



Untersuchungen der Haltbarkeit von Cervelatwurst

Jacobsen, Tomas; Leisner, Jørgen; Granly Koch, Anette; Søltoft-Jensen, Jakob

Published in:
Fleischwirtschaft

Publication date:
2012

Document version
Også kaldet Forlagets PDF

Citation for published version (APA):
Jacobsen, T., Leisner, J., Granly Koch, A., & Søltoft-Jensen, J. (2012). Untersuchungen der Haltbarkeit von Cervelatwurst. *Fleischwirtschaft*, 92(5), 96-102.

Untersuchungen der Haltbarkeit von Cervelatwurst

Von Tomas Jacobsen, Jørgen J. Leisner, Anette Granly Koch und Jakob Søtoft-Jensen

Schlüsselwörter

- ▶ Milchsäurebakterien
- ▶ Verderb
- ▶ 3-Methylbutanal
- ▶ 3-Methylbutanol
- ▶ *Brochothrix thermosphacta*

Ein im Dänischen Fleischforschungsinstitut (DMRI) hergestelltes, verzehrfertiges Fleischerzeugnis ‚Cervelatwurst‘ (eine nach dänischer Rezeptur hergestellte Kochsalami ähnlich einer Kødpløse/Cervelatpløse) mit hohem und reduziertem Fettgehalt, aufgeschnitten in zwei Industriebetrieben und im DMRI, wurde durch Auszählung und Bestimmung der Bakterienisolate und mit Hilfe der denaturierenden Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE) untersucht. Die Qualität des Produktes wurde mittels Gas-Chromatographie/Massenspektrometrie (GC-MS) und Sensoriktests geprüft. Die Gesamtkeimzahl betrug, unabhängig vom Ort des Aufschneidens oder des Fettgehaltes, 2,4 – 2,9 log KbE/g. Bei der Lagerung bei 5 °C unter modifizierter Atmosphäre (70% N₂ und 30% CO₂) bis zu sechs Wochen wurde bei den Produkten aus zwei der drei Verarbeitungsstätten mikrobielles Wachstum festgestellt. In zwei verschiedenen Produkten aus einem Unternehmen betrug die Gesamtkeimzahl nach vier bzw. sechs Wochen 5,8 – 6,2 log

KbE/g bzw. 8,0 – 8,1 log KbE/g, unabhängig vom Fettgehalt. Die vorherrschende mikrobielle Flora bestand aus Milchsäurebakterien (*Carnobacterium* spp., *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc carnosum*), *Brochothrix* (*B.*) *thermosphacta* und einem nicht identifizierten Gram negativen Bakterium. Dieses Produkt enthielt nach 4 – 6 Wochen Lagerung hohe Mengen an 3-Methyl-Butanal und 3-Methyl-Butanol und wies nach sechswöchiger Lagerung einen sauer-alten Geschmack auf. In einem anderen Produkt lagen die Gesamtkeimzahlen nach vier bzw. sechs Wochen bei 5,8 – 6,5 log KbE/g bzw. 7,0 – 7,3 log KbE/g, unabhängig vom Fettgehalt. In diesem Produkt war *Lactobacillus sakei* dominierend. Nach sechs Wochen Lagerung gab es keinen Anstieg in 3-Methyl-Butanal und 3-Methyl-Butanol und keine Anzeichen von Verderbnis. Diese Untersuchung bringt weitere Erkenntnisse zu den möglichen Auswirkungen von Milchsäurebakterien und *B. thermosphacta* auf die sensorischen Eigenschaften von Fleischerzeugnissen.

Es ist bekannt, dass Milchsäurebakterien in MAP-Verfahren (modified atmosphere packaging) verpackten Fleischerzeugnissen vorherrschen, und dass die Haltbarkeit dieser Produkte von den Mikroorganismen abhängt (DAINTY und MACKAY, 1992; DAINTY, 1996; BORCH et al., 1996; BUDEE et al., 2003; SAMELIS, 2006; LAURSEN et al., 2009). Dies liegt an der Wärmebehandlung, in deren Verlauf die Mikroflora der Rohwaren eliminiert und das Produkt mit der haus-eigenen Flora in der Produktionsstätte kontaminiert wird, sodass bestimmte Teile dieser Flora unter modifizierter Schutzatmosphäre (MA) und bei Kühlung wachsen können. In den meisten Fällen werden die Milchsäurebakterien (MSB) andere Verderbererger *Enterobacteriaceae* und *Brochothrix thermosphacta*, die ebenfalls unter diesen Bedingungen wachsen könnten, verdrängen (DAINTY und MACKAY, 1992; BORCH et al., 1995; SAMELIS, 2006). Aufgrund der modernen Produktionsverfahren in der Industrie sind die Ausgangs-keimzahlen relativ niedrig: Die Dominanz bestimmter Bakterienarten, einschließlich Nicht-MSB, wird zum größten Teil von den Schwankungen in der Ausgangskeimzahl und der Art der ursprünglich vorhandenen Mikroorganismen abhängen. Zu den Nicht-MSB, die in dieser Hinsicht von Bedeutung sind, zählt *B. thermosphacta*, das gelegentlich mit Milchsäurebakterien in vakuumverpackten und MA-verpackten Fleischerzeugnissen konkurriert, z.B. in handwerklich hergestellten belgischen Fleischerzeugnissen (VASILOPOULOS et al., 2008), in Kochschinken (KOTZEKIDOU und BLOUKAS, 1996), vorgekochten Hühnerprodukten (PATSIAS et al., 2006) und in dänischer Cervelatwurst (HOLM et al., 2012). In diesen Produkten können bis zu einem bestimmten Grad auch Gram negative Bakterien wachsen (VASILOPOULOS et al., 2008; HOLM et al., 2012).

Diese Studie konzentriert sich auf die Auswirkung einer geringen Ausgangs-keimzahl auf die weitere Entwicklung der Keimzahlen und Veränderungen im sensorischen Profil. Insbesondere befasst sich

die Studie mit dem Wachstum der Mikroorganismen, der Identifizierung der vorherrschenden Mikroorganismen, dem Anteil der mikrobiellen Stoffwechselprodukte und der sensorischen Qualität eines fettreduzierten und eines vollfetten Fleischerzeugnisses. Beide Produkte wurden in der Forschungsabteilung des Dänischen Fleischforschungsinstituts (DMRI) hergestellt und anschließend in zwei anderen Produktionsstätten und am DMRI aufgeschnitten und verpackt.

Materialien und Methoden

▶ Cervelatwurst und mikrobiologische, sensorische und chemische Untersuchungen

Am DMRI wurden zwei Cervelatwürste mit normalem und reduziertem Fettgehalt hergestellt. Die fettarme Wurst (Produkt 1) enthielt (alle Angaben in Gew.%): 69,5% Beinfleisch, 5,5% Rückenspeck ohne Schwarte, 19,92% Wasser, 2,15% NaCl, 2,0% Kartoffelstärke, 0,3% lebensmittelgeeignetes Natriumpolyphosphat N15-15, 0,6% Gewürzmischung, 0,03% Natriumascorbat und 60 ppm Natriumnitrit.

Die vollfette Wurst (Produkt 2) enthielt (alle Angaben in Gew.%): 20% Beinfleisch, 20% Bauchfleischstreifen, 20% Backe ohne Schwarte, 5% Rückenspeck ohne Schwarte, 26,37% Wasser, 1,7% NaCl, 2,0% Sojaisolat, 4% Kartoffelstärke, 0,3% lebensmittelgeeignetes

Natriumpolyphosphat N15-15, 0,6% Gewürzmischung, 0,03% Natriumascorbat und 60 ppm Natriumnitrit. NaCl und Natriumnitrit wurden von Kryta A/S (Roskilde, Dänemark) bezogen. Alle anderen Zutaten wurde bei SFK Food (Viborg, Dänemark) eingekauft. Das Brät wurde in undurchlässige Wursthüllen gefüllt (50 mm, SFK). Die Produkte wurden in einer Kochkammer der Danfotech (Ålborg, Dänemark) bei 80 °C erhitzt, bis eine Kerntemperatur von 75 °C erreicht war. Nach dem Abkühlen durch Absprühen mit



Die Haltbarkeit der dänischen Cervelatwurst kann auch von der Florazusammensetzung abhängig sein.

Untersuchungen der Haltbarkeit von Cervelatwurst

Wasser wurden die Produkte bei 2 °C gelagert. Die Cervelatwürste wurden in zwei industriellen Anlagen und im DMRI in 2 mm dicke Scheiben geschnitten und dann in A-PET-Tiefziehschalen verpackt, die aus 650 µm PE Peel-Folie bestanden (Skylight A/S) [OTR 15 ml/m² 24 Std. bei 23 °C, 1 atm (Normaldruck), 50% rel. Luftfeuchtigkeit]. Die Deckelfolie bestand aus PETP/PE Peel 50 (Ehrno Flexible A/S) (OTR 5 ml/m²).

Jeweils 100 g Wurstscheiben pro Schale wurden unter Schutzgas (70% N₂ und 30% CO₂) auf einem Tray Sealer T-200 von Multivac (Vejele, Dänemark) verpackt. Die MA-verpackten Würste wurden bei 5 °C bis zu 6 Wochen gelagert. Nach dem 1. Tag und nach 2, 4 und 6 Wochen wurden die Keimzahlen der Proben bestimmt. Hierzu wurde etwa 25 g des Fleischerzeugnisses in einem Stomacher (Steward Stomacher 400, Worthing, Großbritannien) für 1 Minute mit einer Mischung aus 1 Teil 0,85% iger Kochsalzlösung und 9 Teilen 0,9% Pepton in Probenbeuteln homogenisiert und 10-fache Verdünnungen hergestellt. Die Verdünnungen wurden als Gusskulturen mit Brain Hart Infusionsagar (BHI) (CM 1135 Oxoid) und mit APT-Agar (Merck 1.10453) mit Polymyxin (2,5 Einheiten pro ml) hergestellt bzw. auf Pseudomonas-Agar (CFC) (CM0559 Oxoid), STA-Agar (CM0881, Oxoid) und MYGP-Agar ausgestrichen (NIELSEN et al., 2008). Alle Petrischalen wurden aerob bei 20 °C fünf Tage bebrütet.

Das Sensorikpanel für die beschreibende sensorische Analyse bestand aus 6 Prüfern. Diese hatten eine Grundlagenschulung im Bereich der sensorischen Beurteilung gemäß ISO 4121, ASTM-MNL 13, DIN 10964 absolviert (Anon., 1992; Anon., 1993; Anon., 2003) und waren mit der Sensorikprüfung von Fleischerzeugnissen vertraut. Während der Schulung wurden die Profile der sensorischen Eigenschaften gemeinsam mit den Prüfern entwickelt. Sie wurden angewiesen, Geruch, Geschmack, Textur und Aussehen zu beurteilen. Die Proben wurden in zufälliger Reihenfolge präsentiert und nach einem 15-Punkte-Schemavon 0 (keine Intensität) bis 15 (sehr hohe Intensität) mit Hilfe der Fizz-Software (Version 2.0, Biosystems, Couternon, Frankreich) beurteilt.

Jede Probe wurde drei Mal bewertet. Die Eigenschaften zur Beschreibung des Geruchs waren: Fleischgeruch, säuerlicher, würziger und sauer-alter Geruch. Zur Beschreibung des Aussehens gab es die Eigenschaft „rosa Aussehen“ und die Eigenschaften zur Beschreibung der Geschmacksnuancen umfassten: fleischig, salzig, säuerlich, süß, sauer-alt, würzig, chemisch und fettig. Außerdem wurden die Textur-eigenschaften hart, stückig und cremig beschrieben. Während der Lagerversuche wurden Proben der Cervelatwurst, die bei 0 °C aufbewahrt wurden, als Kontrolle eingesetzt.

► Analyse nach GC-MS

Die Zusammensetzung der Aromakomponenten in der Cervelatwurst wurde mit Hilfe der dynamischen Headspace-Extraktion mit Adsorber (Trap) ermittelt. Das Trap-Material bestand aus 73 mg Tenax TA (60-80 MESH, Markes International Ltd., Llantrisant, UK) und 100 mg Carbograph 1 TD (Markes International Ltd., Llantrisant, UK). 25 g der Probe wurden in das geschlossene System aufgegeben und in einem Wasserbad bei 30 °C für 10 Minuten gehalten. Die Proben wurden 15 Minuten von N₂ (60 ml/Min)

durchströmt. Der N₂-Strom wurde hinter dem Trap durchgeführt, in der die aus der Probe ausgelösten flüchtigen Bestandteile aufgefangen wurden. Alle Traps wurden 5 Minuten mit N₂ rückgespült (60 ml/Min), um Wasser zu entfernen.

Die Traps wurden aufgeheizt (240 °C, 10 Minuten) und mit einem Heliumgas (Strömungsgeschwindigkeit 20 ml/Min) in einem ATD 400 (Perkin Elmer, Waltham, MA, USA) thermisch desorbiert. Die flüchtigen Bestandteile wurden in der Falle des ATD bei -30 °C kryofokussiert und danach durch fünfminütiges Erhitzen auf 250 °C in einen Helium-Trägergasstrom (10 ml/Min) desorbiert und im Verhältnis 1:10 aufgetrennt. Die Temperatur der Übertragungsleitung zum Gaschromatographen betrug 200 °C.

Die flüchtigen Substanzen wurden mittels GC-MS analysiert. Das 6890N GC-System (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) war mit einer HP-INNOWax-Säule (30 m x 0,25 mm mit 0,25 µm Filmstärke, Agilent 19091N-133) ausgestattet und arbeitete unter folgenden Bedingungen: Trägergas: Helium, Säulendruck: 7,6 psi, Heizprogramm: 35 °C für 5 Minuten, von 35 °C auf 110 °C mit 10 °C pro Minute, von 110 °C auf 260 °C mit 20 °C pro Minute und 260 °C für 10 Minuten. Das Gerät war mit einem 5973 Network MSD (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) ausgestattet. Als Ionisierungsmethode wurde ein Elektronenstoß mit einer Energie von 70 eV und einem Emissionsstrom von 35 µA eingesetzt. Die MS scannte von 33 m/z bis 350 m/z mit einer Geschwindigkeit von 3 Scans pro Sekunde.

Die Retentionszeiten wurden mittels Kovats-Retentionsindex (KI) standardisiert. Dieser wurde aus den GS-MS-Versuchen mit einem C5-C15 Alkan-Standard (Air Liquide, Paris, Frankreich) berechnet. Zur Identifizierung wurden weitere GC-MS-Versuche mit Verdünnungen der folgenden Verbindungen durchgeführt: 2-Methylbutanol (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) sowie 3-Methylbutanal und Acetoin (ChemService Inc.). Die ausgewählten Verbindungen wurden über die Peakfläche geteilt durch 1000 gemessen. Die Ergebnisse wurden statistisch mittels GLM-Verfahren im SAS-Programm mit den Variablen berechnet: Lagerdauer, Ort des Anschnittes der Wurst, Verbindungen und Produkt.

► Identifizierung von Bakterienisolaten

Um die vorherrschenden Milchsäurebakterien charakterisieren zu können, wurden aus den Produkten, die in Firma B und C geschnitten und verpackt wurden, insgesamt 114 Bakterienisolate von den APT-

Tab. 1: Keimzahlen (Mittelwert ± Standardabweichung von 5 Proben) der MA-verpackten Cervelatwurst (Produkt 1 – fettarm), aufgeschnitten in drei verschiedenen Produktionsstätten und gelagert bei 5 °C.

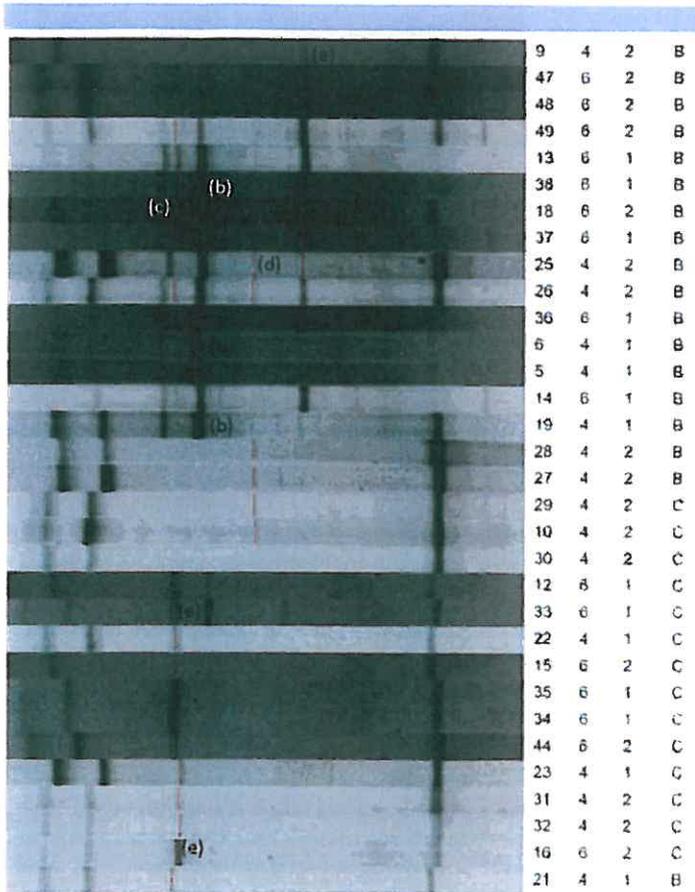
Tab. 1: Microbiological counts (mean ± standard deviation from 5 samples) of MA-packed saveloy (product 1 – low fat) sliced at three different companies and stored at 5 °C.

Firma	Lagerdauer bei 5 °C	BHI	APT	KbE/g CFC	STA	MYGP
A	1. Tag	2,4 ± 0,4	2,7 ± 0,4	<1	<1	<1
	2. Woche	1,9 ± 0,6	2,3 ± 0,3	<1	<1	<1
	4. Woche	2,2 ± 0,2	1,5 ± 1,0	<1	<1	<1
	6. Woche	2,5 ± 0,9	3,5 ± 1,0	<1	<1 - 1 ^d	<1
B	1. Tag	2,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	<1 - 1 ^d	<1 - 1,8 ^b	<1
	2. Woche	3,9 ± 1,5	4,4 ± 1,3	2,0 ± 0,4 ^d	2,5 ± 0,3	1,9 ± 0,9 ^a
	4. Woche	5,8 ± 1,2	5,7 ± 0,9	3,8 ± 1,0	4,6 ± 0,4	4,3 ± 0,1 ^a
	6. Woche	8,0 ± 0,2	8,0 ± 0,6	>6	>6	4,8 ± 0,5
C	1. Tag	2,9 ± 0,8	2,6 ± 0,5	<1 - 1 ^d	<1 - 1,8 ^d	1,3 ± 0,4 ^a
	2. Woche	3,6 ± 0,3	3,6 ± 0,5	<1 - 1 ^d	<1	<1
	4. Woche	5,8 ± 0,6 ^d	5,9 ± 0,5	<1	<1	<1
	6. Woche	7,0 ± 0,4	6,9 ± 0,3	<2	<3 - 4,5 ^e	<2 - 5,2 ^b

^a eine Packung mit < 1 log KbE/g (nicht im Mittelwert enthalten); ^b drei Packungen mit < 1 log KbE/g; ^c zwei Packungen mit < 1 log KbE/g; ^d vier Packungen mit < 1 log KbE/g; ^e drei Packungen mit < 3 log KbE/g; ^f zwei Packungen mit < 2 log KbE/g

Quelle: JACOBSEN et al.

Fleischwirtschaft 5/2012



Quelle: JACOBSEN et al.

Fleischwirtschaft 5/2012

Abb. 1: Ergebnisse der DGGE der Proben aus den Firmen B und C. Die drei Zahlenreihen bedeuten (von links nach rechts): DGGE Probennummer, Wochen der Lagerung, fettarme (1) oder fette (2) Cervelatwurst. Die Großbuchstaben stehen für die Verarbeitungsstätte, in der die Produkte aufgeschnitten wurden. Die Kleinbuchstaben zeigen die DGGE-Bande, die sequenziert wurde.

(a) *Brochothrix thermosphacta*; (b) gramnegative Bakterien; (c) *Carnobacterium* sp.; (d) *Leuconostoc carnosum*; (e) *Lactobacillus sakei*. Die verwendeten Bande sind durch eine rote Linie gekennzeichnet. Die beiden Banden im oberen Bereich des Gels (links) konnten nicht in Übereinstimmung gebracht werden, da sie oberhalb des eingesetzten Standards lagen. Eine der Bande enthält eine Sequenz der *Sus scrofa* Mitochondrium 16S rDNA. Die Bande am unteren Ende des Gels (rechts), die für die fette Cervelatwurst am dichtesten ist, enthält eine Sequenz der *Glycine max* Chloroplast 16S rDNA.

Fig. 1: The DGGE results of the samples from slicing location B and C. The 3 rows with numbers are (from left to right) DGGE sample number; weeks of storage; lean (1) or fat (2) Saveloy. The capital letters indicate the slicing location. The small letters indicate the DGGE band which was sequenced.

(a) *Brochothrix thermosphacta*; (b) gram negative bacteria; (c) *Carnobacterium* sp.; (d) *Leuconostoc carnosum*; (e) *Lactobacillus sakei*. The bands used are indicated by a red line. The two bands at the top of the gel (left) could not be aligned because they were above the uppermost standard used. One of the bands contained a sequence from *Sus scrofa* mitochondrion 16S rDNA. The band at the bottom of the gel (right) which is most dense in the fat meat model samples had a sequence from *Glycine max* chloroplast 16S rDNA.

DGGE-Bande	Identität (%)	Entsprechende Sequenz	Accession Number
a	100	<i>Brochothrix thermosphacta</i>	AY543029.1
b	98–100	verschiedene	AB038029.1; AJ310688.1; EU123936.1
c	100	<i>Carnobacterium</i> sp.	AB593337.1
d	100	<i>Leuconostoc carnosum</i>	AB022925.1
e	100	<i>Lactobacillus sakei</i>	GQ222408.1; NC 007576.1
Sus scrofa	100		GQ351599.1
Glycine max	100		DQ317523.1

Agarplatten hergestellt. Die Isolate wurden nach folgenden Parametern differenziert: Zellmorphologie, Gramreaktion (KOH-Test), Katalaseproduktion, Produktion von Ammoniak aus Arginin (LEISNER et al., 1994), mit der Ausnahme, dass der End-Glucosegehalt 0,1% betrug, Produktion von Säure und Gas aus Glucose, anaerobes Wachstum auf Rogosa-Agar (Oxoid).

Aufgrund der ursprünglichen phenotypischen Einordnung der Isolate in eindeutige Gruppen wurde die genaue Spezies einer repräsentativen Auswahl von 19 Isolaten mittels 16S rDNA Sequenzierung (Eurofins, Germany) mit einem Standard-Vorwärtsprimer 16S-27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTAG-3') bestimmt. Für die Identifizierung wurden mit Hilfe des Megablast-Algorithmus nach ähnlichen Sequenzen gesucht (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

► Analyse mittels DGGE

Zur Verifizierung der DGGE wurden 6 Bakterienstämme eingesetzt, die häufig in Fleisch vorkommen. Die Stämme waren: DMRICC 4010 *Leuconostoc carnosum*; DMRICC 4611 *Pseudomonas putida/fluorescens*; DMRICC 4612 *Carnobacterium maltaromaticum*; DMRICC 4613 *Brochothrix thermosphacta*; DMRICC 4614 *Leuconostoc carnosum*; DMRICC 4615; *Lactococcus* sp.; und DMRICC 4616 *Chryseomonas luteola*.

DNA-Aufreinigung: Etwa 25 g des Fleischerzeugnisses wurden für 1 Minuten mit 0,85% Kochsalzlösung und 0,1% Pepton (Verhältnis 1:9) im Stomacher homogenisiert (Bacto, 211677). 1 ml der Flüssigkeit oder der Boullion-Kultur der Referenzstämmen wurden 5 Minuten bei 10000 g zentrifugiert. Der Zentrifugenkuchen wurde in Lysepuffer aus dem DNA Isolation Kit (Magnesil KE, Genomic System; Promega) gelöst. Die DNA wurde in einem automatischen KingFisher DNA Aufreinigungssystem (Thermo Labsystems, Finnland) wie oben beschrieben extrahiert (JOSEFSEN et al., 2007).

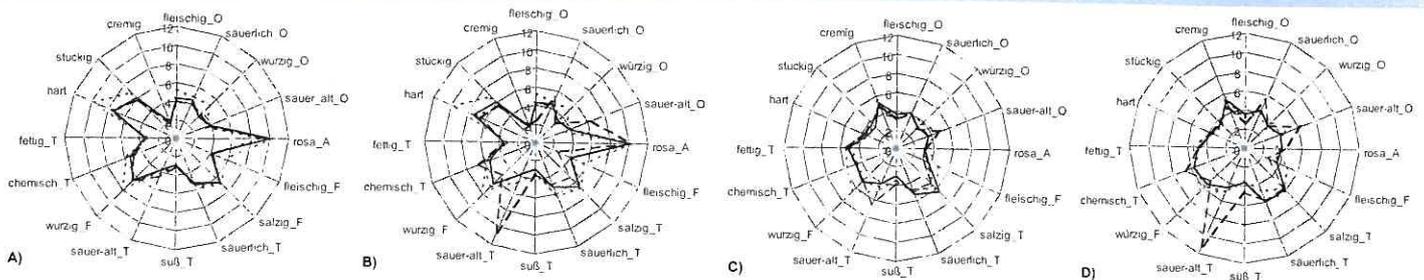
PCR: Die Primer waren HDA1-GC (5'-CGC CCG GGG CGC GCC CCG GGC GGG GCG GGC GCA CGG GGG GAC TCC TAC GGG AGG CAG CAG T-3') (die GC-Klammer ist im Fettdruck hervorgehoben) und HDA-2 (5'-GTA TTA CCG CGG CTG CTG GCA C-3') Target: V2-V3 16S rDNA (WALTER et al., 2000).

Die PCR wurde in einem GeneAmp 2700 PCR System von Applied Biosystems durchgeführt. Die PCR-Reaktionsmischung (25 µl) bestand aus 21 µl ddH₂O, 1 µl einer 5 µmol Lösung jedes Primers, 2 µl Template und einer Amersham PuReTaq Ready-to-Go PCR Bead (Prod. Nr. 27-9557-01). Die Amplifizierung lief nach folgendem Programm ab: 94 °C 4 Min., 30 Zyklen 94 °C 30 Sek., 56 °C 30 Sek. und 68 °C 60 Sek. und schließlich 68 °C 7 Min.

Die DGGE wurde mit einem INGENYphorU DGGE-System durchgeführt. Die Gelgröße betrug 23 x 25 cm mit 1 cm Stacking-Gel. Die Gele wiesen einen Gradienten von 40 bis 65% Harnstoff und Formamid in der Richtung der Elektrophorese auf. Die 100% ige Denaturierungslösung enthielt 40% Formamid und 7 M Harnstoff. Die Gele bestanden aus 9% (v/w) Polyacrylamid (Biorad cat: 161.0148) in 1 x TEA-Puffer. Als Laufpuffer diente 0,5 TAE bei 60 °C mit 120 V für 16 Stunden.

Die Gele wurden mit SYBRgreen für 30 Minuten gefärbt, mit entionisiertem Wasser gespült und mit einer Kodak Gel Logic 112 mit UV-Transillumination fotografiert. Für jedes Gel wurden 3–4 Standards bestehend aus einer Mischung der PCR-Produkte aus den Stämmen DMRICC 4615 und 4616 eingesetzt. Die 5 Banden des Standards wurden zum Abgleich der Laufstrecken verschiedener Gele in GelCompar II (AppliedMath) eingesetzt.

Einzelbanden wurden aus dem Gel ausgeschnitten, erneut einer PCR unterworfen und daraufhin geprüft, ob sie in einer neuen DGGE nur eine Bande entwickelten. Die PCR-Produkte wurden mit dem QIAquick PCR Purification Kit (Kat. Nr. 28104) aufgereinigt. Die aufgereinigten PCR-Produkte wurden von DNA Technology (Århus,



Quelle: JACOBSEN et al

Fleischwirtschaft 5/2012

Abb. 2: Sensorische Beurteilung von MA-verpackten Cervelatwurstscheiben, vier und sechs Wochen bei 5 °C gelagert Kontrolle, 1. Tag; Firma A; - - - - - Firma B; Firma C. O: Geruch, F: Aroma, T: Geschmack, A: Aussehen. Mittelwert aus 18 Portionen (6 Sensorikprüfer, 3 Wiederholungen)
Fig. 2: Sensory evaluation of sliced, MA-packed savelay stored at 5 °C for 4 and 6 weeks Control, day 1; Company A; - - - - - Company B; Company C. O: Odor, F: Flavor, T: taste, A: appearance. Mean of 18 servings (6 panelists, 3 repetitions)
 A) Savelay 1, week 4; B) Savelay 1, week 6; C) Savelay 2, week 4; D) Savelay 2, week 6

Dänemark) mit beiden Primern (in beiden Richtungen) sequenziert. Die Sequenzen wurden von Hand abgeglichen und die 156-157 bp-Sequenz zwischen den Primern wurde zur Sequenzsuche in der Datenbank mittels Megablast-Algorithmus eingesetzt (www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi).

Ergebnisse

Die Ausgangskeimzahl auf BHI und APT für die Cervelatwurst, die in drei verschiedenen Verarbeitungsstätten (A, B und C) aufgeschnitten wurde, betrug 2,4 – 2,9 log KbE/g. Bei A, B und C handelt es sich um die gleichen Verarbeitungsstätten, wie von HOLM et al. (2012) beschrieben, aber die Proben stammen aus verschiedenen Zeiträumen. In den in Firma A aufgeschnittenen und verpackten Produkten stieg die Keimzahl während der sechswöchigen Lagerung bei 5 °C nicht an; wahrscheinlich weil die hauseigene Flora während der Produktion nicht wachsen kann. In den Verpackungen der anderen Firmen stieg die Zahl während der sechswöchigen Lagerung auf 8,0 – 8,1 log KbE/g (Firma B) und 7,0 – 7,3 log KbE/g (Firma C) (Tab. 1 und 2).

Die Ausgangskeimzahl auf CFC-Agar lag bei allen Verpackungen unterhalb der Nachweisgrenze; in den Verpackungen der Firmen A und C wurde während der sechswöchigen Lagerung bei 5 °C kein Anstieg festgestellt. In den Verpackungen, die in Firma B hergestellt worden waren, stieg die Keimzahl nach 4 Wochen auf 3,8 – 4,1 log KbE/g und nach sechs Wochen auf über 6 log KbE/g (Tab. 1 und 2).

In zwei bis vier Verpackungen aus allen Verarbeitungsstätten wurden geringe Mengen an *Brochothrix thermosphacta* auf STA-Agar nachgewiesen. Deren Zahl stieg während der Lagerung bei 5 °C nur in den Verpackungen der Firma B an und erreichte innerhalb von vier Wochen Werte von 6 log KbE/g (Tab. 1 und 2).

Die Ausgangskeimzahl auf MYGP-Agar lag bei allen Ver-

packungen unterhalb der Nachweisgrenze; in den Verpackungen der Firma A wurde während der sechswöchigen Lagerung bei 5 °C kein Anstieg festgestellt. Nach sechswöchiger Lagerung wurde in drei von fünf Packungen von Firma C 3 – 5 log Hefen/g nachgewiesen. In den Verpackungen aus Firma B stieg die Anzahl der Hefen auf MYGP-Agar innerhalb von sechs Wochen auf 4,6 – 4,8 log KbE/g (Tab. 1 und 2).

114 Bakterienisolate von APT-Agar wurden phenotypisch untersucht (NH₄⁺ aus Arginin, CO₂ aus Glucose, Wachstum auf Rogosa-Agar, Katalasereaktion). Das Ergebnis sieht wie folgt aus: *Brochothrix thermosphacta* (15 Isolate, 9 aus Firma B, 6 aus Firma C), *Carnobacterium* spp. (7 Isolate, alle Firma B), *Lactobacillus curvatus* (1 Isolat, Firma B), *Lactobacillus sakei* (68 Isolate, 15 aus Firma B und 53 aus Firma C) sowie *Leuconostoc carnosum* (23 Isolate, 17 aus Firma B and 6 aus Firma C). 19 Isolate wurden einer 16S rDNA Sequenzierung unterworfen mit folgenden Ergebnissen: *Brochothrix thermosphacta* (1 Isolat, Firma B, Produkt 1), *Carnobacterium divergens* (1 Isolat, Firma B, Produkt 1), *Carnobacterium maltaromaticum* (1 Isolat, Firma B, Produkt 1), *Lactobacillus curvatus* (1 Isolat, Firma B, Produkt 1),

Lactobacillus sakei (insgesamt 9 Isolate, verteilt auf Firma B, Produkt 1 (1 Isolat), Firma C, Produkt 1 (4 Isolate), Firma C, Produkt 2 (4 Isolate) und *Leuconostoc carnosum*, (insgesamt 6 Isolate, verteilt auf Firma B, Produkt 1 (5 Isolate) und Firma C, Produkt 1 (1 Isolat). Die Isolate wurden nach einer Lagerdauer von 4 bzw. 6 Wochen hergestellt.

Bei der Analyse mittels DGGE zum Zwecke der Verifizierung zeigten sich bei sechs verschiedenen Mikroorganismen, dass die grampositiven Stämme eine Einzelbande erzeugten, während die beiden Gram negativen Stämmen vier Banden ergaben. Eine Bande aus *Pseudomonas* DMRICC 4612 zeigte eine 100% ige Übereinstimmung mit einer Sequenz aus *Pseudomonas putida*. Nur eine der Banden von *Chryseomonas* konnte erfolgreich

Tab. 2: Keimzahlen (Mittelwert ± Standardabweichung von 5 Proben) der MA-verpackten Cervelatwurst (Produkt 2 – fettreich), aufgeschnitten in drei verschiedenen Produktionsstätten und gelagert bei 5 °C

Tab. 2: Microbiological counts (mean ± standard deviation from 5 samples) of SMA-packed savelay (product 2-high fat) sliced at three different companies and stored at 5 °C.

Firma Lagerdauer bei 5 °C	BHI	APT	KbE/g CFC	STA	MYGP	
A	1. Tag	2,8 ± 0,4	2,9 ± 0,1	<1	1,3 ± 0,2 ^{a)}	<1
	2. Woche	4,0 ± 1,4	2,2 ± 0,5	<1	<1	<1
	4. Woche	2,2 ± 0,3	<2	<1	<1	<1
	6. Woche	2,7 ± 0,6	3,1 ± 0,6	<1	<1 – 1,6 ^{b)}	<1
B	1. Tag	2,7 ± 0,2	2,6 ± 0,3	<1	<1 – 1,5 ^{b)}	<1
	2. Woche	5,7 ± 0,2	5,1 ± 0,5	2,3 ± 1,0	4,1 ± 0,3	2,6 ± 0,6 ^{a)}
	4. Woche	6,2 ± 0,8	5,8 ± 0,5	4,1 ± 0,8 ^{b)}	6,0 ± 0,5	<1 – 4,6 ^{b)}
	6. Woche	8,1 ± 0,4	7,9 ± 0,3	1 – >6 ^{d)}	>6	4,6 ± 1,2
C	1. Tag	2,7 ± 0,3	2,7 ± 0,3	<1	<1 – 1,8 ^{d)}	<1
	2. Woche	4,6 ± 0,9	3,7 ± 1,0	<1	<1 – 1	<1
	4. Woche	6,5 ± 0,4	5,9 ± 0,3	<1	<1	<1
	6. Woche	7,3 ± 0,6	6,8 ± 1,5	<2	<3	<2 – 4,5 ^{d)}

^{a)} eine Packung mit <1 log KbE/g (nicht im Mittelwert enthalten)

^{b)} drei Packungen mit <1 log KbE/g

^{c)} eine Packungen mit 1,0 log KbE/g, zwei Packungen mit 3,1–4,7 und zwei Packungen mit > 6 log KbE/g

^{d)} zwei Packungen mit <1 log KbE/g

Quelle: JACOBSEN et al

Fleischwirtschaft 5/2012

reamplifiziert werden und ergab eine Ähnlichkeit mit verschiedenen Gram negativen Mikroorganismen wie *Aranicola*, *Erwinia*, *Pectobacterium* und *Serratia* (Werte nicht gezeigt).

Bei der Untersuchung der Wurstproben ohne Bakterien wurden bei der DGGE-Analyse drei Banden ermittelt. Die beiden Banden im oberen Teil des Gels bestanden aus PCR-Produkten, die kleiner waren als die bakteriellen PCR-Produkte. Eine Bande bestand aus einer 78 bp Sequenz mit 100% iger Ähnlichkeit mit einem Schweine-Mitochondrium (*Sus scrofa*). Die Bande im unteren Teil des Gels bestand aus einer 133 bp Sequenz mit 100%iger Übereinstimmung mit dem 16S ribosomalen RNS-Gen der Sojabohne (*Glycine max*) (Abb. 1).

Tabelle 3 zeigt alle Korrelationen zwischen der biochemischen Identifizierung und den DGGE-Ergebnissen. Es gab eine große Ähnlichkeit zwischen beiden Verfahren hinsichtlich der Identifizierung der Mikroorganismen-Spezies, die in den unterschiedlichen Produkten und in den in verschiedenen Firmen weiterverarbeiteten Produkten vorkommen. Die biochemische Identifizierung wurde anhand von Isolaten durchgeführt, die von Kolonien stammten, die auf APT-Agar mit Polymyxin gewachsen waren. Daher wurden mit diesem Verfahren keine gramnegativen Mikroorganismen gefunden. Die Gram negativen Mikroorganismen, die bei der DGGE nachgewiesen wurden, konnten nicht identifiziert werden. Bei fünf Proben wurden keine DGGE-Bande erzeugt, wahrscheinlich aufgrund von Schwierigkeiten bei der DNA-Aufreinigung dieser Proben.

Für Produkt 1 wurde für alle Proben aus allen drei Firmen nach vierwöchiger Lagerung festgestellt, dass der würzige Geschmack und der Geruch, die Härte, die klumpige Textur sowie Fleischgeruch und -geschmack abnahmen. Es gab hierbei keine Unterschiede zwischen den Verarbeitungsstätten. Nach sechswöchiger Lagerung ergaben die Proben aus Firma A und C das gleiche Ergebnis. Die in Firma B aufgeschnittenen beiden Produkte zeigten einen säuerlichen und saueralten Geruch und einen sauer-alten Geschmack (Abb. 2 b, d).

Die Hauptkomponentenanalyse von über 100 Verbindungen ergab, dass Ethanol, 3-Methyl-1-Butanol und Isopropylalkohol die wichtigsten Verbindungen waren, die mit den Abweichungen in Produkt 1 in Zusammenhang stehen. In Cervelatwurst 2 waren es in Bezug auf die Varianz Ethanol, 3-Methylbutanal, 3-Methyl-1-Butanol und Isopropylalkohol. Ethanol hat keine Auswirkung auf das Aroma des Fleischerzeugnisses. Die quantitative Werte der anderen drei Verbindungen sind in Tabelle 4 dargestellt mit einem signifikanten ($P < 0,0001$) Anstieg von 3-Methylbutanol in Cervelatwurst 1 und 2 aus Firma B nach vier und sechs Wochen Lagerung. Die in Firma A und C verarbeiteten Würste zeigten keinen Anstieg. In Bezug auf 3-Methylbu-

tanal wurde in Cervelatwurst 1 und 2 aus Firma B nach vier und sechs Wochen eine Zunahme beobachtet, die jedoch nur in Cervelatwurst 2 nach vier und sechs Wochen signifikant war. Der Grund dafür, dass der Anstieg in Cervelatwurst 1 nicht signifikant war, kann an den großen Schwankungen zwischen den Verpackungen liegen, die insbesondere in der sechsten Woche bei diesen Proben festgestellt worden waren (Werte nicht gezeigt). Die in Firma A und C aufgeschnittenen Proben zeigten keine signifikante Zunahme von 3-Methylbutanal. Die Menge an Isopropylalkohol stieg in allen Cervelatwürsten aus allen Firmen während der vier- und sechswöchigen Lagerung signifikant an. Die größte Zunahme wurde bei Proben der Firmen B und C ermittelt.

Diskussion

Zur Charakterisierung der mikrobiologischen Flora von Cervelatwurst in MA-Verpackung können sowohl die biochemische Identifizierung als auch DGEE eingesetzt werden. Beide Verfahren kommen zu recht ähnlichen Ergebnissen. Allerdings zeigte das im Rahmen dieser Studie eingesetzte DGGE-Verfahren in Bezug auf die Identifizierung Gram negativer Mikroorganismen gewissen Einschränkungen. Außerdem produzierten Schweinefleisch und Sojaisolat Banden, die eine Interpretation der Ergebnisse erschweren.

Diese Studie hat ergeben, dass die bei einer Firma (B) aufgeschnittenen und MA-verpackten Fleischerzeugnisse nach längerer Lagerung Anzeichen von Verderb zeigten, und zwar anhand eines stärkeren säuerlichen und sauer-alten Geschmacks und Geruchs, die durch größere Mengen an 3-Methyl-1-Butanol und 3-Methyl-1-Butanal hervorgerufen wurden. 3-Methyl-1-Butanol wurde bereits von anderen Autoren mit bakteriellem Wachstum in gekochten Fleischerzeugnissen in MA-Verpackungen in Verbindung gebracht (LEROY et al., 2009; HOLM et al., 2012). Die in Firma B verarbeiteten Produkte zeigten signifikant höhere Werte für *B. thermosphacta* auf STA-Agar und für Gram negative Bakterien bis zum Wert von 6 – 7 log KBE/g. Dieser Wert wird allgemein als untere Grenzen für den Verderb eines Produktes angesehen (DAINTY und MACKAY, 1992). *B. thermosphacta* ist bekannt dafür, dass es 3-Methyl-1-Butanol und 3-Methyl-1-Butanal produziert (DAINTY et al., 1989, LAURSEN et al., 2006). Es wäre interessant, in weiteren Untersuchungen festzustellen, welche Rolle diese Verbindungen als chemische Marker für die sensorische Qualität von Cervelatwurst spielen, wie von HOLM et al. (2012) vorgeschlagen.

Normalerweise wird nicht über Gram negative Bakterien als Teil der mikrobiologische Flora in verarbeiteten MA-verpackten Fleischerzeugnissen berichtet, obwohl bereits ein ähnliches Ergebnis für Cervelatwurst gefunden wurde (HOLM et al., 2012). In einer neueren Studie zur mikrobiologischen Flora von MA-verpackten Fleischerzeugnissen wurde nach vierwöchiger Lagerung aus 10 – 15% der Proben *Chryseomonas luteola* isoliert. Die Keimzahlen betragen 10^4 – 10^5 KBE/g (unveröffentlichte Ergebnisse des DMRI). Die Bildung von 3-Methyl-1-Butanol und 3-Methyl-1-Butanal durch Gram negative Bakterien in Fleischerzeugnissen ist bereits von MÖLLER et al. (1998) beschrieben worden. Die Wissenschaftler stellten fest, dass *Moraxella phenylpyruvica* in Vakuum-verpacktem, gepökelt-

Tab. 3: Überblick über die Produkte, Lagerzeiten, Anwesenheit bakterieller Taxa, wichtiger bakterieller Stoffwechselprodukte und Anzeichen von Verderb

Tab. 3: Overview on products, storage times, presence of bacterial taxa and important bacterial metabolites and signs of spoilage

Produkt und Lagerdauer ^a	Bakterienspezies/-gruppe ^b					Gram negativ	Bakterielle Stoffwechselprodukte		Verderb (Geschmack)
	<i>Lb. curvatus</i>	<i>Leu. carnosus</i>	<i>Carno. bacterium</i>	<i>B. thermosphacta</i>	<i>Lb. sakei</i>		3-Methyl-Butanol	3-Methyl-Butanal	
B 1-4	+, -	+, -	++, +	+, -	+, +	nb, +	○	○	□
B 1-6	-, -	+, -	-, +	+, +	+, +	nb, +	●●	●●	■
B 2-4	-, -	++, +	+, -	++, +	-, +	nb, +	●	●	□
B 2-6	-, -	+, -	-, +	++, +	-, -	nb, +	●●	●●	■
C 1-4	-, -	-, -	-, -	-, -	++, +	nb, -	○	○	□
C 1-6	-, -	-, -	-, -	+, -	++, +	nb, -	○	○	□
C 2-4	-, -	-, +	-, -	-, -	++, +	nb, -	○	○	□
C 2-6	-, -	-, -	-, -	-, -	++, +	nb, -	○	○	□

^a Die erste Zahl steht für Art des Produktes, die zweite Zahl für Anzahl der Wochen bei der Lagerung. ^b Der erste Wert gibt die Identifizierung mittels biochemischer Methoden, der zweite Wert mittels DGGE an; -, nicht gefunden; +, identifiziert, ++, mehrmals identifiziert, ○ nicht oder in geringen Mengen vorhanden, ● in mittleren Mengen, ●● in großen Mengen; □ keine oder geringe Intensität, ■ hohe Intensität

Quelle: JACOBSEN et al

Fleischwirtschaft 5/2012

Untersuchungen der Haltbarkeit von Cervelatwurst

tem Fleisch große Mengen dieser Verbindungen herstellt. Die beiden Cervelatwürste 1 und 2 von Firma B waren nach sechswöchiger Lagerung verdorben. In Cervelatwurst 1 überstieg die Menge Gram negativer Bakterien den Wert von 6 log KBE/g. Die Anzahl Gram negativer Bakterien in Cervelatwurst 2 auf Firma B schwankte erheblich von 1 bis über 6 log KBE/g. Außerdem zeigten die Gram negativen Sequenzen in der DGGE-Analyse eine geringe Ähnlichkeit mit den Sequenzen aus *Moraxelleacea* (etwa 89%, Werte nicht gezeigt). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die Gram negativen Bakterien nicht die Hauptursache für den Verderb sind. Stattdessen erscheint es wahrscheinlich, dass *B. thermosphacta* für den Verderb dieses Produktes verantwortlich ist, obwohl nicht ausgeschlossen werden kann, dass auch die in diesem Produkt vorkommenden *Carnobacterium* spp. am Verderb beteiligt sein könnten (BUDE et al., 2003; LEISNER et al., 2007). Das ebenfalls im Produkt nachgewiesene *Leuconostoc carnosum* ist nicht dafür bekannt, diese Art von Verderb auszulösen, obwohl es durchaus Produkte durch die Bildung eines sauren Geruchs und Geschmacks verderben kann (BJÖRKROTH et al., 1998). Auch *Lactobacillus sakei* war kein Verderberregger in den im Rahmen dieser Studie untersuchten Produkten, da dieser Mikroorganismus in den nicht verdorbenen Produkten C vorherrschend war.

Die im Rahmen dieser Untersuchung an Fleischerzeugnissen festgestellten Schwankungen der Anwesenheit von *B. thermosphacta* ist auch bereits von anderen beobachtet worden (VASILOPOULOS et al., 2010a; HOLM et al., 2012). Dies mag ein Hinweis darauf sein, dass es Bedingungen gibt, die das Wachstum dieses Mikroorganismus einschränken. Ein möglicher Faktor, der diese Wirkung hervorrufen könnte, bezieht sich auf die Anwesenheit von kompetitiven und/oder antagonistischen Milchsäurebakterien. In einer Co-Kultur im Rahmen einer Untersuchung von Kochschinken hemmt ein nicht-bacteriocinogener *Lb. sakei*-Stamm diesen Mikroorganismus im Gegensatz zu einem Lactocin-S produzierenden *Lb. sakei*-Stamm (VERMEIREN et al., 2006). In einem anderen Modell mit handwerklich hergestelltem Kochschinken wurde beobachtet, dass in gemeinsamen Kulturen von *C. divergens* und *B. thermosphacta* der letztgenannte Mikroorganismus dann gehemmt wurde, wenn *C. divergens* die stationäre Phase

erreicht hatte. Der Stoffwechsel von *B. thermosphacta* wurde nicht unterdrückt, allerdings bildeten sich eine Reihe von verderbsverursachenden Stoffwechselprodukten wie 3-Methyl-1-Butanol und 3-Methyl-1-Butanal (VASILOPOULOS et al., 2010b). Beide Verbindungen wurden auch in dieser Studie gefunden. Interessant ist weiterhin die Feststellung, dass obwohl *Leu. carnosum* in dieser Studie Teil der MSB-Flora in dem verdorbenen Produkt B war, das Wachstum und der offenkundige Stoffwechsel von *B. thermosphacta* im Gegensatz zu früheren Ergebnissen nicht gehemmt wurden (VASILOPOULOS et al., 2010b). RUSSO et al. (2006) hat gezeigt, dass das aerobe Wachstum von *B. thermosphacta* bei 5 °C in Gegenwart von MSB unterdrückt wurde, jedoch nicht bei einem Inokulat aus diesem Mikroorganismus und einer Mischung aus *Pseudomonas* spp., MSB und *Enterobacteriaceae*. Weitere Untersuchungen sind nötig, um festzustellen, unter welchen Bedingungen die Co-Kultur-Untersuchungen von MSB und *B. thermosphacta* zu welchen Ergebnissen führen, und um die spezifische Verderbsbereiche des letztgenannten Organismus unter diesen Bedingungen zu bestimmen.

Die Anwesenheit von *Carnobacterium* spp., *B. thermosphacta* und Gram negativen Bakterien im verdorbenen Produkt der Firma B und die Erkenntnis, dass alle genannten möglicherweise den beobachteten Verderb ausgelöst haben könnten, führt zu der Frage, ob sie zwar beim Verderb gefunden werden, aber selber keine Verderbsprozesse auslösen (spoilage association) können. Dies könnte der Fall sein, da für die Kombination aus *B. thermosphacta* und *Carnobacterium* spp. in MA-verpackten Shrimps (MEJLHOLM et al., 2005; LAURSEN et al., 2006) und in handwerklichem Kochschinken (VASILOPOULOS et al., 2010b) Verderbssynergien beobachtet wurden. Diese Frage sollte weiter nachgegangen werden.

► Praktische Bedeutung

Insgesamt stellt diese Studie anhand einer Palette von Verfahren einschließlich Sensorikprüfung, GC-Analyse sowie Identifizierung der Mikroorganismen durch biochemische Methoden und DGGE einen Fall von komplettem oder teilweisem Verderb durch Nicht-MSB vor. Insbesondere ist es von praktischer Bedeutung, dass Produkte mit einer geringen Ausgangskeimzahl erhebliche Schwankungen in der Zusammensetzung der nachfolgenden mikrobiologischen Flora aufweisen, die erhebliche Auswirkung auf die sensorische Qualität hat. Es ist sehr interessant, dass das Produkt von Firma C zwar eine Keimzahl von 7 log KBE/g (*Lb. sakei*) aufwies, aber keinen Verderb zeigte. Es war also die „hauseigene“ Flora, die die Haltbarkeit bestimmt, nicht die Gesamtkeimzahl. *B. thermosphacta* ist wahrscheinlich der Verderberregger, aber nur, wenn die Keimzahlen stark steigen (Produkte der Firma B), während es in geringen Mengen keine sensorischen Auswirkungen hat (Produkte Firma C). Für weitere Studien wäre es wichtig, die Gram negative Flora in Produkt B zu untersuchen und näher zu bestimmen, um festzustellen, ob diese – vielleicht in Kombination mit *B. thermosphacta* – zum Verderb beiträgt.

Danksagung

Diese Arbeit wurde teilweise vom Danish Pig Levy Fund unterstützt. Wir danken Lizzie Larsen, Helen Ludvigsen und Ewa Kuninsky für die technische Unterstützung. Weiterhin danken wir Ann-Britt Frostrup und Jens P. Teilman für die Herstellung der Cervelatwürste und für die Organisation des Aufschneidens in den drei verschiedenen Betriebsstätten. Unser Dank geht an Annette Schäfer für die Durchführung der GC-MS-Analyse und an Hardy Christensen für die statistische Auswertung.

Literatur

1. Anonymous (1992): ASTM-MNL 13: Manual on descriptive analysis testing for sensory evaluation, Hootman, R.C. (edit.). – 2. Anonymous (1993): ISO 8586-1: Sensory analysis – General guidance for the selection, training and monitoring of assessors – Part 1: Selected assessors. – 3. Anonymous (2003): ISO 4121: Sensory analysis – Guidelines for the use of

Tab. 4: Konzentration der Geschmackskomponenten (mittlere Peakfläche) aus 3 Packungen geteilt durch 1000) in zwei unterschiedlichen Cervelatwürsten, aufgeschnitten und MA-verpackt in drei verschiedenen Produktionsstätten und bis zu 6 Wochen bei 5 °C gelagert

Tab. 4: Concentration of flavour compounds (mean top areal from 3 packages divided by 1000) in 2 different saveloys sliced and MA packed at 3 different companies and stored for up to 6 weeks at 5 °C.

Cervelatwurst	Firma	Tag	3-Methylbutanal	Isopropylalkohol	3-Methyl-1-Butanol
1	Kontrolle der Anlage	1	1686	9151	891
1	A	28	1293	84558	1022
1	B	28	6170	167920	5583
1	C	28	1100	86591	921
1	A	42	1635	131034	nb
1	B	42	58964	189552	63567
1	C	42	7132	202629	5301
Cervelatwurst	Firma	Tag	3-Methylbutanal	Isopropylalkohol	3-Methyl-1-Butanol
2	Kontrolle	1	3233	7002	853
2	A	28	1609	8809	883
2	B	28	22521	154309	11458
2	C	28	1260	253479	994
2	A	42	4781	47279	nb
2	B	42	53539	176318	41198
2	C	42	2302	103004	1502

nb nicht bestimmt

Quelle: JACOBSEN, et al

Fleischwirtschaft 5/2012

quantitative response scales. – 4. BJÖRKROTH, K.J., P. VANDAMME und H.J. KORKEALA (1998): Identification and characterization of *Leuconostoc carnosum*, associated with production and spoilage of vacuum-packaged, sliced, cooked ham. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 3313–3319. – 5. BORCH, E., M.-L. KANT-MUERMANS und Y. BLIJT (1996): Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *Int. J. Food Microbiol.* 33, 103–120. – 6. BUDDE, B.B., T. HORNBJÆK, T. JACOBSEN, V. BARKHOLT und A.G. KOCH (2003): *Leuconostoc carnosum* 4010 has the potential for use as a protective culture for vacuum-packed meats: culture isolation, bacteriocin identification, and meat application experiments. *Int. J. Food Microbiol.* 83, 171–184. – 7. DAINY, R.H. (1996): Chemical/biochemical detection of spoilage. *Int. J. Food Microbiol.* 33, 19–33. – 8. DAINY, R.H., R.A. EDWARDS, C.M. HIBBARD und J.J. MARNEWICK (1989): Volatile compounds associated with microbial growth on normal and high pH beef stored at chill temperatures. *J. Appl. Bacteriol.* 66, 281–289. – 9. DAINY, R.H. und B.M. MACKAY (1992): The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.* 73, 1035–1145. – 10. HOLM, E.S., A. SCHÄFER, T. SKOV, A.G. KOCH und M.A. PETERSEN (2012): Identification of chemical markers for the sensory shelf-life of saveloy. *Meat Sci.* 90, 314–322. – 11. JOSEFSEN, M.H., M. KRAUSE, F. HANSEN und J. HOORFAR (2007): Optimization of a 12-hour TaqMan PCR-based method for detection of *Salmonella* bacteria in meat. *Appl. and Environ. Microbiol.* 73, 3040–3048. – 12. KOTZEKIDOU, P. und J.G. BLOUKAS (1996): Effect of protective cultures and packaging film permeability on shelf-life of sliced vacuum-packed cooked ham. *Meat Sci.* 42, 333–345. – 13. LAURSEN, B.G., J.J. LEISNER und P. DALGAARD (2006): *Carnobacterium* species: Effect of metabolic activity and interaction with *Brochothrix thermosphacta* on sensory characteristics of modified atmosphere packed shrimp. *J. Agric. Food Chem.* 54, 3604–3611. – 14. LAURSEN, B.G., D.V. BYRNE, J.B. KIRKEGAARD und J.J. LEISNER (2009): Lactic acid bacteria associated with a heat-processed pork product and sources of variation affecting chemical indices of spoilage and sensory characteristics. *J. Appl. Microbiol.* 106, 543–553. – 15. LEISNER, J.J., J. TIDEMAND und L.M. LARSEN (1994): Catabolism of arginine by *Carnobacterium* spp. isolated from vacuum-packed sugar-salted fish. *Curr. Microbiol.* 29, 95–99. – 16. LEISNER, J.J., B.G. LAURSEN, H. PRÉVOST, D. DRIDER und P. DALGAARD (2007): *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS Microbiol. Rev.* 31, 592–613. – 17. LEROY, F., C. VASILOPOULOS, S. VAN HEMELRYCK, G. FALONY und L. DE VUYST (2009): Volatile analysis of spoiled, artisan-type, modified-atmosphere-packaged cooked ham stored under different temperatures. *Food Microbiol.* 26, 94–102. – 18. MELJHOLM O., N. BOKNÆS und P. DALGAARD (2005): Shelf life and safety aspects of chilled cooked and peeled shrimps (*Pandalus borealis*) in modified atmosphere packaging. *J. Appl. Microbiol.* 99, 66–76. – 19. MØLLER, J. K. S., L. L. HINRICHSEN und H. J. ANDERSEN (1998): Formation of amino acid (L-Leucine, L-phenylalanine) derived volatile flavour compounds by *Moraxella phenylpyruvica* and *Staphylococcus xylosus* in cured meat model systems. *Int. J. Food Microbiol.* 42, 101–117. – 20. NIELSEN, D.S., T. JACOBSEN, L. JESPERSEN, A.G. KOCH und N. ARNEBORG (2008): Occurrence and growth of yeasts in processed meat products – Implications for potential spoilage. *Meat Sci.* 80, 919–926. – 21. PATSIAS, A., I. CHOLIARA, A. BADEKA, I.N. SAVVAIDIS und M.G. KONTOMINAS (2006): Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: microbiological, chemical, sensory attributes. *Food Microbiol.* 23, 423–429. – 22. RUSSO, F., D. ERCOLINI, G. MAURIELLO und F. VILLANI (2006): Behaviour of *Brochothrix thermosphacta* in presence of other meat spoilage microbial groups. *Food Microbiol.* 23, 797–802. – 23. SAMELUS, J. (2006): Managing microbial spoilage in the meat industry. In *Food Spoilage Organisms* ed. Blackburn, C.D.W., pp. 213–286. Cambridge, UK: Woodhead Publishing Limited. – 24. VASILOPOULOS, C., F. RAVYS, H. DE MAERE, E. DE MEY, H. PAELINCK, L. DE VUYST und F. LEROY (2008): Evaluation of the spoilage lactic acid bacteria in modified-atmosphere-packaged artisan-type cooked ham using culture-dependent and culture-independent approaches. *J. Appl. Microbiol.* 104, 1341–1353. – 25. VASILOPOULOS, C., H. DE MAERE, E. DE MEY, H. PAELINCK, L. DE VUYST und F. LEROY (2010a): Technology-induced selection towards the spoilage microbiota of artisan-type cooked ham packed under modified atmosphere. *Food Microbiol.* 27, 77–84. – 26. VASILOPOULOS, C., E. DE MEY, L. DEWULF, H. PAELINCK, A. DE SMEDT, F. VANDENDRIESSCHE, L. DE VUYST und F. LEROY (2010b): Interactions between bacterial isolates from modified-atmosphere-packaged artisan-type cooked ham in view of the development of a bioprotective culture. *Food Microbiol.* 27, 1086–1094. – 27. VERMEIREN, L., F. DEVLIEGHERE und J. DEBEVERE (2006): Co-culture experiments demonstrate the usefulness of *Lactobacillus sakei* 10A to prolong the shelf-life of a model cooked ham. *Int. J. Food Microbiol.* 108, 68–77. – 28. WALTER, J., G.W. TANNOCK, G.W. TILSALA-TIMISJARVI, S. ROOTONG, D.M. LOACH, K. MUNRO und T. ALATOSSAVA (2000): Detection and identification of gastrointestinal *Lactobacillus* species by using denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific PCR primers. *Appl. and Environ. Microbiol.* 66, 297–303.

Anschriften der Autoren

Ph.D., M. Sc. Tomas Jacobsen, Ph.D., M. Sc. Anette Granly Koch und M.Sc. Jakob Søltøft-Jensen, Dänisches Fleischforschungsinstitut, Dänisches technologisches Institut, Maglegaardsvej 2, 4000 Roskilde, Dänemark. tjan@teknologisk.dk, aglk@teknologisk.dk, jsjn@teknologisk.dk; Ph.D., M. Sc. Jørgen J. Leisner, (Korrespondenzautor), Abteilung für die Biologie der Tiererkrankungen, Fakultät für Gesundheitswissenschaften (LIFE), Universität Kopenhagen, Grønnegårdsvej 15, 1870 Frederiksberg C., Dänemark, jil@life.ku.dk

►► Summary

Examination of shelf life of Saveloy sausages

T. Jacobsen, A. Granly Koch and J. Søltøft-Jensen – Roskilde; J. J. Leisner – Frederiksberg C./Denmark

Keywords: Lactic acid bacteria, spoilage | 3-methyl-butanol | 3-methylbutanol | *Brochothrix thermosphacta*

A Danish processed, ready-to-eat meat product, Saveloy, with high or low fat contents produced at DMRI and sliced at two commercial companies and DMRI was analysed by enumeration and identification of bacterial isolates as well as by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The quality of the product was examined by gas chromatography-mass spectroscopy (GC-MS) and sensory analyses. Initial total microbiological counts were 2.4 – 2.9 log cfu/g irrespective of slicing location or fat content; however subsequent growth was observed for products from two of the three slicing locations under storage at 5 °C with modified atmosphere conditions (70 % N₂ and 30% CO₂) for up to 6 weeks. In two types of products from one company, the total microbial counts were 5.8 – 6.2 log cfu/g and 8.0 – 8.1 log cfu/g after 4 and 6 weeks, respectively, regardless of fat content. The predominant microbial flora consisted of lactic acid bacteria (*Carnobacterium* spp., *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc carnosum*), *Brochothrix thermosphacta* and unidentified Gram negative bacteria. This product exhibited high levels of 3-methyl-butanol and 3-methylbutanol after 4 – 6 weeks of storage and a sour-old taste after 6 weeks of storage. In another product the total microbial counts were 5.8 – 6.5 log cfu/g and 7.0 – 7.3 log cfu/g after 4 and 6 weeks, respectively, regardless of fat content. This product was predominated by *Lactobacillus sakei* with no increase in 3-methyl-butanol and 3-methylbutanol and with no signs of spoilage after 6 weeks of storage. In conclusion, low initial microbial numbers resulted in different growth scenarios with important consequences for shelf life. This study contributes to an improved understanding of the potential of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* for the sensory quality of processed meat products.

Literaturhinweise online

jetzt unter

www.fleischwirtschaft.de/literatur

fleischwirtschaft
de