

## Milchsäurebakterien als Schutzkulturen auf SB-vorverpacktem Brühwurstaufschnitt

Lactic acid bacteria as protective cultures on prepackaged sliced emulsion-type sausage

T. HARTMANN, W. SCHNÄCKEL<sup>1</sup> und L. KRÖCKEL

<sup>1</sup>Hochschule Anhalt, Bernburg

### Zusammenfassung

Vorverpackter Brühwurstaufschnitt ist ein mikrobiologisch hoch sensibles Produkt, auf dem sich bei längerer Kühlung neben Milchsäurebakterien (MSB) auch pathogene Listerien vermehren können. Geeignete Milchsäurebakterien können als Schutzkulturen einen wichtigen Beitrag zur Kontrolle der Listerien leisten, insbesondere wenn auf chemische Konservierungsstoffe verzichtet wird. Die vorliegende Arbeit vergleicht das Wachstum von Listerien und verschiedenen MSB auf Würsten, die mit und ohne Nitrit hergestellt wurden (Lyoner, Gelbwurst), während der Lagerung bei 5 °C unter modifizierter Atmosphäre (100 % N<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> = 70/30). Gelbwurst unter N<sub>2</sub> ohne Schutzkultur bot den Listerien die besten Wachstumsmöglichkeiten, Lyoner unter N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> mit Schutzkultur die schlechtesten. MSB wurden durch 30 % CO<sub>2</sub> nicht, Listerien nur schwach gehemmt. Bacteriocinogene Kulturen verhinderten eine Vermehrung der Listerien besser als Kulturen ohne Bacteriocinbildung. Der Sakacin A-Bildner *Lactobacillus (Lb.) sakei* Lb706 zeigte dabei den stärksten Effekt und auch die günstigsten sensorischen Eigenschaften. Auf Gelbwurst unter N<sub>2</sub> bot der Stamm Lb706 aber nur bei Anfangskeimzahlen > 10<sup>6</sup> KbE/g ausreichend Schutz. Von verschiedenen auf beiden Brühwurstsorten rein sensorisch überprüften MSB schnitten Stämme der Art *Lb. sakei* am besten ab.

### Summary

Prepackaged deli-meats such as sliced emulsion-type sausages are microbiologically highly sensitive foods on which, during prolonged cold storage, besides lactic acid bacteria (LAB) also pathogenic listeria are able to multiply. Suitable LAB can make an important contribution to control listeria in these products, especially when chemical preservatives are omitted. The present study provides data on the growth of listeria and different LAB on sausages produced with and without nitrite (Bologna-type sausage, 'gelbwurst') during packaged storage at 5 °C under modified atmosphere (100 % N<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> = 70/30). 'gelbwurst' under N<sub>2</sub> without protective culture provided the most favourable growth environment for listeria while the opposite was true for Bologna-type sausage under N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> with protective culture. LAB were not inhibited by 30 % CO<sub>2</sub> and, a relatively weak effect was seen with listeria. A better control of listerial growth was seen with bacteriocinogenic cultures as compared to cultures devoid of bacteriocin production. The sakacin A producer *Lactobacillus (Lb.) sakei* Lb706 showed the strongest anti-listerial effect and, also the most favourable sensory characteristics. On 'gelbwurst' under N<sub>2</sub>, however, strain Lb706 provided sufficient protection only when inoculated at > 10<sup>6</sup> cfu/g. Of several LAB tested for their sensory effects on sausage types only, the species *Lb. sakei* performed best.

---

**Schlüsselwörter** vorverpackter Brühwurstaufschnitt – Schutzkulturen – *Listeria monocytogenes* – Sensorik – MAP – *Lactobacillus sakei*

**Key Words** prepackaged sliced Bologna-type sausage – protective cultures – *Listeria monocytogenes* – sensory evaluation – MAP – *Lactobacillus sakei*

---

## Einleitung

Brühwurst ist mit mehr als 58 % der Gesamtmenge das beliebteste und bedeutendste Fleischerzeugnis der Deutschen (LAUTENSCHLÄGER und TROEGER, 2007). Die Rohstoffe dafür sind im wesentlichen Rind-, Schweine- oder Geflügelfleisch, Speck, Salz und Gewürze. Für die Herstellung werden die Zutaten mehr oder weniger fein gekuttert, in Natur-/Kunstdärme oder Formen abgefüllt (RIMBACH *et al.*, 2010) und bei Temperaturen zwischen 72 und 76 °C gebrüht (JAKOB, 2005). Der pH-Wert des fertigen Produkts liegt bei 6,2, der  $a_w$ -Wert bei 0,98 (KRÖCKEL, 1999). Im Vergleich dazu kann eine schnell gereifte Rohwurst einen pH-Wert von knapp über 5 und einen  $a_w$ -Wert von 0,82 erreichen (FREDE, 2009). Bei der Brühwurst dienen diese Parameter deshalb nicht als Hürden, die eine lange Haltbarkeit gewährleisten. Sie ist mikrobiologisch instabil und nur unter Kühlung lagerfähig (LAUTENSCHLÄGER und TROEGER, 2007).

Hinzu kommt, dass Verbraucher einen immer höheren Conveniencegrad wünschen und Wurst oft im aufgeschnittenen Zustand in den Handel kommt. Beim industriellen Slicen und Verpacken der pasteurisierten Ware kann eine Rekontamination mit Keimen aus dem Arbeitsumfeld (Bedarfsgegenstände, Personal, Raumluft) erfolgen, die sich während der Kühlung vermehren und zum Verderb oder zu lebensbedrohlichen Infektionen führen können. Durch sorgfältige Gestaltung des Produktionsumfeldes müssen Kontaminationen daher bestmöglich ausgeschlossen werden (LAUTENSCHLÄGER und TROEGER, 2007). Psychrotrophe Milchsäurebakterien (MSB) und Listerien sind in der Lage, sich während der Kühlung von Brühwurstaufschnitt zu vermehren (FARBER und PETERKIN, 2000). Bei Abwesenheit geeigneter Kontrollmaßnahmen kann die für den Menschen pathogene Art *Listeria (L.) monocytogenes* gesundheitlich bedenkliche Keimzahlen erreichen.

*L. monocytogenes* ist der Erreger der Listeriose des Menschen. Besonders gefährlich ist eine Erkrankung für Schwangere, deren ungeborene Kinder sowie für

alte Menschen. Es kann zu Fehlgeburten, Meningitis und schweren grippeartigen Allgemeininfektionen kommen (FARBER und PETERKIN, 2000; HARTUNG, 2005). Listeriose ist mit 300-400 Fällen pro Jahr in Deutschland zwar relativ selten, die Krankheit ist im Vergleich zu anderen Lebensmittelinfektionen aber besonders gefährlich, da sie in 10-20 % der Fälle zum Tode führt (HARTUNG, 2005; RKI, 2010).

Da eine Rekontamination mit Listerien auch bei äußerster Aufschneide- und Verpackungshygiene nie völlig ausgeschlossen werden kann, enthalten moderne Brühwurstrezepturen zumeist chemische Zusatzstoffe, welche die Vermehrung der Listerien hemmen (z. B. Acetat/Lactat-Gemische), oder die Aufschnittware wird nach dem Verpacken einem weiteren Pasteurisierungs-/Inaktivierungsschritt unterzogen (sog. Nachpasteurisieren). Weit über 90 % der Aufschnittwaren werden heute zudem unter Schutzatmosphären mit 30 % CO<sub>2</sub> verpackt. Kohlendioxid löst sich leicht in Wasser und schützt im Wesentlichen über eine Absenkung des pH-Wertes. Nitrit wird bei Brühwurst hauptsächlich wegen seiner umrötenden Wirkung eingesetzt und zeigt hier keine ausreichende anti-listerielle Wirkung.

Aus dem Wunsch des Verbrauchers nach möglichst wenig chemischen Zusätzen, einem hohen Conveniencegrad und gleichzeitig einem effektiven Entgegenwirken der Gefahr einer Vermehrung von Listerien, resultieren die modernen Bestrebungen zur Entwicklung natürlicher Konservierungsmethoden unter Einsatz anti-listerieller Schutzkulturen (Biokonservierung). Biologische Konservierung meint meist den gezielten Einsatz von „guten“ Mikroorganismen, die den Lebensraum auf Produkten besetzen und Nährstoffe verbrauchen, so dass unerwünschte saprophytäre oder pathogene Organismen keine Wachstumsmöglichkeiten haben. Milchsäurebakterien (MSB) sind für eine solche Anwendung prädestiniert. Die von ihnen produzierte Milchsäure hemmt das Wachstum unerwünschter Mikroorganismen durch ihren negativen Einfluss auf die Homöostase der Zielzellen und durch eine begrenzte Absenkung des pH-Wertes. Einige MSB bilden zusätzlich anti-listerielle

Bacteriocine, kleine antagonistische Eiweißmoleküle, die mehr oder weniger nahe verwandte Bakterien abtöten oder im Wachstum hemmen. Beispiele dafür sind die von bestimmten *Lb. sakei* Stämmen gebildeten Bacteriocine Sakacin A und Sakacin P. Im Gegensatz zu fermentierten Produkten (Rohwurst) sollen Schutzkulturen bei Brühwurst möglichst keine Veränderungen der Sensorik hervorrufen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, aus einem Pool potentieller Schutzkulturen für vorverpackten Brühwurstaufschnitt diejenigen mit der besten Schutzwirkung gegen Listerien und mit der günstigsten Sensorik herauszufinden. Getestet wurden kommerziell verfügbare Kulturen und Bacteriocin bildende Kulturen aus der Sammlung des Instituts für Sicherheit und Qualität bei Fleisch des Max Rubner-Instituts. Vergleichende Versuche wurden mit nitrithaltiger (Lyoner) und nitritfreier (Gelbwurst) Ware unter modifizierter Atmosphäre (MAP mit 100 % N<sub>2</sub> sowie 70 % N<sub>2</sub>/30 % CO<sub>2</sub>) durchgeführt. Die vorliegende Arbeit zeigt erstmals, wie sich Milchsäurebakterien und Listerien in MAP-verpackter Brühwurst in Abhängigkeit der Einflussfaktoren Nitrit und CO<sub>2</sub> während der Kühlagerung verhalten und wie verschiedene Schutzkulturen die Listerien und die Sensorik der gelagerten Wurstaufschnitte beeinflussen.

## Material und Methoden

### *Wursterstellung*

Für die Wurst als Ausgangsmaterial wurden ausschließlich einzelne, reine Naturgewürze eingesetzt. Weitere Inhaltsstoffe, z.B. Zuckerstoffe, wie sie in fertigen Würzmischungen enthalten sind, wurden als unkalkulierbare Einflussfaktoren für die Wachstumsbedingungen der Keime ausgeschlossen. Für Lyoner wurde ein NPS-Gehalt von 1,8 %, für Gelbwurst die gleiche Menge Kochsalz verwendet. Die Wurst wurde im Magerbrätverfahren hergestellt und das Brät unmittelbar nach dem Kuttern in Kunststoffdärme (Kaliber 60 mm) abgefüllt. Lyoner wurde zunächst umgerötet, anschließend wurden beide Wurstsorten für 90 Minuten bei 76 °C im Brühschrank gebrüht und danach bei 2 °C im Kühlraum zwischengelagert.

### *Beimpfung der Wurst mit MSB und Listerien*

Die als Schutzkulturen eingesetzten MSB wurden nach Reinheitsprüfung und Vorkultivierung über Nacht in MRS-Bouillon (pH 6,5) angezogen. Die Bakterienzellen wurden durch Zentrifugieren geerntet, gewaschen und in physiologischer Kochsalzlösung resuspendiert. Die Inokulation der Wursthohle mit MSB erfolgte nach Entfernen der Wursthaut durch manuelles Schwenken in definierten Keimsuspensionen in einem großen PET-Beutel (40x60 cm) für 10 sec. Anschließend wurden die Wurststangen mit einer desinfizierten Aufschnittmaschine in Scheiben (2 mm) geschnitten. Dabei verteilen sich die auf der Oberfläche befindlichen MSB über das Schneidblatt auf die gesamte Anschnittfläche. Diese Technik gewährleistet eine gleichmäßige Beimpfung mit definierten Keimzahlen, wobei die Keimzahlen/g Wurst erfahrungsgemäß um den Faktor 100 niedriger liegen als die der voreingestellten Keimsuspensionen. Zur Verpackung wurden die Wurstscheiben (à 200 g) in einer Siegelschale fächerartig ausgelegt. Chargen bei denen das Listerienwachstum getestet wird, wurden pro Scheibe mit 10 µl einer definierten *L. innocua* Mischung (Pool aus drei verschiedenen Stämmen) beimpft, so dass die Ausgangskeimzahl der Listerien immer bei 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> KbE/g lag.

### *Verpackung und Bedingungen während des Lagerversuchs*

Zur Verpackung wurden die Proben mit reinem Stickstoff bzw. einer Atmosphäre aus 70 % Stickstoff und 30 % CO<sub>2</sub> beaufschlagt und mit der Siegelmaschine (Fa. VC 999) verschlossen. Direkt im Anschluss wurden die Packungen bei 5 °C eingelagert. Die gewählte Temperatur wurde als Durchschnittswert von Kühlschränken im Einzelhandel und beim Verbraucher angenommen.

### *Mikrobiologische und sensorische Untersuchungen*

Über eine Lagerdauer von etwa vier bis fünf Wochen wurden in regelmäßigen Abständen die Keimzahlen der Listerien (PALCAM-Agar, Fa. Merck) und MSB (MRS-Agar, pH 6,5) erfasst.

Für die sensorische Untersuchung der Proben wurden zwei Methoden gewählt. Bei den Versuchen 1 bis 4 kam ein geschultes Panel aus DLG-zertifizierten Prüfern zum Einsatz, die eine Bewertung der Proben in Anlehnung an das DLG-5-Punkte-Schema® durchführten. Es konnten auch andere als die von der DLG vorgeschlagenen Attribute genannt werden. Aussagen über die Abweichungen von der Kontrolle wurden hauptsächlich verbal bewertet und nicht über die sich ergebende Qualitätszahl. Im dritten Versuch wurde zusätzlich eine Verbraucherbefragung mit ungeschulten Prüfern durchgeführt. Sie erhielten die gleichen Wurstproben wie oben, mussten aber nur zwischen vier Beliebtheitskategorien unterscheiden. Aus der Beliebtheit ergab sich ein Mittelwert und es wurde eine Rangfolge der beliebtesten Behandlung gebildet. Aus beiden Methoden konnten jeweils nur Tendenzen abgeleitet werden. Aufgrund der

begrenzten Anzahl der Prüfungen wurde auf eine statistische Auswertung verzichtet.

### Ergebnisse und Diskussion

Es wurden vier voneinander unabhängige Versuche durchgeführt, wobei sich die Fragestellung für den jeweils nächsten Versuch aus dem vorhergehenden ergab. Die ermittelten Keimzahlen für Lyoner und Gelbwurst unter  $N_2$  bzw.  $N_2/CO_2$  wurden in Diagramme eingetragen und einander vergleichend gegenüber gestellt (Abb. 1 bis 3). Der Verlauf der Listerien-Keimzahlen in Gegenwart (hellgrün) und Abwesenheit (hellblau) von Schutzkulturen zeigt, in welchem Ausmaß sich Listerien von einer bestimmten Schutzkulturflora auf Lyoner und Gelbwurst unter  $N_2$  bzw.  $N_2/CO_2$  hemmen lassen und welchen Beitrag die Faktoren Nitrit und  $CO_2$  alleine liefern.

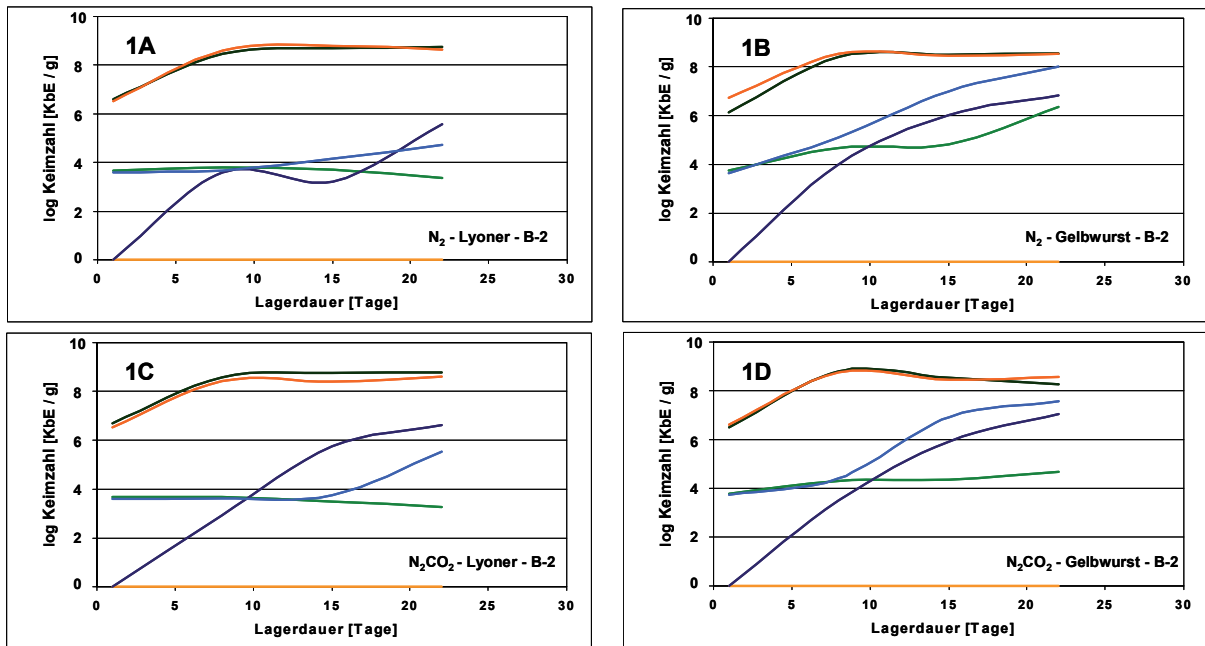


Abb. 1: Wirkung des Bacteriocin-negativen B-2 SafePro® auf Listerien über eine Lagerdauer von 22 Tagen bei einer Ausgangskeimkonzentration der Schutzkultur von  $> 10^6$  KbE/g

Chargen mit Listerien und Schutzkultur beimpft:

Chargen nur mit Schutzkultur beimpft:

Chargen nur mit Listerien beimpft:



### Versuch 1

Zunächst wurde untersucht, welchen Einfluss eine Bacteriocin-negative MSB-Konkurrenzflora auf das Listerienwachstum auf Brühwurstaufschnitt hat. Im Vordergrund stand hier das antagonistische Prinzip der Besetzung des Lebensraums und der Produktion von Milchsäure. Dazu wurde eine kommerzielle Schutzkultur der Art *Lactobacillus (Lb.) sakei* (Fa. Chr. Hansen, B-2 SafePro®) eingesetzt. Dieser Versuch war auch Grundlage für den Vergleich mit Bacteriocin-positiven Stämmen (Versuche 2 und 3).

Die eingesetzte Kultur bewirkte bei beiden Wurstarten und unter beiden Schutzatmosphären eine deutliche Hemmung des Listerienwachstums (Abb. 1). In der Kombination mit Nitrit, also auf Lyoner (Abb. 1A und 1C), war sogar eine Abnahme der Listerienzahlen zu beobachten. Die Keimzahlverläufe der aufgeimpften Schutzkulturen ließen sich dagegen von keinem der

Einflussfaktoren, Nitrit und CO<sub>2</sub>, beeinflussen. Sie wuchsen innerhalb von einer Woche von > 10<sup>6</sup> KbE/g auf > 10<sup>8</sup> KbE/g und verblieben auf diesem Niveau bis zum Ende der Lagerung. Dieses Wachstum der Konkurrenzflora ist notwendig, damit eine kompetitive Wirkung überhaupt erzielt werden kann.

Aus sensorischer Sicht bewirkten die Schutzkulturen gegen Ende der Lagerdauer einen leichten milchsauerem Geschmack, der aber nicht unbedingt unangenehm war, sondern durchaus auch mit einer gewissen Frische assoziiert wurde. Fremdaromen bakteriellen Ursprungs wurden nicht festgestellt (Tab. 1). Auch BREDHOLT *et al.* (2001) fanden eine hohe Wirksamkeit eines Bacteriocin-negativen *Lb. sakei* Stammes auf einem brühwurstähnlichen Fleischerzeugnis. Sie konnten mit ihrer Schutzkultur bei einem Salzgehalt der Wurst von 2,5-3 % das Listerienwachstum komplett verhindern.

Tab. 1: Verwendete Keime in den Versuchen 1 bis 4

Stamm	Art	Quelle	Bewertung der beimpften Proben
B-2 Safe Pro®	<i>Lb. sakei</i>	Schutzkultur für gekochte oder gepökelte Fleischwaren (Fa. Chr. Hansen)	nach 22 Tagen: säuerlicher/saurer Geruch und Geschmack, Altgeschmack, keine Fremdaromen
Lb 706	<i>Lb. sakei</i>	Vakuumiertes Schweinefleisch (BAFF Kulmbach, 1985)	nach 29 Tagen: säuerlicher/saurer Geruch und Geschmack, Altgeschmack, keine Fremdaromen
Lb 674	<i>Lb. sakei</i>	Vakuumiertes Lammfleisch (Neuseeland, 1982)	nach 28 Tagen: chemischer, saurer Geschmack, faulig, Essigsäure, Altgeschmack
Lb 1259	<i>Leuc. carnosum</i>	Schutzkultur für gekochte oder gepökelte Fleischwaren (Fa. Chr. Hansen, B-SF-43 Bactoform™)	nach 18 Tagen: saurer Geschmack, schwefelartig, faulig
Lb 85	<i>Lb. sakei</i>	Rohwurst (Deutschland, 1986)	nach 18 Tagen: säuerlich, Essigsäure, brotig
Rubis®	<i>Lc. lactis spp. lactis</i>	Sauerstoff zehrende Kultur lt. Auslobung (Fa. Chr. Hansen, Rubis®)	nach 18 Tagen: säuerlich, geruchlich sauer, etwas seifig, alt
B-Lc-48	<i>Lb. curvatus</i>	Schutzkultur für Rohwurst, Brühwurst und Fleischzubereitungen (Fa. Chr. Hansen, SafePro® B-Lc-48)	nach 18 Tagen: säuerlich, schwefelartig, brotig/hefig, Essigsäure
nu-trish®	<i>Lb. paracasei spp. paracasei</i>	Probiotische Kultur (lt. Auslobung) zur Herstellung mild-säuerlicher Produkte (Chr. Hansen, FD-DVS L.casei-01-nu-trish®)	nach 18 Tagen: säuerlich, schwefelartig, brotig/hefig, Essigsäure
Lb 1043	<i>Lb. sakei</i>	Gemischtes Hackfleisch (Deutschland, Bayreuth 1991)	nach 18 Tagen: säuerlich, keine Fremdaromen

### Versuch 2

Von MSB, die anti-listerielle Bacteriocine bilden, wird erwartet, dass sie eine ausgeprägtere antagonistische Wirkung gegen Listerien zeigen als Bacteriocin-negative Kulturen. Die *Lb. sakei* Stämme Lb706 und Lb674 aus der Sammlung des Instituts für Sicherheit und Qualität bei Fleisch (MRI Kulmbach) bilden die Bacteriocine Sakacin A bzw. Sakacin P. Sie wurden bereits früher auf vakuumverpacktem Brüh-

wurstaufschnitt (Lyoner) mit Erfolg getestet (KRÖCKEL, 1999). Es war daher von grundsätzlichem Interesse, die Wirkung beider Kulturen auch bei MAP-verpackter Ware zu testen. Beide MSB-Stämme wurden daher in Versuch 2 vergleichend hinsichtlich ihrer Eignung als Schutzkulturen getestet. Beide Kulturen zeigten tatsächlich eine wesentlich stärkere Hemmwirkung gegen Listerien als der MSB-Stamm in Versuch 1 (Abb. 2).

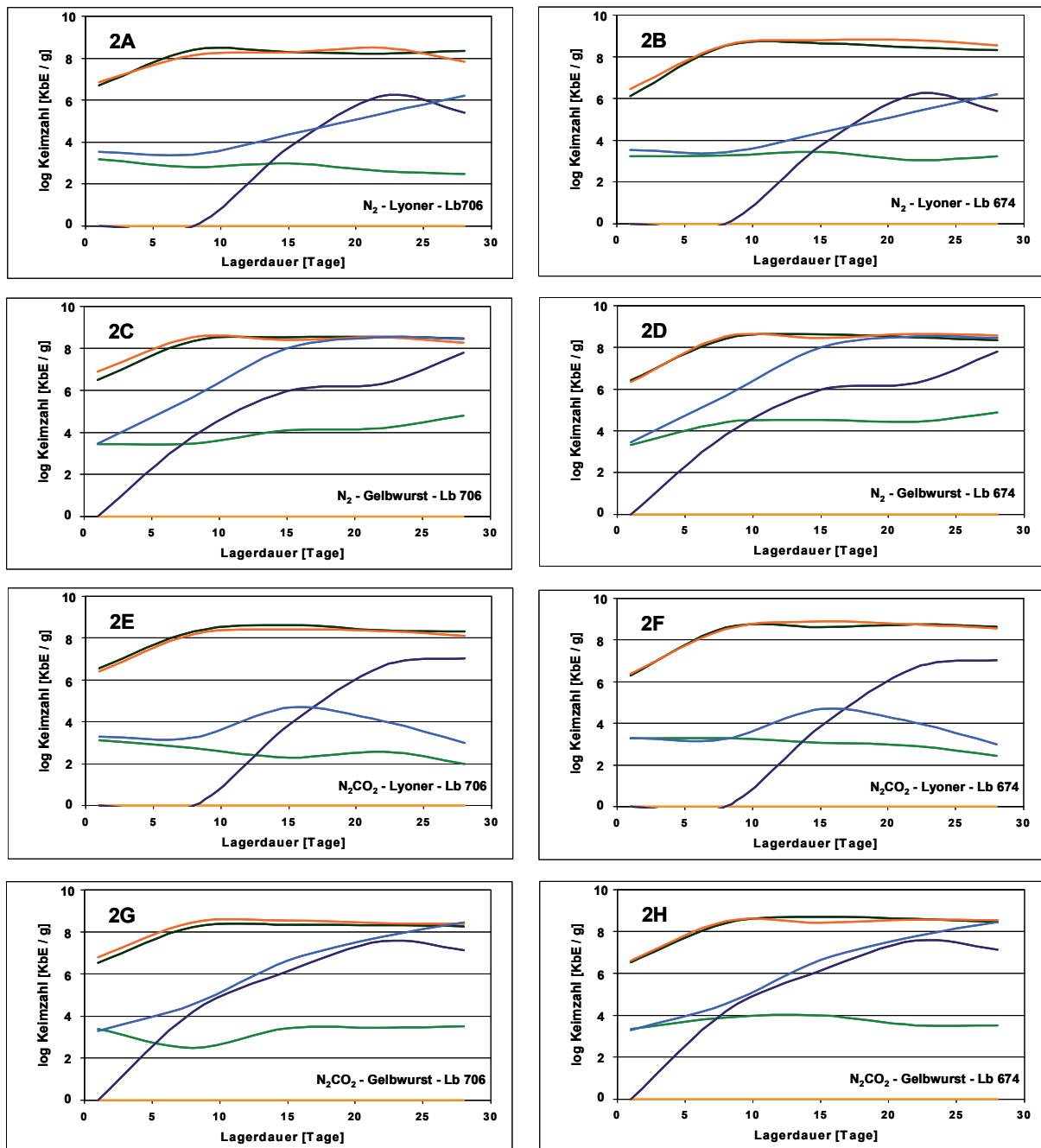


Abb. 2: Wirkung der Bacteriocin-positiven *Lb. sakei*-Stämme Lb706 und Lb674 auf Listerien über eine Lagerdauer von 28 Tagen bei einer Ausgangskeimkonzentration der Schutzkultur von  $> 10^6$  KbE/g. Legende vgl. Abb. 1

Zusätzlich setzte diese Wirkung auch schon am ersten Tag der Lagerung ein. Im Vergleich dazu war bei Versuch 1 erst etwa ab Tag 5 ein unterschiedlicher Verlauf der Listerien mit bzw. ohne Konkurrenzflora zu erkennen. Daraus folgt, dass die produzierten Bacteriocine wesentlich spezifischer und deshalb schon bei einer sehr viel geringeren Konzentration wirken können als die Milchsäure, die erst über einen Zeitraum von etwa 5 Tagen gebildet werden muss. Auch in Versuch 2 zeigte sich eine stärkere Hemmung der Listerien auf Lyoner sowie unter CO<sub>2</sub>-Einfluss im Vergleich zu Gelbwurst und einer reinen Stickstoffatmosphäre.

Aus Versuch 2 wird auch deutlich, wie sich zwei auf den ersten Blick ähnliche Schutzkulturen der gleichen Art in ihrer Wirkung merklich unterscheiden können. So hatte Stamm Lb706 immer eine höhere Wirkung gegen Listerien, und diese setzte auch früher ein als bei Stamm Lb674 (Abb. 2). Im Hinblick auf die Sensorik wurden die beiden Keime unterschiedlich bewertet, Wurstaufschnitt mit Stamm Lb674 wurde dabei eher mit negativen Attributen bedacht („faulig“, „essigsauer“). Stamm Lb706 zeigte dagegen keine Fremdgerüche (Tab. 1). Der Stamm Lb706 eignet sich daher aus sensorischer Sicht für den Einsatz auf Brühwurstaufschnitt besser als der Stamm Lb674. Im Gegensatz zu den hier gezeigten Ergebnissen fanden KATLA *et al.* (2001, 2002) überraschenderweise keinen Unterschied in der anti-listeriellen Wirkung Bacteriocin-positiver und -negativer Schutzkulturen der gleichen MSB-Art.

### Versuch 3

Obwohl die Schutzkultur *Lb. sakei* Stamm Lb706 in Versuch 2 sensorisch besser abschnitt als Stamm Lb674, wurden alle Proben nach etwa der Hälfte, spätestens aber zum Ende der Lagerzeit, als deutlich sauer bewertet. Da diese saure Note aus Sicht der Prüfer bei einer Brühwurst nicht akzeptabel war, wurden im Versuch 3 niedrigere Ausgangskeimzahlen der Schutzkultur getestet. In den ersten beiden Versuchen lagen diese bei  $> 10^6$  KbE/g Wurst. In Versuch 3 sollte Stamm Lb 706 in den Startkonzentrationen  $> 10^4$  KbE/g (nKZ, niedrige Keimzahl) und  $> 10^5$  KbE/g (hKZ, hohe Keimzahl) eingesetzt werden. Auf diese

Weise sollten die sensorisch wirksamen Stoffwechselaktivitäten der Kultur am Anfang der Lagerzeit gering bleiben, d.h. weniger Säure produziert und die annehmbare Haltbarkeitsdauer verlängert werden. Gleichzeitig wurde überprüft, ob unter diesen Bedingungen noch eine ausreichende Hemmung der Listerien erzielt werden kann.

Die aufgeimpften Schutzkulturen wuchsen trotz der niedrigeren Ausgangskeimzahl in der gleichen Zeit von 6 bis 7 Tagen wie in den Versuchen 1 und 2 auf  $> 10^8$  KbE/g. Im Vergleich zu Versuch 2 konnten die Listerien in Gegenwart der Schutzkultur höhere Keimzahlen erreichen. Die niedrigere Ausgangskeimzahl der Schutzkultur erlaubte dabei zunächst eine stärkere Vermehrung der Listerien (Abb. 3). Trotz des schnellen Wachstums auf das Niveau der stationären Phase zeigte die niedrigere Inokulationsdichte der Schutzkultur damit doch eine geringere Hemmwirkung. Diese war aber trotzdem noch ausreichend, um eine unkontrollierte Vermehrung der Listerien zu verhindern.

Bei diesem Versuch wurde zusätzlich eine Verbrauchersensorik durchgeführt. Die Verbraucher erkannten meist einen Unterschied zwischen den beimpften und unbeimpften Proben und bewerteten die beimpften Proben schlechter als die Kontrollen. Ein Unterschied zwischen der höheren und niedrigeren Keimzahl wurde nicht erkannt. Auch ein Erreichen von längeren Haltbarkeitszeiten konnte nicht bestätigt werden. Im Gegensatz dazu fanden BREDHOLT und Mitarbeiter bei Brühwurstaufschnitt mit niedrigeren Anfangskeimzahlen einer *Lb. sakei* Kultur, vergleichbar mit dem hier gezeigten „hKZ“-Ansatz, auch nach 28 Tagen keine von unbeimpften Kontrollen unterscheidbaren sensorischen Abweichungen (BREDHOLT *et al.*, 2001). Bei einer grundsätzlichen Eignung der Schutzkultur hat offenbar die Qualität des Wurstmaterials den größeren Einfluss auf die Sensorik.

Wie bei den vorherigen Versuchen wurden die stärksten anti-listeriellen Effekte bei der gleichzeitigen Anwendung von Nitrit bzw. CO<sub>2</sub> erzielt. CO<sub>2</sub> wirkte sich dabei nicht auf die Sensorik aus und nur in ei-

nem geringen Maß auf das Listerienwachstum. Der Einsatz des bakteriostatischen Gases ist also nicht ganz unbegründet, sollte aber auch nicht überbewertet werden.

**Versuch 4**

Das Angebot an kommerziellen Mikroorganismenkulturen für Lebensmittel umfasst inzwischen auch probiotische Keime,

deren gleichzeitiger Einsatz als Schutzkultur von besonderem Interesse ist. Auch sauerstoffzehrende MSB, die das Produkt (zusätzlich) vor oxidativen Veränderungen (Ranzigwerden, Farbabweichungen) während der Lagerung schützen, sind heute verfügbar. Die sensorischen Einflüsse solcher Kulturen bei Brühwurstaufschnitt sind bisher allerdings relativ unbekannt. In Versuch 4 sollten daher aus einer Auswahl

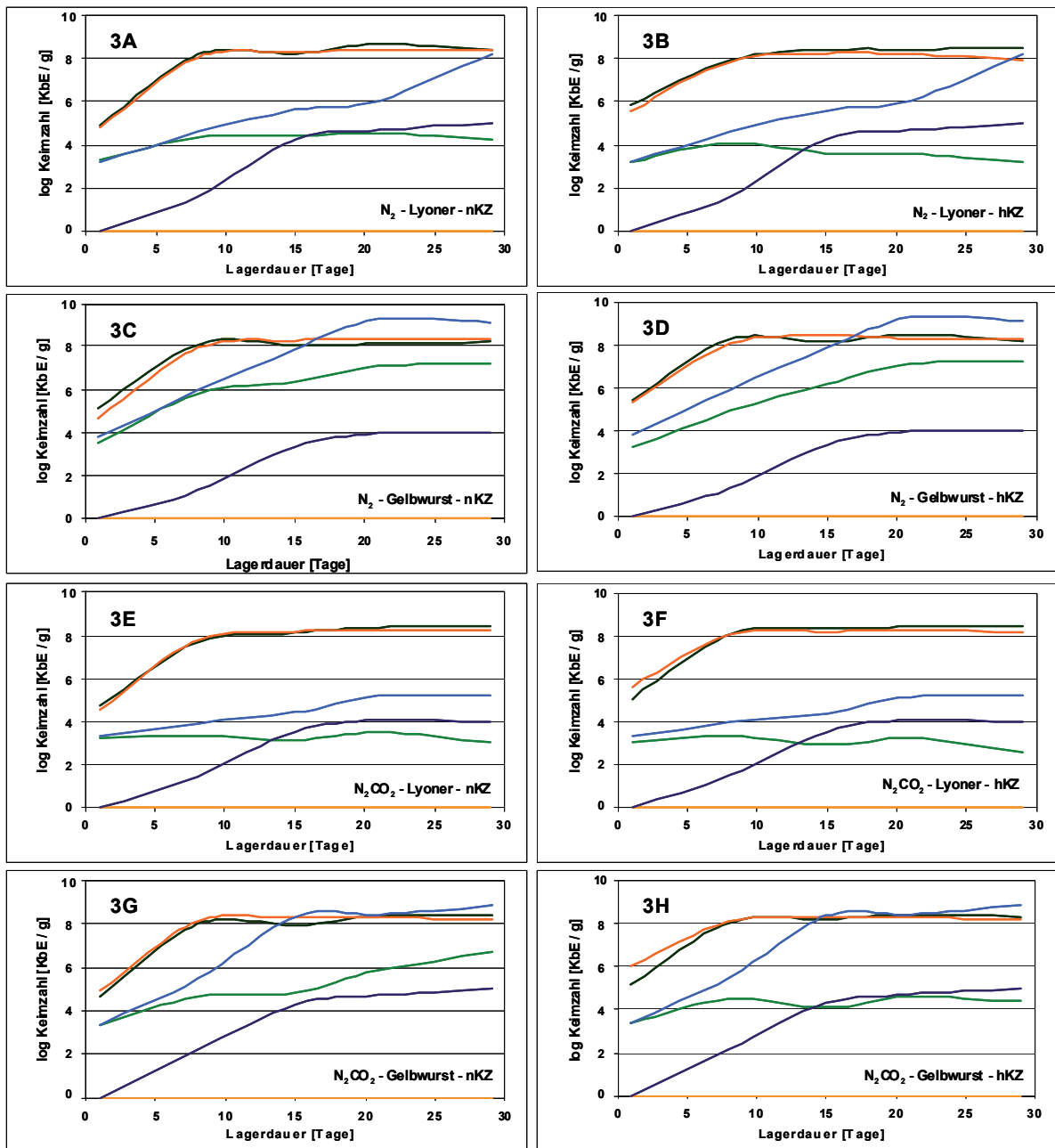


Abb. 3: Wirkung einer niedrigeren Ausgangskeimzahl von  $> 10^4$  KbE / g (nKZ) bzw. einer höheren Ausgangskeimzahl von  $> 10^5$  KbE/g des Bacteriocin-positiven *Lb. sakei* Lb706 auf Listerien über eine Lagerdauer von 29 Tagen. Legende vgl. Abb. 1



weiterer potenzieller Schutzkulturen diejenigen herausgefunden werden, die aus sensorischer Sicht für den Einsatz auf Brühwurstaufschnitt geeignet sind. Dazu wurden Lyoner und Gelbwurst mit fünf verschiedenen Kulturen oder Keimkombinationen beimpft und gelagert. Unter den Keimen befand sich die probiotische Kultur „FD-DVS L. casei-01-nutrish®“, eine Mischkultur aus dem als sauerstoffzehrend beworbenen Keim „Rubis®“ zur Vermeidung oxidativer Fremdaromen und der Schutzkultur SafePro „B-Lc-48®“, die für gepökelte Fleischwaren kommerziell erhältliche Schutzkultur „B-SF-43 Bacterferm®“ und die *Lb. sakei* Stämme Lb 1043 und Lb85 aus der hauseigenen Stammsammlung (Tab. 1).

Es wurde deutlich, dass *Lb. sakei* Stämme aus sensorischer Sicht am besten für den Einsatz auf Brühwurst geeignet sind. Sie erzeugten gegenüber der Kontrolle keine negativen Auffälligkeiten und überdeckten sogar Produktfehler (Tab. 1). Auch weitere Versuche mit der Kombination Rubis® und B-Lc-48® sind aus sensorischer Sicht Erfolg versprechend. MSB können die Produktqualität und -sicherheit nicht nur durch die Verdrängung pathogener Keime verbessern, sondern beispielsweise auch durch den Verzehr von Sauerstoff. Sensorisch geeignete Schutzkulturen, die ihre keimhemmende Wirkung mit weiteren positiven oder werbewirksamen Eigenschaften kombinieren wie probiotische Keime, Keime, die gewürzeigene Nitrate reduzieren können und somit einen Einsatz von Nitritpökelsalz überflüssig machen, oder Keime, die eine Farbverbesserung der Produkte bewirken, besitzen ein hohes Innovationspotential und sind zunehmend Gegenstand aktueller Forschung und Entwicklung (FISCHER *et al.*, 2005; SCHLAFMANN *et al.*, 2002).

### Schlussfolgerungen für die Praxis

MSB der Art *Lb. sakei* eignen sich unter sensorischen Gesichtspunkten am ehesten als Schutzkulturen für die biologische Konservierung von MAP-verpackten Brühwurstwaren. Bacteriocinbildner zeigen dabei eine besondere anti-listerielle Wirkung. Problematisch für einen breiten Einsatz

von Schutzkulturen bei vorverpackten Brühwurstzeugnissen ist nach wie vor, dass alle bisher getesteten Stämme im Laufe der Lagerung zu merklichen, meist säuerlichen Geschmacksabweichungen führen, die bei direktem Verzehr nicht ohne weiteres akzeptiert werden. Bei der Verwendung in Wurstsalaten und Sandwiches wären die säuerlichen Noten aber vermutlich weniger auffällig.

Alle untersuchten Einflussfaktoren zeigten einen Effekt auf das Listerienverhalten. Dabei war Nitrit der wirksamste Einzelfaktor. Listerien wuchsen auf Gelbwurst um vieles besser als auf Lyoner. Erst danach sind Bacteriocin-positive MSB zu nennen. Hier gilt: Je höher die MSB-Keimzahl, desto besser die anti-listerielle Wirkung. Auch Bacteriocin-negative MSB haben noch eine akzeptable Wirkung, wogegen CO<sub>2</sub> in den hier verwendeten Konzentrationen nur einen geringen Effekt zeigt. Am wirksamsten war die Kombination der Schutzkultur mit zusätzlichen Hürden (Nitrit, CO<sub>2</sub>). Besonders hervorzuheben ist dabei die Kombination aus Lyoner mit Schutzkulturen.

Der beste Schutz gegen Listerien auf Wurstwaren ist und bleibt aber neben einer Guten Herstellungspraxis eine professionelle Basishygiene im Betrieb, bei der alle Arten von Kontamination und Rekontamination so weit wie möglich ausgeschlossen werden. Denn wo keine Listerien auf die Ware gelangen, kann auch keine Vermehrung stattfinden. Ist eine Kontamination nicht auszuschließen, ist mit den Schutzkulturen kein zusätzlicher Lenkungspunkt im Sinne des HACCP-Konzeptes gegeben, sondern nur eine Maßnahme, um eine übermäßige Listerienvermehrung zu verhindern.

### Danksagung

Für die technische Assistenz bei der Herstellung und Verpackung sowie bei der mikrobiologischen Untersuchung und sensorischen Bewertung der Würste/Wurstaufschnitte danken wir allen beteiligten Mitarbeitern des Instituts für Sicherheit und Qualität bei Fleisch des MRI Kulmbach.

## Literatur

Bredholt, S. et al. (2001): Industrial application of an antilisterial strain of *Lactobacillus sakei* as a protective culture and its effect on the sensory acceptability of cooked, sliced, vacuum-packaged meats. *International Journal of Food Microbiology* 66, 191-196.

Farber, J. M. und Peterkin, P. I. (2000): *Listeria monocytogenes*. Aus: Lund, B.M. et al.: *The Microbiological Safety and Quality of Food*. Volume II, Springer Verlag 2000.

Fischer, A. et al. (2005): Umrötung von Brühwurst ohne Nitritpökelsalz. *Fleischwirtschaft* 05 (5), 106-109.

Frede, W. (Hrsg.) (2009): *Handbuch für Lebensmittelchemiker*. Springer Verlag 2009.

Hartung, M. (2005): Ergebnisse der Zoonoseerhebung 2003 in Deutschland bei Lebensmitteln. *Fleischwirtschaft* 05 (4), 116-122.

Jakob, H. (2005): *Brühwurst - Erläuterungen zu Brühen, Kerntemperatur, Hitzeschädigung*. Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft.

Katla, T. et al. (2001): Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon by addition of Sakacin P and / or live *Lactobacillus sakei* cultures. *Food Microbiology* 18, 431-439.

Katla, T. et al. (2002): Inhibition of *Listeria monocytogenes* in chicken cold cuts by addition of Sakacin P and Sakacin P-producing *Lactobacillus sakei*. *Journal of Applied Microbiology* 93, 191-196.

Kroeckel, L. (1999): Natürliche Barrieren für die Biokonservierung. *Fleischwirtschaft* 99 (1), 67-70.

Lautenschlaeger, R. und Troeger K. (2007): *Brühwurst*. Aus: Branscheid, W. et al.: *Qualität von Fleisch und Fleischwaren*. Deutscher Fachverlag 2007, 2. Auflage, 938-973.

Rimbach, G. et al. (2010): *Lebensmittelwarenkunde für Einsteiger*. Springer Verlag 2010.

RKI (2010): *Epidemiologisches Bulletin*. Robert Koch-Institut 34, 341-346.

Schlafmann, K. et al. (2002): Starterkulturen zur Verbesserung der Qualität von Rohschinken. *Fleischwirtschaft* 02 (11), 108-114.