

ÜBERLEBEN VON CLOSTRIDIUM BOTULINUM TYP B IM MIT NITRAT UND NITRIT GEPÖKELTEN ROH-SCHINKEN

M. DELÉNYI, A. CSIBA, Z. KORITSÁNSZKY

Ungarisches Forschungsinstitut für Fleischwirtschaft, Budapest, Ungarn

Einleitung

Es ist schon mit zahlreichen Experimenten dokumentiert, in welchem Masse Nitrit, gemeinsam mit anderen Parametern, den Auswuchs und Toxinbildung von *Cl. botulinum* in verschiedenen Modellsystemen und Lebensmitteln beeinflusst /1,2,6,7,8,11/. Viele wissenschaftlichen Arbeiten befassen sich auch mit dem Botulismus-Risiko in Fleischwaren /4,5,9,10,12,13,14,15,20/ jedoch der Kreis der Veröffentlichungen über *Cl. botulinum*-Toxinbildung in Rohschinken ist verhältnismässig eng /15,16,21/.

Aus toxikologischen, technologischen und anderen bekannten Gründen wird es bestrebt, auch zur Herstellung von Rohschinken möglichst wenig Nitrit zu verwenden /16/. Das erzielt auch die früher in unserem Institut erarbeitete Nitrit-Gleichgewicht-Pökelmethode, die eine genauere und niedrigere Nitritniveau-Einstellung ermöglicht.

In einer vorhergehenden Arbeit /17/ haben wir das Benehmen von enterotoxinbildenden *Staphylococcus aureus*-Stämmen in Rohschinken geprüft, die einerseits mit dem traditionellen Nitrat-Pökelverfahren, andererseits unter Bedingungen der erwähnten Nitrit-Pökelmethode gepökelt worden waren. Mit der vorliegenden Arbeit hatten wir die Absicht, die zwei Methoden vom Gesichtspunkt der Botulismus-Gefahr aus zu untersuchen und mehr Information über das Schicksal von *Cl. botulinum*-Sporen in diesem Fleischwaren-Typ zu erhalten.

Materialien und Methoden

Wir haben 1 kg-Schweinemuskelstücke /*M. semimembranosus*/ mit *Cl. botulinum* B-Sporen beimpft und mit drei verschiedenen Pökelsalzen /Kochsalz, Nitritsalz, Nitratsalz/ zunächst trocken, dann auch nass gepökelt. Die Trockenpökung dauerte vier Tage bei 7°C, die nasse 10 Tage wieder bei 7°C. Die Experimente wurden in drei Serien ausgeführt. Die wichtigsten Ausgangsparameter sind in Tab. 1. zusammengefasst. Die umgeröteten Muskelstücke wurden 6 Stunden bei 40°C wärmebehandelt und 12 Stunden bei 20°C getrocknet, nach Pökung. Es folgte nachher eine Lagerung von ca. einem Monat. Beim Auswahl der pH-Werte der Fleische, der Temperaturwerte der Pökung, Wärmebehandlung und Lagerung sowie teilweise auch der Sporenkonzentration /19/ wurden absichtlich relativ "Clostridium-fördernde", aber im Herstellungs- und Lagerungspraxis nicht ausschliessbare Parameter gewählt /DFD-Fleische, Lagerung bei Zimmertemperatur usw./. Während der Lagerung wurde in ca. eine-Woche-Intervallen pH, Kochsalz-, Wasser-, Nitrit- und Nitratgehalt und eventuelle Toxizität der Proben festgestellt. Sporenzahl wurde in S. 2. und 3., jedoch nicht in S. 1. bestimmt. Bei a_w handelt es sich um errechnete Werte /18/, Kochsalz-, Nitrit- und Nitratgehalt wurde nach den ungarischen Standards bestimmt. Der Maustest wurde mit drei parallelen Mäusen durchgeführt, ^{von} fallen wenigstens zwei Mäuse wurde als positiv beurteilt. Als Kontrolle dienten andere drei Tiere, auch mit Antitoxin /Serum Antibotulique A+B, Inst. Pasteur/ geimpft. Die Sporenzahl wurde im Sulfit Agar, nach Hitzebehandlung /85°C, 20 Min./ und Homogenisierung /Ultra-Turrax TP 18/10, Janke-Kunkel KG, Staufen/ bestimmt. Die Röhre wurden bis 10 Tage bei 37°C inkubiert. Proben für alle Untersuchungen wurden aus dem Kern der Schinken genommen. Der Verlauf der Kochsalz- und Nitritwerte ist in Abb. 1-3, die übrigen Werte sind in Tab. 2-4 dargestellt.

Ergebnisse und Diskussion

Bei S. 1. fand eine ausdrückliche Toxinbildung statt bei allen Proben während der ganzen Lagerungsperiode, ungeachtet der Nitrit- bzw. Nitratzugabe. Anhand der gemessenen Kochsalz- und Wassergehalt-Werte /langsamere Trocknung/, der relativ hohen Temperatur

und massiven Beimpfung kann wahrscheinlich vor allem Auskeimung und Toxinbildung erklärt werden. In S. 2. und 3. konnten keine toxischen Proben gefunden werden. Proben der S. 2. enthielten entweder keine oder nur wenige $/0,5-0,9 \times 10^1/g/$ auskeimungsfähigen Sporen, in S. 3. war eine Erhöhung der positiven Röhre $/bis\ 80\%/$ und auch der Sporenzahl $/mehrmals\ 10^2/g/$ zu registrieren.

Als Ergänzung der Experimente in S. 3. ab Tag 14. wurde die Lagerungstemperatur bei vier Schinken auf $22^\circ C$ erhöht. Die Proben wurden dann separat gelagert und wie die übrigen analysiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 4. und Tab. 5. veranschaulicht. Es ist ersichtlich, dass sich die Zahl der ausgekeimten Sporen vergrößerte und bei der toxischen Probe $/die\ Toxizität\ wurde\ viermal\ mit\ zwei\ verschiedenen\ Filtraten\ kontrolliert/$ am höchsten liegt. Es ist demnach möglich, dass bei DFD-Fleischen und etwa "Clostridium-freundlichen" Herstellungs- und Lagerungsbedingungen eventuell toxische Schinken vorkommen, die sonst nicht oder kaum Zeichen des Verderbs aufweisen. Es ist fraglich, ob es auch hier um die gleiche Erscheinung geht die schon von deutschen Forschern festgestellt wurde $/15/$. Da immer neue $/nicht\ identische/$ Schinken analysiert wurden und die Experimente limitiert waren, kann man nicht eindeutig darauf schliessen, ob Toxinbildung schon früher oder später, von der Temperaturerhöhung beeinflusst, erfolgte $/7/$. Bemerkenswert ist, dass die Charakteristiken $/Nitrit,\ Kochsalz,\ a_w\ usw./$ der toxischen Probe in Nährmedien oder verschiedenen Fleischprodukten schon weitaus hemmende Wirkung haben. Folglich scheinen die Resultate von Modell-Experimenten in Rohschinken nicht unbedingt gültig zu sein.

Table 1.

Curing materials, concentration of spores, storing temperature

	Series 1.	Series 2.	Series 3.
Curing m. ^a	<u>Dry curing</u>		
	Control: 40 g NaCl ^b		
	Nitrite c.: 34g NaCl/NaNO ₂ salt mixture ^c + 6g NaCl		
	Nitrate c.: 40 g NaCl + 0,8g KNO ₃		
	<u>Cover curing</u>		
	Control: 55g NaCl + 453g water		
	Nitrite c.: 48,4g NaCl/NaNO ₂ salt mixture ^c + 453g water		
	Nitrate c.: 55g NaCl + 1,14g KNO ₃ + 453g water		
Concentr. of spores ^d	$3,2 \times 10^2$	$1,2 \times 10^0$	$1,6 \times 10^1$
Storing temp.	$22^\circ C$	$14^\circ C$	$17^\circ C$

a - equal at all series

b - values of all curing materials refer to 1000g meat

c - with 0,5% nitrite content

d - per g meat; it is to consider that spores were injected rather in deeper regions of meats and it is difficult to achieve a homogene distribution of spores with injection

Literatur

- 1/ Albalas, B. and Roberts, T.A. /1977/ Acta Microbiol. Hellenica 22, 286-293
- 2/ Sofos, J.N., Busta, F.F. and Allen, C.E. /1980/ J. Food Sci. 45/1/: 7-12
- 3/ Monsanto Co.-Proposal /1978/, Proposal for Addition of Potassium Sorbate to Pickling Brine for Bacon
- 4/ Tompkin, R.B., Christiansen, L.N. and Shaparis, A.B. /1978/ Appl. Env. Microb. Vol. 35, No. 5, 886-889
- 5/ Lee, S.H., Cassens, R.G. and Sugiyama, H. /1978/ 24th Europ. Meeting of Meat Res. Workers, 1978, Moscow
- 6/ Baird-Parker, A.C. and Barbara Freame /1967/ J. appl. Bact. 30 /3/ 420-429
- 7/ Roberts, T.A., Jarvis, B., Rhodes, A.C. /1976/ J. Food Technol. 11, 25-40
- 8/ Roberts, T.A., Ingram, M. /1973/ J. Food Technol. 8, 467-475
- 9/ Ihstad, G.O., Cervený, I.G., Trenk, H., Deibel, R.H., Kautter, D.A., Fazio, T., Johnston, R.W., Kolari, O.E. Appl. Microb. 26: 22-26
- 10/ Christiansen, L.N., Tompkin, R.B., Shaparis, A.B., Johnston, R.W., Kautter, D.A. /1975/ J. Food Sci. 40: 488
- 11/ Sofos, J.N., Busta, F.F., Allen, C.E. /1979/ J. Food Sci. 44: 1267-1271
- 12/ Tompkin, R.B., Christiansen, L.N., Shaparis, A.B. /1977/ J. Food Sci. 42: 1046
- 13/ Lechowich, R.V., Brown, W.L., Deibel, R.H., Somers, I.I. /1978/ Food Techn. May 1978, 45
- 14/ Christiansen, L.N., Johnston, R.W., Kautter, D.A., Howard, I.W. /1973/ Appl. Microb. 25: 357
- 15/ Lücke, F.-K., Hechelmann, H., Albertz, Renate, Dresel, J., Kintzel, Edith, Promuschel, Sonja und Leistner, L. Bundesanstalt für Fleischforschung in Kulmbach, Jahresbericht 1979
- 16/ Leistner, L., Hechelmann, H., Albertz, Renate, Promuschel, Sonja und Dresel, J. Bundesan. f. Fleischf. in Kulmbach, Jahresb. 1979
- 17/ Delényi, M., Incze, K. /1980/ 26th Europ. Meeting of Meat Res. Workers, 1980, Colorado Springs
- 18/ Demeyer, D. /1979/ Fleischwirtschaft 59 /7/: 940
- 19/ Roberts, T.A., Smart, J.L. /1976/ J. Food Technol. 11: 229-244
- 20/ Incze, K., Delényi, M. /1979/ 25th Europ. Meeting of Meat Res. Workers, 1979, Budapest
- 21/ Sebald, M. /1970/ Bull. Acad. Nat. Méd. 154: 703-707

Days	14.			20.			35.			42.		
	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3
Mois- ture%	72,73	73,57	72,49	72,16	73,08	71,90	71,81	72,36	70,85	71,62	71,17	70,44
a _w	0,935	0,937	0,936	0,929	0,923	0,930	0,926	0,924	0,940	6,74	7,08	7,19

table 2. Parameters of cured meat during storage
Values of pH and nitrate were not tested in this series.

Days	14.			28.			35.			42.			49.		
	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3
Mois- ture%	77,5	71,5	70,0	67,6	66,3	67,8	62,5	67,5	66,9	56,7	58,3	59,8	54,7	51,2	53,4
a _w	0,94	0,94	0,95	0,92	0,92	0,92	0,91	0,91	0,92	0,88	0,88	0,90	0,85	0,86	0,87
NaNO ₃	32,7	5	461	5	5	5	10,5	29,2	5	11,9	62,6	165	15,0	14,0	17,2
pH	5,80	5,95	6,05	5,80	5,90	5,90	6,90	6,78	6,52	6,54	6,31	6,28	6,42	6,12	6,05

table 3. Parameters of cured meat during storage

Note 0 = control 2 = cured with nitrite 3 = cured with nitrate

Days	14.			20.			27.			34.			42.		
	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3	0	2	3
Mois- ture%	72,9	71,4	72,3	68,1	67,1	67,9	66,3	66,5	65,2	61,6	62,2	62,4	59,1	59,8	56,7
a _w	0,94	0,94	0,95	0,92	0,92	0,92	0,91	0,92	0,92	0,89	0,89	0,90	0,85	0,86	0,86
NaNO ₃	8,8	5	235	26,4	29,7	72,5	16,6	51,8	56,4	7,0	59,2	172	5	37,0	221
pH	6,04	6,17	6,16	6,54	6,22	5,93	6,59	5,90	6,16	6,36	6,28	6,20	6,20	6,10	6,22

table: 4. Parameters of cured meat during storage.

Days	27.			34.			42.		
	0	2	3	0	2	3	0	2	3
Mois- ture%	65,10	65,06	63,08	59,60	61,90	62,50	58,30	59,40	54,60
a _w	0,909	0,921	0,920	0,881	0,876	0,894	0,844	0,847	0,833
NaNO ₃	39,1	44,6	99,5	5	5	188,0	5	23,0	247,0
pH	6,65	5,95	6,21	6,40	6,40	6,40	6,10	6,30	6,30
Spores per g meat	4 x 10 ²	5 x 10 ³	1 x 10 ²	6 x 10 ²	8 x 10 ¹	2 x 10 ²	3 x 10 ²	4 x 10 ²	2 x 10 ²

table 5. Parameters of cured meat during storage in the supplemental experiment

Note 0 = control 2 = cured with nitrite 3 = cured with nitrate

Figure 1. CONTROL

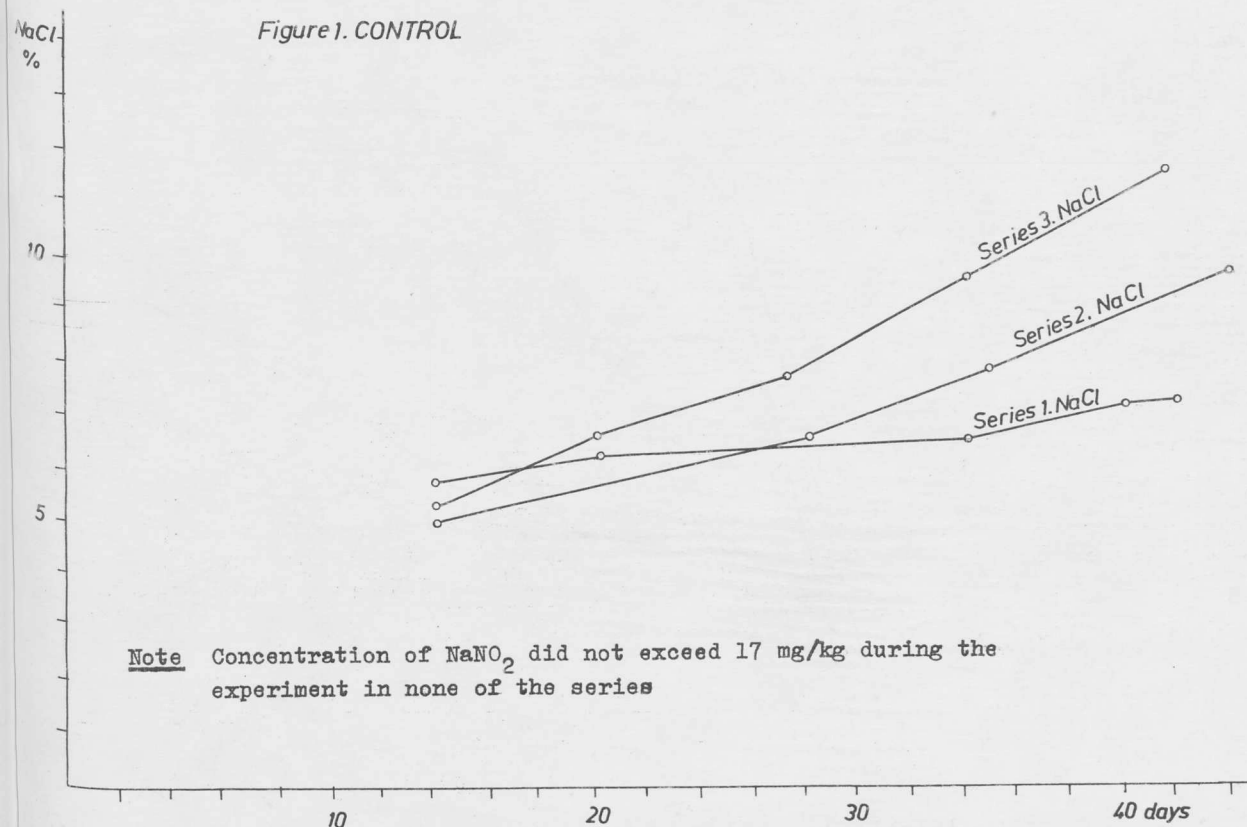


Figure 2. NITRITE - CURING

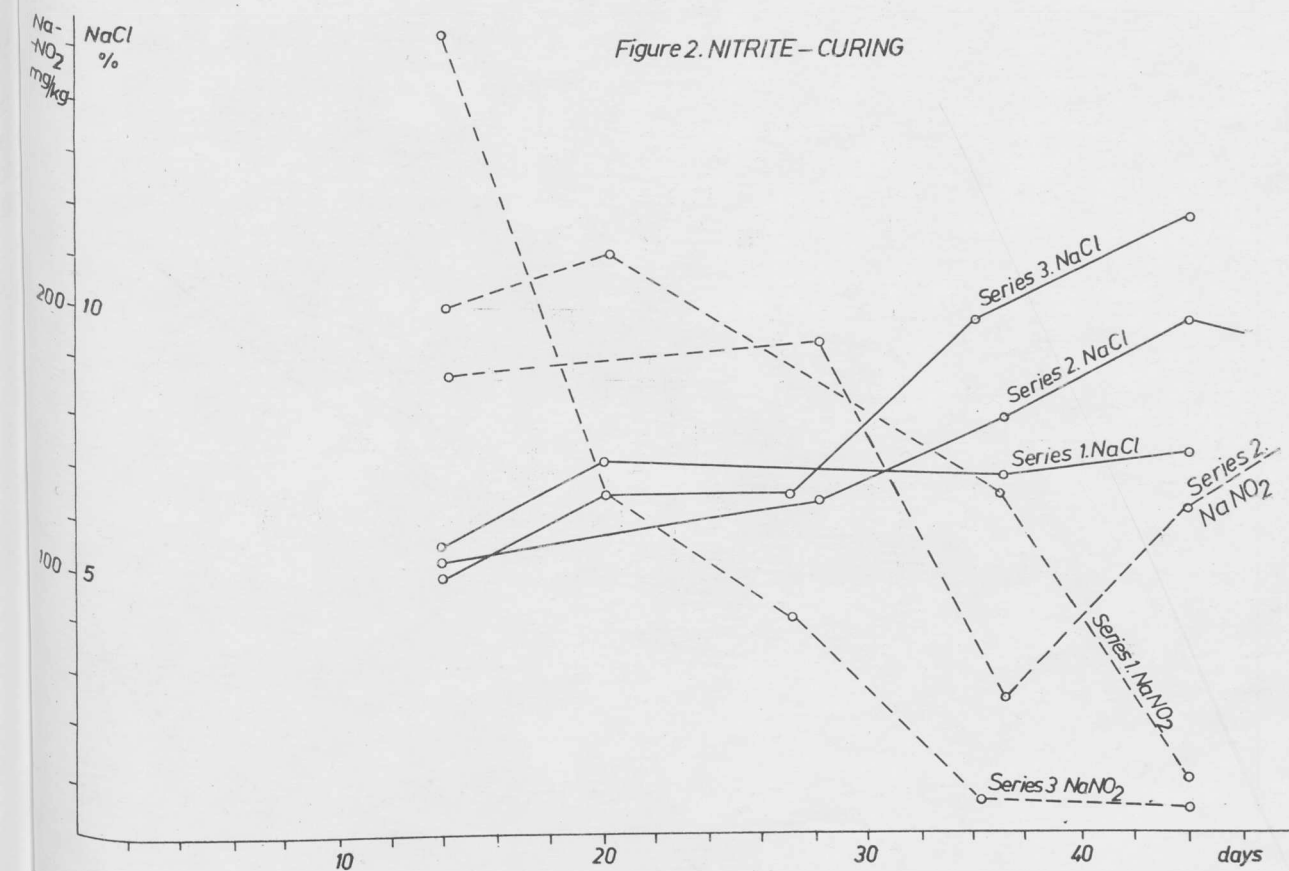


Figure 3. NITRATE-CURING

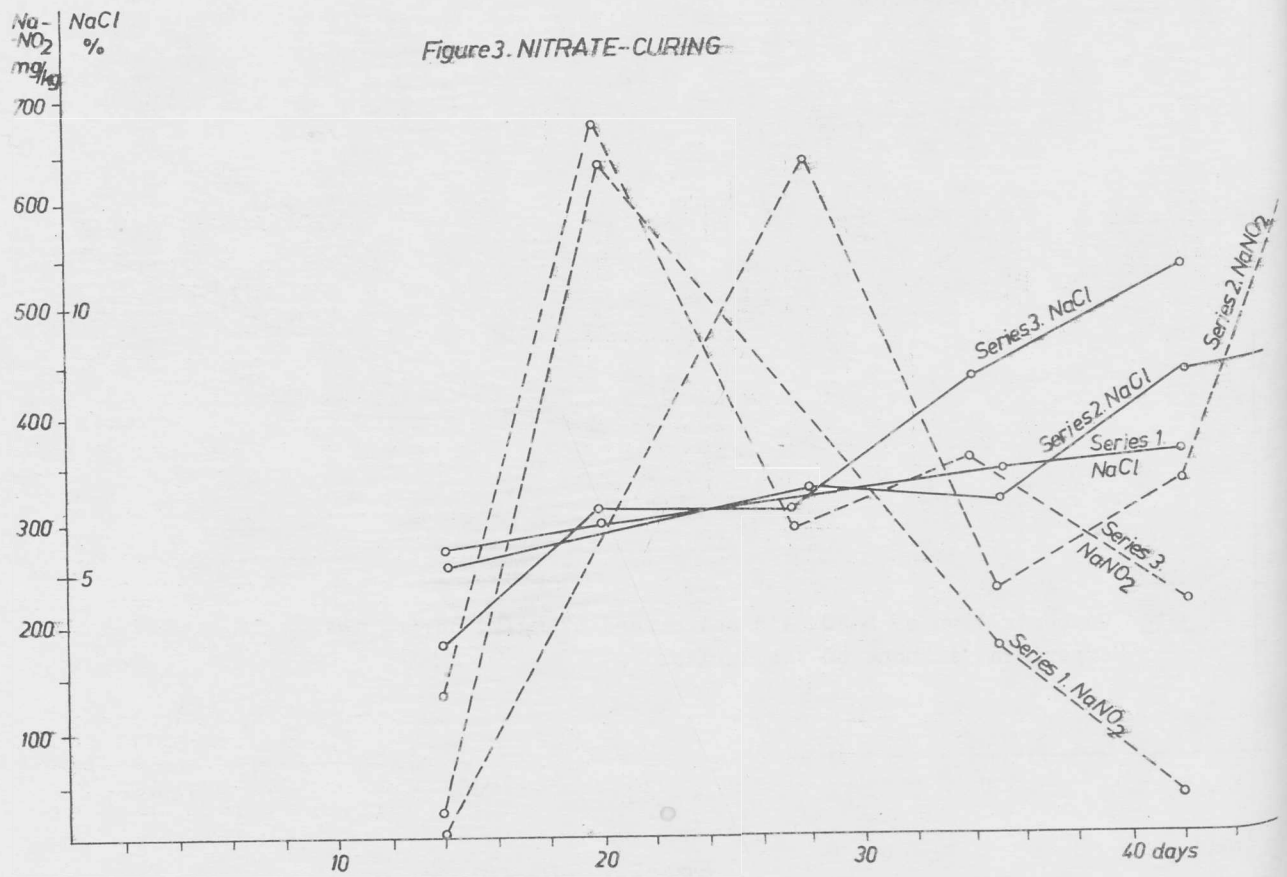


Figure 4.

