreiche Mikroorganismen in der Lage sind, oxidative Prozesse in Fetten zu unterdrücken oder sogar rückgängig zu machen. So sind zahlreiche Mikroorganismen in der Lage, organische Peroxide zu reduzieren. Diese Fähigkeit wird vor allem mit der Katalasebildung in Zusammenhang gebracht, während der Peroxidase diesbezüglich keine Bedeutung zukommt. Die Rolle der Katalase im Zusammenhang mit der Fettoxidation ist auch Gegenstand der vorliegenden Arbeit von Stoitschev und Mitarb., über die ich noch zu referieren habe.

Zunächst noch einige Anmerkungen zu mikrobiell bedingten Verfärbungen und Bildung und Anreicherung toxischer Stoffe in Fetten.

Bei Farbveränderungen von Fetten durch Mikroorganismen sind bevorzugt Rosa- und Gelb- bis Braunfarbtöne zu beobachten. Eine Reihe mikrobieller Lipochrome, z.B. die Lipochrome der Staphylokokken, sind fettlöslich. Viele mikrobielle Lipochrome ändern unter dem Einfluß von Säuren, Laugen sowie reduzierenden und oxidierenden Substanzen ihre Farbe. So können gelbe Lipochrome in rot, blauviolett oder grün umschlagen. Außer den Rotfarbstoffen Hämin und Nitrosohämochromogen, die in fettsäurehaltiges Fett übertreten können (Terplan, s.o.) werden von Mikroorganismen wie Bazillen, Mikrokokken, Schimmelpilzen und Hefen auch rote oder rosafarbene Pigmente gebildet. Aus dem von

bestimmten Mikroorganismen gebildeten Indol und Skatol entstehen in nitriethaltigen Fleischwaren durch Reaktion mit Nitrit Rosafarbstoffe, bei welchen es sich um "Nitro-Indol" und "Nitroso-Indol-Nitrat" handeln soll. Im allgemeinen sind aber Rotverfärbungen tierischer Fette häufiger abakterieller als bakterieller Natur.

Im Rahmen der Mikrobiologie der tierischen Fette stehen auch Fragen der Toxinbildung zur Diskussion, wobei besonders das Mykotoxin-Problem beachtlich ist. Eine eingehende Besprechung würde aber den Rahmen dieses Referates überschreiten. Außerdem handelt es sich dabei nicht um ein spezifisches Hygieneproblem bei tierischen Fetten, sondern um ein Hygieneproblem bei Lebensmitteln allgemein.

Ein spezielles Hygieneproblem kann aber im Zusammenhang mit der Räucherung entstehen, wenn infolge ungünstiger Räucherbedingungen polycyclische Kohlenwasserstoffe in die Fleischwaren, und, wegen ihrer hohen Fettlöslichkeit, insbesondere in das Fettgewebe übergehen. Auf diesem Gebiet sind in den zurückliegenden Jahren zahlreiche Untersuchungen angestellt und Ergebnisse mitgeteilt worden. Die bisherigen Untersuchungen können dahingehend zusammengefaßt werden, daß nur dann mit nennenswerten Mengen an polycyclischen Kohlenwasserstoffen, vorzüglich im Fettanteil, zu rechnen ist, wenn die Räucherung mit ungeeigneten Räuchermitteln oder wenn sie besonders intensiv und bei hohen Temperaturen durchgeführt wird. So hat sich bei einer in Österreich üblichen intensiven Heißräucherung von Speck u.dgl. gezeigt, daß 3,4-Benzpyren-Rückstände von 10 - 50 ppb relativ häufig vorgekommen sind. Solche Mengen an 3,4-Benzpyren sind im Hinblick auf die mögliche kanzerogene Wirkung dieser Verbindungen nicht tolerierbar. Inzwischen wurden Richtlinien zur Vermeidung hoher Rückstände an polycyclischen Kohlenwasserstoffen ausgearbeitet und die intensive Heißräucherung überhaupt verboten. Außerdem steht für 3,4-Benzpyren ein

Grenzwert von 1 ppb zur Diskussion, der allerdings schon im Bereich der Nachweisgrenze liegt und daher problematisch ist.

Ich möchte nun den Teil der mir übertragenen Aufgabe, eine Übersicht über die Mikrobiologie und Hygiene tierischer Fette zu geben, abschließen und zur Besprechung der vorliegenden Arbeiten kommen.

Die Arbeit von Stoitschev, Djejeva, Radeva und Tschernev aus dem Institut für Fleischwirtschaft in Sofia befaßt sich mit den Ursachen des Vergrauens von Rohwürsten und behandelt in diesem Rahmen auch Fragen des Ranzigwerdens fermentierter Fleischwaren. Die Autoren untersuchten vergleichsweise Rohwürste mit und ohne Farbveränderungen sowie Versuchsproben, denen ein Hefestamm, der als "K₁₂" bezeichnet wurde, zugesetzt worden war. Die Rohwürste wurden am 21. Tag der Reifung untersucht, und zwar auf Katalase- und Peroxidaseaktivität. Ein aus vergrauten Würsten isolierter Hefestamm wurde ebenfalls auf Katalaseaktivität geprüft. Außerdem wurde in dem mit Chloroform extrahierten Fett die Peroxidzahl, die Säurezahl sowie der Gehalt an Thiobarbitursäure bestimmt.

Die Ergebnisse dieser Untersuchung lassen sich wie folgt zusammenfassen (Tab.1):

Die Peroxidase-Aktivität war in der Probe mit normaler Farbbildung am höchsten, in jener mit zugesetztem Hefestamm K₁₂ am niedrigsten, insgesamt aber ausgeglichen. Die Katalase-Aktivität wird von den Autoren als ziemlich hoch bezeichnet. Am geringsten war sie im Kern der vergrauten Rohwurst, während die nicht vergrauten Randbezirke eine nahezu ebenso hohe Katalase-Aktivität aufwiesen wie die Vergleichsprobe mit normaler Farbentwicklung. Die höchste Katalase-Aktivität lag bei der Probe mit dem zugesetzten Hefestamm K₁₂ vor.

Der aus der vergrauten Probe isolierte Hefestamm zeigte bei verschiedenen pH-Werten eine geringe Katalase-Aktivität, insbesondere bei den für die Rohwurstreifung wesentlichen pH-Werten.

Die Säurezahl war bei der Kontrollprobe mit normaler Farbbildung deutlich höher als bei der vergrauten Probe und auch der Probe mit dem Hefestamm K₁₂. Die Peroxidzahl und die Thiobarbitursäurezahl waren in der vergrauten Probe am höchsten, im Kern etwas höher als im Rand, in der Versuchsprobe mit Hefestamm K₁₂ am geringsten.

Die Autoren kommen aufgrund ihrer Ergebnisse zu dem Schluß, daß die verhältnismäßig niedrige Katalase-Aktivität in den vergrauten Würsten für die Vergrauung und den Oxidationsgrad des Fettes verantwortlich ist. Über die oxidationshemmende Wirkung von Katalase ist schon wiederholt berichtet worden. Da die Katalase-Aktivität, vor allem die Gewebeskatalase des Fleisches, vom pH-Wert abhängig ist, wobei Nitrat den pH-Einfluß verstärkt, wäre es vielleicht nützlich gewesen, auch die pH-Werte und die Nitratgehalte der untersuchten Proben zu überprüfen. In diesem Zusammenhang ist auf eine Arbeit von Rozier über die Rolle der Katalase-Aktivität des Fleisches bei der Rohwurst-Fabrikation, erschienen 1971 in der Fleischwirtschaft (1971, 1063) hinzuweisen, in der gezeigt wurde, daß durch starke Säuerung die Gewebeskatalase, deren Wirkungsoptimum bei pH 8,0 liegt, inaktiviert wird und bei Abwesenheit einer entsprechenden katalasebildenden Flora Vergrauung und Fettoxidation auftreten. Die Verfärbungen und Fettveränderungen in schnell gereiften, insbesondere mit Glucono-delta-Lacton hergestellten Rohwürsten hat Rozier vor allem auf die durch starke Säuerung bewirkte Inaktivierung der Katalase zurückgeführt. Im übrigen darf auch auf die beim 15. Europäischen Fleischforscherkongreß 1969 in Helsinki von Wahlroos und Niinivaara mitgeteilten Ergebnisse aufmerksam gemacht werden, die schon damals die negative

Korrelation zwischen Katalase-Aktivität und Peroxidbildung in Rohwürsten nachgewiesen und demonstriert haben.

Nun zu den beiden Arbeiten von Robb, Patton und Weatherup, die dem Vorkommen abnormen Geruches im Fettgewebe von Schlachtschweinen und dem Einfluß von Rasse, Alter und Schlachtgewicht auf die Ausbildung des Geschlechtsgeruches bei Ebern gewidmet sind.

Dazu sollte vorausgeschickt werden, daß männliche unkastrierte Schweine sowohl hinsichtlich ihrer Mastleistung als auch der Schlachtleistung kastrierten männlichen Schweinen und auch weiblichen Schweinen deutlich überlegen sind (s.a. Witt, M. und J. Schröder, Fleischwirtschaft 49 (1969), 353). Die Vorteile liegen vor allem in rascherem Wachstum und höherer Tagesgewichtszunahme (Abb.2), ferner in wesentlich verbesserter Futtermittelverwertung und in verringertem Speckansatz. Diese Überlegenheit wird auf den anabolen Effekt der Hodenhormone (Androgene) zurückgeführt. Das verstärkte Wachstum setzt etwa mit der 17. Woche, also zum Beginn der Pubertät ein. Von diesem Zeitpunkt an kommt es aber auch zur Entwicklung des äußerst unangenehmen urinartigen Geschlechtsgeruches, der die Verwertbarkeit der Schlachtkörper wesentlich einschränkt oder sogar ausschließt (Claus, R. Hülsenberger Gespräche 1973, Verlagsges. f. tierzücht. Nachrichten, Hamburg). Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, den Geschlechtsgeruch zu unterdrücken, ohne die Androgenwirkung zu vermindern, bisher aber ohne durchschlagenden Erfolg.

Patterson (J.Sci.Food Agric. 19 (1968), 31) konnte 1968 jene Substanz identifizieren, die für den Geschlechtsgeruch der Eber verantwortlich ist. Es handelt sich um das Δ 16-Androsten-3-on, ein C 19-Steroid, das dem Testosteron ähnlich ist (Abb.3), jedoch keine androgene Wirkung aufweist.

Die erste Arbeit von Robb, Patton und Weatherup ist der Feststellbarkeit und der Differenzierbarkeit abnormer Gerüche im Fett von Schlachtschweinen gewidmet, wofür geübte Prüfergruppen eingesetzt wurden. Geprüft wurde das Fett von männlichen unkastrierten und kastrierten Schweinen sowie von weiblichen Schweinen mit einem Schlachtgewicht von 63,5 - 72,6 kg. Bei den Schweinen handelte es sich um solche der Landrasse (Landrace) und Large White sowie Kreuzungen davon. Das Alter betrug bei den Ebern 150 - 180 Tage, bei den Kastraten und weiblichen Schweinen ca 180 Tage. Die Prüfung erfolgte unter standardisierten Bedingungen, wobei frische Schnittflächen des Fettgewebes vom Schulterbereich mit einem heißen Eisen von ca 160 - 180°C 3 - 5 Sekunden erhitzt und unverzüglich der Geruch festgestellt wurde. Die Testpersonen hatten festzustellen, ob abnormer Geruch vorlag oder nicht, gegebenenfalls den Typ des abnormen Geruches anzugeben und, sofern Geschlechtsgeruch vorlag, dessen Stärke in einer 3-stufigen Notenskala auszudrücken. Die statistische Auswertung erfolgte hinsichtlich der Feststellbarkeit des Geschlechtsgeruches und sekundärer Faktoren wie Tageszeit der Prüfung (vormittags oder nachmittags), Einfluß der Prüfer sowie verschiedener Interaktionen.

Bei Ebern wurden erwartungsgemäß signifikant höhere Werte für abnormen Geruch gefunden als bei Kastraten und weiblichen Schweinen, wobei sich auch gezeigt hat, daß der vorherrschende abnorme Geruch bei Ebern als Geschlechtsgeruch identifiziert wurde. Nicht geschlechtsgebundene Geruchsabweichungen waren bei allen drei Gruppen etwa gleich, in einem Betrieb bei Ebern etwas häufiger als bei Kastraten. Bei allen Ebern war die Note für Geschlechtsgeruch größer als 0, was bedeutet, daß bei allen Ebern Geschlechtsgeruch festgestellt wurde. Im Vergleich dazu sollen bei holländischen Untersuchungen von 2200 Ebern 93 % keinen feststellbaren Geschlechtsgeruch aufgewiesen haben (Walstra, P. Livestock Production Science 1 (1974), 187). Die

Tatsache, daß in einer Prüfgruppe höhere Werte für den Geschlechtsgeruch ermittelt wurden als in den anderen Gruppen, hat die Autoren veranlaßt, bei der Bewertung und Interpretation der Ergebnisse hinsichtlich der Stärke des Geschlechtsgeruches zur Vorsicht zu mahnen. Als sehr interessant bezeichnen die Autoren die Tatsache, daß auch bei Kastraten und weiblichen Schweinen Ebergeruch in signifikanten Intensitäten festgestellt wurde, obwohl nach Patterson bei diesen Tieren Δ 16-Androsten-3-on nicht nachweisbar ist.

In der zweiten Arbeit haben Robb, Patton und Weatherup den Einfluß der Rasse, des Alters und des Schlachtgewichtes auf die Ausbildung abnormen Geruches und speziell des Geschlechtsgeruches geprüft und folgendes festgestellt:

1. kein signifikanter Unterschied zwischen den geprüften Rassen Landrace und Large White (I und II)
2. signifikant höhere Anteile der Geruchsabweichungen bei schnellwüchsigen Schweinen, die schon nach 140 - 150 Tagen das Schlachtgewicht (63,5 - 68 kg) erreicht hatten (I, II), im Vergleich zu Schweinen, die erst nach 180 - 200 Tagen das genannte Schlachtgewicht erreicht haben (III) und auch im Vergleich zu leichteren Schweinen verschiedenen Alters (IV)
3. kein signifikanter Unterschied zwischen Schweinen, die erst nach 180 - 200 Tage das Schlachtgewicht erreicht haben (III) und leichteren Schweinen unterschiedlichen Alters (IV) und
4. signifikant höhere Anteile der Geruchsabweichungen bei allen Ebern als bei allen kastrierten und weiblichen Schweinen.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, daß der Ebergeruch umso stärker ausgeprägt ist, je größer die Wachstumsrate bis zum Schlachtgewicht von ca 63 bis 68 kg ist.

Diese Ergebnisse stehen in Widerspruch zu jenen von Elsley und Livingstone (Meat Production from Entire Male Animals, ed.

D.N.Rhodes, p.273. London: Churchill), die bei 155 - 288 Tage alten Ebern mit einem Lebendgewicht von 92 kg keine Unterschiede in der Intensität des Geschlechtsgeruches feststellen konnten. Robb, Patton und Weatherup erklären diesen Widerspruch damit, daß bei den Untersuchungen von Elsley und Livingstone die Geruchsprüfungen bei einer Temperatur des Fettes von nur 110°C durchgeführt wurde und bei Temperaturen unter 150°C die Feststellung des Ebergeruches erschwert ist.

Wie die Autoren weiter anführen, hängt die große Variation in der Wachstumsrate von Ebern bis zum Erreichen des für die Bacon-Produktion erwünschten Schlachtgewichtes weitgehend ab

1. von genetischen Faktoren, welche die Futtermittelverwertung kontrollieren,
2. vom Typ des Futters und
3. von Haltungsbedingungen.

Da der Weg, auf welchem die männlichen Sexualhormone in den Ebergeruchsstoff umgewandelt werden, zur Zeit noch nicht klar sei und daher detaillierte Studien der biochemischen Zusammenhänge zwischen Hormonstoffwechsel und Wachstumsrate schwierig seien, werden die Autoren ihre weitere Arbeit vorerst auf die Entwicklung des Ebergeruches in drei großen Gruppen von Ebern, gezüchtet auf verschiedene Wachstumsraten und unter genauen Fütterungs- und Haltungsbedingungen, konzentrieren.