

Mikrobiologische Qualität von vorverpacktem Rohschinkenaufschnitt Microbiological quality of prepackaged sliced raw ham

L. KRÖCKEL

Zusammenfassung. Im Rahmen einer Stuserhebung zur mikrobiologischen Qualität und Sicherheit von vorverpacktem Rohschinkenaufschnitt wurden 178 Proben im Einzelhandel eingekauft und nach Lagerung bei 7 °C und 12 °C sensorisch, chemisch-physikalisch und mikrobiologisch untersucht. Bei beiden Lagertemperaturen lag der Anteil verdorbener Ware am Ende des angegebenen Mindesthaltbarkeitsdatums (MHD) bei 10 %. Ohne negativen sensorischen Befund waren 16-20 % der Proben. Der Anteil der als „sauer/säuerlich“ eingestufteten Proben lag bei 32-33 %, wobei bei 12 °C der saure Anteil deutlich überwog. Als „ranzig“ wurden bei 12 °C nahezu doppelt so viele Proben bewertet als bei 7 °C. Die sauer/säuerlichen Proben enthielten stets viele Milchsäurebakterien (MSB), in der Regel die Arten *Lactobacillus (Lb.) sakei* und/oder *Lb. curvatus*. Die Mehrzahl der Proben zeigte bei beiden Lagertemperaturen hinsichtlich eventueller mikrobiologischer Abweichungen einen unauffälligen sensorischen Befund. Sie enthielten mit wenigen Ausnahmen ähnlich viele MSB wie die als verdorben bzw. sauer/säuerlich eingestufteten Proben. Der Anteil der Proben mit mehr als 10⁸ MSB/g war allerdings bei 12 °C etwa dreimal höher als bei 7 °C. Die Keimzahlen der Staphylokokken (STA) variierten von <10³ bis >10⁷ KBE/g (Median 4x10⁵ KBE/g). Die STA-Flora wurde zu >90 % von *Staphylococcus (S.) carnosus* und/oder *S. equorum* bestimmt. Andere STA wurden seltener, zumeist nur in niedrigen Keimzahlen und insbesondere bei Schwarzwälder Schinken gefunden. Die niedrigsten a_w- und pH-Werte fanden sich bei Geflügelerzeugnissen. Ein bis zwei Wochen vor Ablauf des MHD zeigten 83 % der Proben nach Lagerung bei 7 °C keine sensorischen Mängel mit potentiell mikrobiologischem Hintergrund. *S. aureus* und *Listeria monocytogenes* lagen in keiner der Proben in relevanten Keimzahlen vor.

Summary. Within a survey on the microbiological quality and safety of prepackaged sliced raw hams of German origin a total of 178 samples were collected from various local discounters and supermarkets and, after storage at 7 °C and 12 °C, were subjected to sensory, physico-/chemical and microbiological analyses. At both storage temperatures 10 % of samples were spoiled by the end of the shelf-life, 16-20 % were without negative sensory findings, and 32-33 % were rated as sour/sourish, with significantly more sour than sourish samples at 12 °C. The amount of samples recognized as rancid was twice as high at 12 °C than at 7 °C. The ‘sour/sourish’ samples always contained high numbers of lactic acid bacteria (LAB), usually belonging to the species *Lactobacillus (Lb.) sakei* and/or *Lb. curvatus*. At both temperatures the majority of the samples displayed inconspicuous sensory findings with respect to potential microbial deviations. With few exceptions they contained similar high LAB counts as the spoiled and ‘sour/sourish’ rated samples, respectively. The fraction of samples with more than 10⁸ LAB/g was, however, three times higher at 12 °C as compared to 7 °C. The staphylococci (STA) varied from <10³ to >10⁷ cfu/g (median 4x10⁵ cfu/g). The STA flora was dominated by *Staphylococcus (S.) carnosus* and/or *S. equorum* in >90% of the samples. Other STA occurred more rarely, mostly in low numbers and especially on Black Forest hams. The lowest a_w and pH values were observed for poultry products. One to two weeks before the end of the indicated shelf-life 83 % of the samples did not display sensory defects of potential microbial origin after storage at 7 °C. *S. aureus* and *Listeria monocytogenes* were not present in relevant numbers in any of the samples.

Schlüsselwörter

vorverpackter Rohschinkenaufschnitt – mikrobiologische Sicherheit und Qualität – sensorische Qualität – chemisch-physikalische Parameter – dominante Bakterienarten – Milchsäurebakterien – Staphylokokken – Listerien

Key Words

prepackaged sliced raw ham – microbiological safety and quality – sensory quality – physico-/chemical parameters – dominant bacterial species – lactic acid bacteria – staphylococci – listeria

Einleitung

Vorverpackte, verzehrfertige Fleisch-erzeugnisse erfreuen sich großer Beliebtheit. Dies gilt insbesondere für vorportionierte Aufschnittwaren, die dem modernen Konsumenten ein Maximum an *convenience* bieten. Ähnlich wie Brühwurst- und Kochschinkenaufschnitt wird Rohschinkenaufschnitt fast ausschließlich (zu mehr als 90 %) unter Schutzatmosphäre und vor allem in den Kühlregalen der Supermärkte und Discounter angeboten. Rohpökelwaren aus Schweinefleisch wie Lachsschinken, Schwarzwälder Schinken, Land- und Bauernschinken, Frühstücksschinken, Rohschinken mit besonderer Auslobung (mild, salzarm, fettarm, gourmet) und einige Putenerzeugnisse dominieren die äußerst vielfältige Produktpalette der deutschen Hersteller. Die für den Verbraucher relevanten Restlaufzeiten reichen je nach Produkttyp von 2-10 Wochen. Im Gegensatz zu unverpackten, stückigen Rohschinken ist bei Rohschinkenaufschnitt die Abtrocknung nach dem Verpacken abgeschlossen. Der zu diesem Zeitpunkt erreichte a_w -Wert, die Schutzatmosphäre sowie die Lagertemperatur sind ausschlaggebend für das weitere mikrobiologische und sensorische Schicksal der Produkte.

Nur wenige Mikroorganismen können sich bei den gegebenen a_w - und pH-Verhältnissen unter Schutzatmosphäre (N_2 oder N_2/CO_2) und Kühlung vermehren. Bei wenig abgetrockneten Erzeugnissen wie Lachsschinken ist unter diesen Bedingungen am ehesten mit Milchsäurebakterien, Hefen und Listerien zu rechnen. Während der Reifung der Schinken nach dem Pökeln kann es unter ungünstigen Umständen (problematisches Ausgangsmaterial, Prozessfehler, fehlende Schutzkulturen) zu einer Vermehrung von Enterotoxin bildenden Staphylokokken (*S. aureus*) kommen. Eine Vermehrung von *S. aureus* während der Kühllagerung ist dagegen nicht zu erwarten. *Listeria monocytogenes* (*L. m.*) könnte als Rekontaminant beim Aufschneiden auf die Schinkenscheiben gelangen und sich eventuell während der Lagerung der Aufschnittware vermehren. Man nimmt an, dass die Rekontamination

durch Behandlungen nach der Herstellung, z. B. durch Aufschneiden, im ungünstigsten Fall bei 10 KBE/g liegt (ANONYM, 2002). Innerhalb der angegebenen Mindesthaltbarkeit (MHD) darf eine Keimzahl von 100 *L. m.*/g nicht überschritten werden. Für Coagulase-positive Staphylokokken (*S. aureus*) wird ein Richtwert von 1×10^3 und ein Warnwert von 1×10^4 KBE/g angegeben (ANONYM, 2005a; ANONYM, 2010a). *S. aureus* Enterotoxin in Rohschinken hat in der Vergangenheit gelegentlich zu Lebensmittelintoxikationen geführt (SCHLAFMANN, 2002). Auf den Verzehr von Rohschinken zurückzuführende Infektionen mit *L. m.* sind dagegen nicht bekannt.

Der Einsatz von Starter- und Schutzkulturen zur Verbesserung der sensorischen und hygienischen Qualität von Rohschinken wird seit vielen Jahren diskutiert und, wie aus industrienahen Kreisen zu vernehmen ist, auch vielfach schon routinemäßig praktiziert. Apathogene und unter den QPS-Aspekten (*qualified presumption of safety*) der EU sichere, fleischadaptierte Staphylokokken der Arten *S. carnosus*, *S. xylosus* und *S. equorum* sowie bestimmte Milchsäurebakterienarten der Gattungen *Lactobacillus* und *Tetragenococcus* sollen ähnlich wie bei Rohwurst den Reifeverlauf günstig beeinflussen und die Vermehrung unerwünschter Keime unterdrücken (LÜCKE, 1986; SCHLAFMANN *et al.*, 2002; VOGEL *et al.*, 2011).

Für Produkte aus deutscher Herstellung liegen bislang keine systematischen Untersuchungen zur mikrobiologischen Sicherheit und Qualität vor. Außerdem fehlen aktuelle Daten zur sensorischen Qualität und zu wichtigen physikalisch-chemischen Kenngrößen wie a_w - und pH-Werten sowie Gehalten an Wasser, Kochsalz, Nitrit und Nitrat. Ziel der Arbeit war es daher einen repräsentativen Querschnitt von vorverpackten, aufgeschnittenen Rohpökelwaren unter diesen Gesichtspunkten sowohl nach als auch vor Ablauf des Mindesthaltbarkeitsdatums zu analysieren. Unter dem Aspekt der Nachhaltigkeit in der Lebensmittelkette sollte geprüft werden, ob höhere Lagertemperaturen zu nachteiligen Effekten führen.

Material und Methoden

Probenmaterial. Im Zeitraum Juni-September 2008 wurden bei sechs lokalen Discountern und Supermärkten von 51 Proben (unterschiedliche Hersteller und Produkttypen) je 4 Packungen mit identischer Chargennummer und Restlaufzeit gekauft. Die Proben wurden in thermisch isolierten Behältern transportiert und je 2 Packungen jeder Probe sofort je nach produktspezifischer Restlaufzeit 2-10 Wochen bei (a) 7 °C und (b) 12 °C bis zum Ende des MHD gelagert. Je Lagertemperatur wurde dann eine Packung für die sensorische und chemisch-physikalische Analytik und eine Probe für die mikrobiologische Analytik verwendet. Im September 2009 wurden analog 76 Proben von vorverpacktem Rohschinkenaufschnitt eingekauft und bei 7 °C bis zur Untersuchung 6-13 Tage vor Ablauf des MHD gelagert (Tab. 1).

Mikrobiologische Untersuchungen. Aerobe, mesophile Gesamtkeimzahlen wurden auf Std-I, Milchsäurebakterien (MSB) auf MRS-pH6.5, Staphylokokken (STA) auf Mannitol-Salz-Eigelb mit Phenolrot (MSE-P), Hefen auf Malzextraktagar mit Novobiocin (MEA+) und Listerien auf PALCAM-

Agar (Direktverfahren) erfasst. Die Durchführung der Untersuchungen erfolgte in Anlehnung an § 64 LFGB (ANONYM, 2011). Zur Bestimmung der dominanten Bakterienspezies wurden bei einer begrenzten Auswahl von Rohschinkenproben unterschiedliche Kolonietypen bzw. bis zu 10 % der Kolonien aus den höchsten Verdünnungsstufen isoliert und mittels polyphasischer Methoden identifiziert. Lecithinase-positive, goldgelb pigmentierte Kolonien auf MSE-P wurden als präsumptive *S. aureus* gewertet. Die Identifizierung von Milchsäurebakterien und Listerien erfolgte wie bereits früher beschrieben (KRÖCKEL, 1998, 1999, 2008). Die STA-Isolate von MSE-Agar wurden zunächst einem vergleichenden genomischen Fingerprinting mittels BOX-PCR unterworfen. Für jedes BOX-Profil wurde eine Phänotypisierung mittels API-ID32-STAPH (Biomerieux) durchgeführt. Bei Unstimmigkeiten und nicht zuordenbaren BOX-Profilen wurden die Stämme mittels MALDI-TOF-MS weiter charakterisiert (ALBERT *et al.*, 2011) und die vorgeschlagenen Identifizierungen, soweit verfügbar, mittels spezifischer PCR (Tab. 2) oder 16S rDNA-Sequenzierung überprüft. Die partielle Sequenzierung von 16S rDNA erfolgte

Tab. 1: Typ, Kodierung, Anzahl und Anteil der Rohschinkenproben aus 2008 (n=51) und 2009 (n=76)

Produkt-Typ	Code	n		%	
		2008	2009	2008	2009
Lachsschinken	las	11	17	21,6	22,4
Bacon	bc	1	12	2,0	15,8
Rohschinken	ros	8	10	15,7	13,2
Schwarzwälder Schinken	sws	9	7	17,6	9,2
luftgetrockneter Landschinken	lgs	5	6	9,8	7,9
Schinkenspeck	ssp	1	4	2,0	5,3
Bauernschinken	bs	5	3	9,8	3,9
Katenschinken	kas	1	0	2,0	0
Knochenschinken	kns	0	3	0	3,9
Kernschinken	ks	0	2	0	2,6
Nusschinken	ns	3	2	5,9	2,6
Landschinken	ls	2	1	3,9	1,3
Putenschinken	ps	3	6	5,9	7,9
Putenlachsschinken	pls	2	3	3,9	3,9

Tab. 2: Für die Identifizierung von *Staphylococcus* spp. verwendete Referenzstämme und spezifische PCR-Methoden

<i>Staphylococcus</i> spp.	Stamm	Primer-paar	Amplikon (bp)	Referenz für PCR
<i>S. aureus</i>	DSM 20231 ^T	Pri1/Pri2	270	Alarcón <i>et al.</i> , 2006
<i>S. auricularis</i>	DSM 20609 ^T	-	-	-
<i>S. carnosus</i> ssp. <i>carnosus</i>	DSM 20501 ^T	Sc1/Sc2	305	Iacumin <i>et al.</i> , 2006
<i>S. carnosus</i> ssp. <i>utilis</i>	DSM 11676 ^T			
<i>S. epidermidis</i>	DSM 20044 ^T	tuf-g/tuf-e	370	Delgado <i>et al.</i> , 2009
<i>S. equorum</i> ssp. <i>equorum</i>	DSM 20674 ^T	SdAEqF/ SdAEqR	193	Blaiotta <i>et al.</i> , 2004
<i>S. equorum</i> ssp. <i>linens</i>	DSM 15097 ^T			
<i>S. saprophyticus</i> ssp. <i>saprophyticus</i>	DSM 20229 ^T	Sap1/Sap2	221	Morot-Bizot <i>et al.</i> , 2004
<i>S. saprophyticus</i> ssp. <i>bovis</i>	DSM 18669 ^T			
<i>S. vitulinus</i>	DSM 15615 ^T	-	-	-
<i>S. warneri</i>	DSM 20316 ^T	-	-	-
<i>S. xylosum</i>	DSM 20266 ^T	xyIF/xyIR geh3/geh4	539 358	Morot-Bizot <i>et al.</i> , 2004; Iacumin <i>et al.</i> , 2006

im Auftrag nach PCR-Amplifikation mit dem Primerpaar 616V und 606R (EHRMANN *et al.*, 2003) durch einen kommerziellen Anbieter (Eurofins MWG Operon, Ebersberg). Rückschlüsse auf Unterarten erfolgten nach Bestätigung der Art mittels spezifischer PCR aufgrund spezifischer phänotypischer Eigenschaften (SCHLEIFER und BELL, 2009; STEPANOVIĆ *et al.*, 2007).

Sensorische Untersuchungen. Die Proben wurden von einem vier- bis sechsköpfigen, geschulten Sensorikteam nach DLG-Kriterien bewertet.

Chemisch-physikalische Analytik. Die Bestimmung von a_w - und pH-Werten sowie Gehalten an Wasser, Kochsalz, Nitrit und Nitrat erfolgte in Anlehnung an § 64 LFGB (ANONYM, 2011).

Statistik. Dokumentation, Auswertung und Darstellung der Ergebnisse erfolgten in MS Word, Excel und Powerpoint (Microsoft Office 2003, Microsoft Inc.). Box-Whiskers-Darstellungen wurden mittels Statistica 7.1 (StatSoft Inc., Tulsa, USA) und Sequenzvergleiche mittels NCBI BLAST (www.ncbi.nlm.nih.gov) durchgeführt.

Ergebnisse

Proben aus 2008 am Ende des MHD

Sowohl bei 7 °C als auch bei 12 °C lag der Anteil verdorbener Ware in 2008 bei 10 % der jeweils 51 Proben. Ohne negativen sensorischen Befund waren 16-20 % der Proben. Der Anteil der als „sauer/säuerlich“ eingestuften Proben lag bei 32-33 %, wobei bei 12 °C der saure Anteil deutlich überwog. Als „ranzig“ wurden bei 12 °C nahezu doppelt so viele Proben bewertet (22 % vs. 12 %) als bei 7 °C. Als „salzig“, „ranzig“, „leimig“, „bitter“, „alt“, „seifig“, „untypisch“ und „fischig“ wurden nach Lagerung bei 7 °C je 20, 6, 13, 3, 9, 1, 1 und 3 der Proben wahrgenommen, nach Lagerung bei 12 °C je 22, 11, 9, 2, 4, 2, 1 und 0 Proben. Die sauer/säuerlichen Proben enthielten stets hohe MSB-Keimzahlen (10^7 bis 10^9 KBE/g). „Hefige“ Geschmacksnoten korrelierten interessanterweise nicht mit erhöhten Hefekeimzahlen sondern eher mit erhöhten MSB-Keimzahlen.

Die Mehrzahl der Proben (57-61 %) zeigte bei beiden Lagertemperaturen hinsichtlich eventueller mikrobiologischer Abweichungen einen unauffälligen sensorischen Be-

fund. Die MSB Keimzahlen dieser Proben lagen mit wenigen Ausnahmen ähnlich hoch wie die bei den als verdorben bzw. sauer/säuerlich eingestuftten Proben. Der Anteil der Proben mit mehr als 10^8 MSB/g war allerdings bei 12 °C etwa dreimal höher als bei 7 °C (Abb. 1). Im Gegensatz zu den MSB zeigten die STA erheblich größere Schwankungen in der Keimzahl (Bereich $<10^3$ bis $>10^7$ KBE/g) mit einem Schwerpunkt bei 10^4 bis 10^7 KBE/g (Median 4×10^5).

Eine genauere Analyse ausgewählter Proben ergab, dass es sich bei den dominierenden MSB in der Regel um die Arten *Lactobacillus (Lb.) sakei* und/oder *Lb. curvatus* handelt. Aber auch *Leuconostoc carnosum*, *Carnobacterium maltaromaticum*, *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* und *Lb. plantarum* wurden vereinzelt nachgewiesen (Abb. 2).

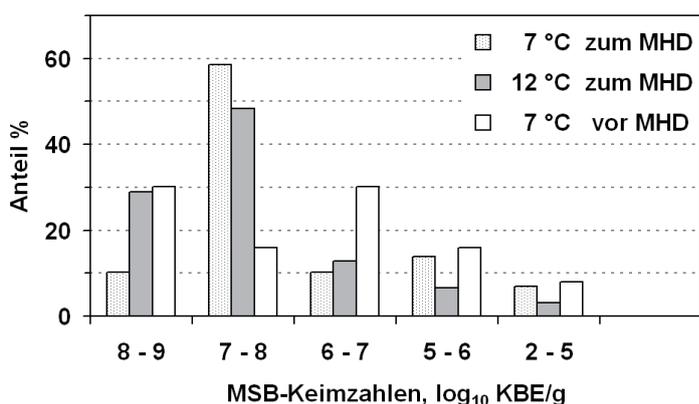


Abb. 1: Verteilung der ermittelten MSB-Keimzahlen bei den Rohschinkenproben mit „unauffälligem sensorischen Befund hinsichtlich eventueller mikrobiologischer Abweichungen“ nach Lagerung bei 7 °C und 12 °C bis zum angegebenen Mindesthaltbarkeitsdatum (MHD) (Proben aus 2008) und bei 7 °C bis 1-2 Wochen vor Ablauf des MHD (Proben aus 2009)

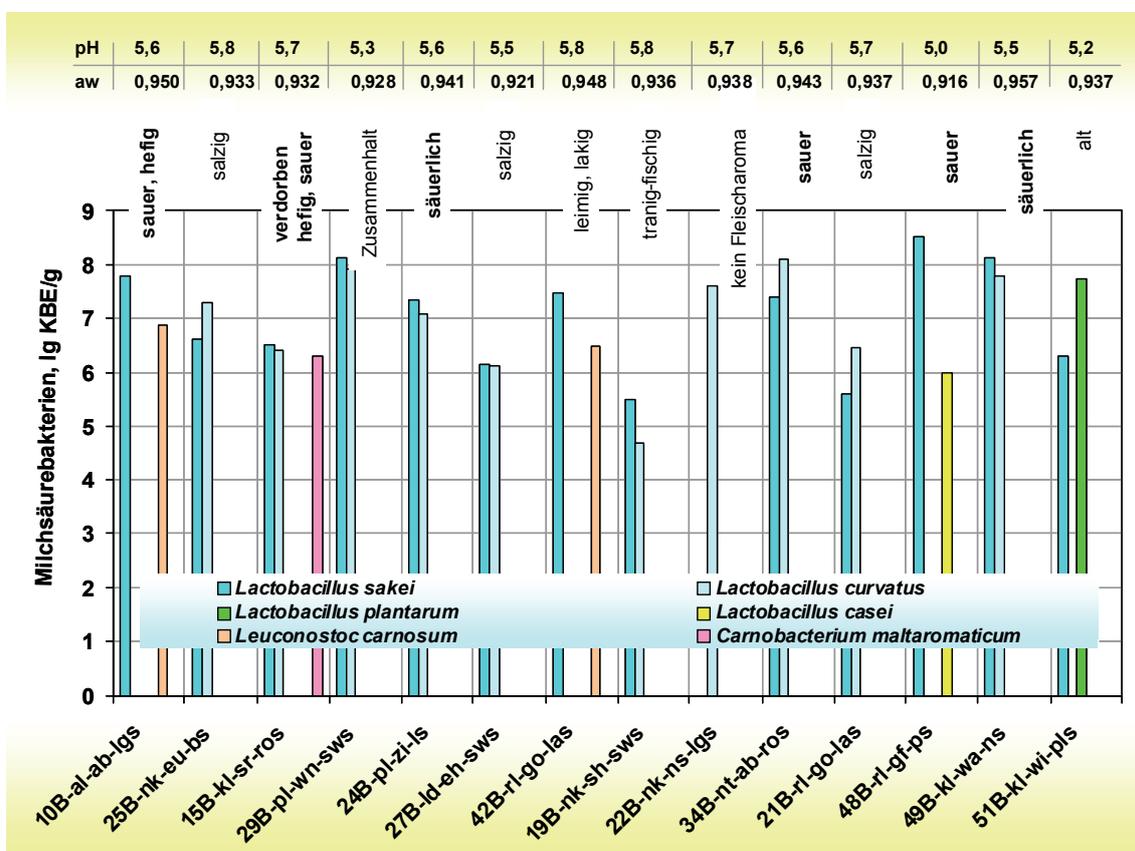


Abb. 2: Keimzahlen dominanter Milchsäurebakterien (MSB) in ausgewählten Rohschinkenproben mit zugehörigen pH- und a_w-Werten sowie der sensorischen Beurteilung der Proben aus 2008 nach Lagerung bei 7 °C. Proben-codes (-lgs, -bs, -ros, -sws, -ls, -las, -ps, -ns, -pls ; s. Tab. 1)

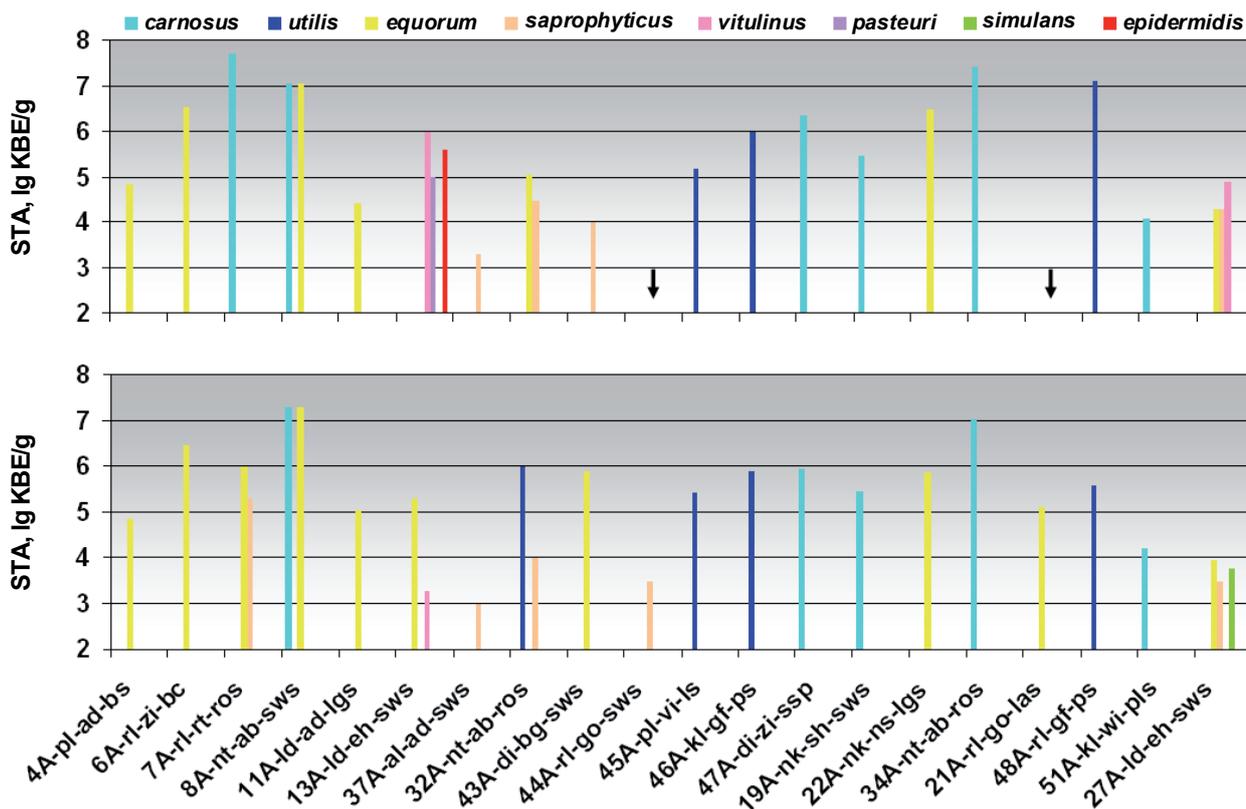


Abb. 3: Keimzahlen dominanter *Staphylococcus* spp. (STA) in ausgewählten Rohschinkenproben zum MHD nach Lagerung bei 7 °C und 12 °C. Pfeile, unterhalb der Nachweisgrenze; Probenkodierung (-bs, -bc, -ros, -sws, -lgs, -ls, -ps, -ssp, -las, -pls; vgl. Tab. 1; 4A-pl-ad-bs bei 12 °C entspricht 4B-pl-ad-bs bei 7 °C, usw.)

Die als Rohwurststarter bekannte Art *S. carnosus* wurde in 49 % der näher untersuchten Proben als dominante STA identifiziert (30 % *S. carnosus* subsp. *carnosus*, 19 % *S. carnosus* subsp. *utilis*). Die Differenzierung der Subspecies erfolgte unter Berücksichtigung des Phänotyps für Mannit und Mannose der in der spezifischen PCR positiven *S. carnosus* Isolate (+, *carnosus*; -, *utilis*). Die neuerdings als Starter- und Schutzkultur für Rohschinken vorgeschlagene Art *S. equorum* wurde in 43 % der Proben nachgewiesen. Aufgrund des Phänotyps für Saccharose wurden alle Isolate dieser Art der Subspecies *equorum* zugerechnet. Die phänetische Diversität in den Merkmalen Arabinose, Maltose, Ribose, Trehalose und Novobiocin erschwerte allerdings eine eindeutige Zuordnung zu ssp. *equorum* und ssp. *linens*, so dass hierzu weitere Untersuchungen erforderlich sind. Den bisherigen Ergebnissen zufolge könnten beide Subspecies im Verhältnis 1:1 vorlie-

gen. Andere Staphylokokken wurden seltener und in der Regel nur in niedrigen Keimzahlen, insbesondere bei Schwarzwälder Schinken gefunden (Abb. 3).

Die höchsten Keimzahlen wurden von *S. carnosus* subsp. *carnosus* erreicht, gefolgt von *S. equorum*. Die 7 °C und 12 °C Proben stimmten hinsichtlich der identifizierten dominanten *Staphylococcus* spp. und annähernd auch hinsichtlich der STA-Keimzahlen in 75 % aller Fälle überein. Bemerkenswert ist, dass die selteneren STA-Arten (*S. vitulinus*, *S. pasteuri*, *S. simulans*, *S. epidermidis*) nur beim Schwarzwälder Schinken (sws) gefunden wurden, und da wiederum auch nur bei einem von sechs Herstellern. Auch der meist nur in relativ niedrigen Keimzahlen (10^3 - 10^4 KBE/g) vorkommende *S. saprophyticus* wurde vorwiegend bei Schwarzwälder Schinken gefunden. Alle näher untersuchten Isolate waren Ribose (-) und damit der Subspecies *saprophyticus* zu-

zuordnen. Allerdings waren 10 von 11 dieser Isolate positiv für Nitratreduktase (NAR) und somit eher ssp. *bovis*. Da der ssp. *bovis*-Typstamm ebenfalls Ribose (-) und NAR (+) war, kommt auf den Rohschinken wahrscheinlich die Subspecies *bovis* vor.

Die Art *S. vitulinus* wurde von API-ID32-STAPH regelmäßig als *S. capitis* identifiziert, vom MALDI-Biotyper aber als *S. vitulinus*. Letzterer gehört zur *S. fleuretti* Gruppe, deren Mitglieder sich von allen anderen Staphylokokken, u. a. von *S. capitis*, durch eine positive Oxidase-Reaktion unterscheiden. Unter Berücksichtigung dieser Reaktion konnten alle mittels API als „*S. capitis*“ identifizierten Isolate schließlich als *S. vitulinus* bestätigt werden. Bei der Art *S. simulans* gab es keine Diskrepanz zwischen dem API-ID32-STAPH System und dem MALDI-Biotyper, während *S. epidermidis* (MALDI) vom API System fälschlicherweise als *S. hominis* identifiziert wurde. Die MALDI-Identifizierung für *S. epidermidis* konnte durch spezifische PCR, die für *S. simulans* durch 16S rDNA-Sequenzierung bestätigt werden.

Der mittels API als *S. warneri* identifizierte Stamm wurde vom MALDI-Biotyper eher dem sehr nahe verwandten *S. pasteurii* zugerechnet. Phänotypisch lassen sich beide Arten kaum unterscheiden, *S. pasteurii* verträgt höhere Salzkonzentrationen aber tendenziell besser, und NAR-positive Isolate, wie in unserem Fall, finden sich bei *S. warneri* eher nicht. Die gelbe Koloniefärbung des Eigenisolats (fehlt bei *S. warneri*) spricht für die Richtigkeit des MALDI-Ergebnisses (CHESNEAU *et al.*, 1993).

Die mittels BOX-PCR erhaltenen genetischen Fingerabdrücke waren bei den

Milchsäurebakterien eindeutiger interpretierbar und qualitativ besser als bei den Staphylokokken. Die Typstämme der Staphylokokken zeigten häufig ein anderes BOX-Profil als die Feldisolate, die Anzahl der Profile variierte stark zwischen den einzelnen Arten und die Reproduzierbarkeit der Profile war vielfach unbefriedigend. Dennoch ermöglichten die Profile in der Mehrzahl der Fälle zutreffende Rückschlüsse auf die jeweilige Art.

S. aureus (*S. a.*) und Listerien waren in keiner der Proben im Direktverfahren nachweisbar und lagen somit in Keimzahlen $<10^2$ - 10^4 KBE/g (*S. a.*, Nachweisgrenze abhängig von der *Staphylococcus*-Begleitflora) bzw. <10 KBE/g (Listerien) vor.

Die Mediane der a_w - und pH-Werte für die Kategorien Putenerzeugnisse, Bauern-/Landschinken, Schwarzwälder Schinken, Rohschinken, Lachsschinken waren 0,918, 0,927, 0,930, 0,940, 0,952 und 5,1, 5,9, 5,6, 5,6, 5,5. Die Gehalte an Wasser, NaCl, Nitrit und Nitrat sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Proben aus 2009 vor Ablauf des MHD

Die 76 in 2009 nach dem Einkauf einheitlich bei 7 °C ein bis zwei Wochen vor Ablauf des MHD gelagerten Proben zeigten zu 83 % keine sensorischen Mängel mit potentiell mikrobiologischem Hintergrund, obwohl davon wiederum 75 % mehr als 10^6 und 30 % mehr als 10^8 MSB/g enthielten (Abb. 1). In 39 % aller Fälle waren die Aufschnittwaren auch sonst nicht zu beanstanden. Von den 76 Proben wurden zwei (3 %) als verdorben und 11 (14 %) als sauer/säuerlich bewertet, darunter alle 6 untersuchten Putenschinken. Als „salzig“, „ranzig“, „leimig“, „untypisch“ und

Tab. 3: Minimale, mediane und maximale Gehalte an Wasser, NaCl, Nitrit und Nitrat (Proben 2008)

Kategorie	% Wasser	% NaCl	ppm Nitrit	ppm Nitrat
Putenerzeugnisse (n=10)	51,9 - 55,7 - 61,2	3,6 - 5,2 - 5,6	2 - 4 - 6	0 - 6 - 20
Bauern-/Landschinken (n=24)	48,5 - 59,2 - 65,4	3,8 - 6,0 - 7,8	4 - 11 - 57	5 - 25 - 280
Schwarzwälder Schinken (n=18)	52,5 - 59,8 - 64,2	4,6 - 5,7 - 6,8	8 - 16 - 37	15 - 124 - 224
Rohschinken (n=16)	54,8 - 62,3 - 63,8	3,6 - 5,0 - 6,1	2 - 6 - 24	0 - 23 - 107
Lachsschinken (n=22)	60,0 - 65,9 - 69,8	2,4 - 4,3 - 6,0	2 - 8 - 67	8 - 26 - 100

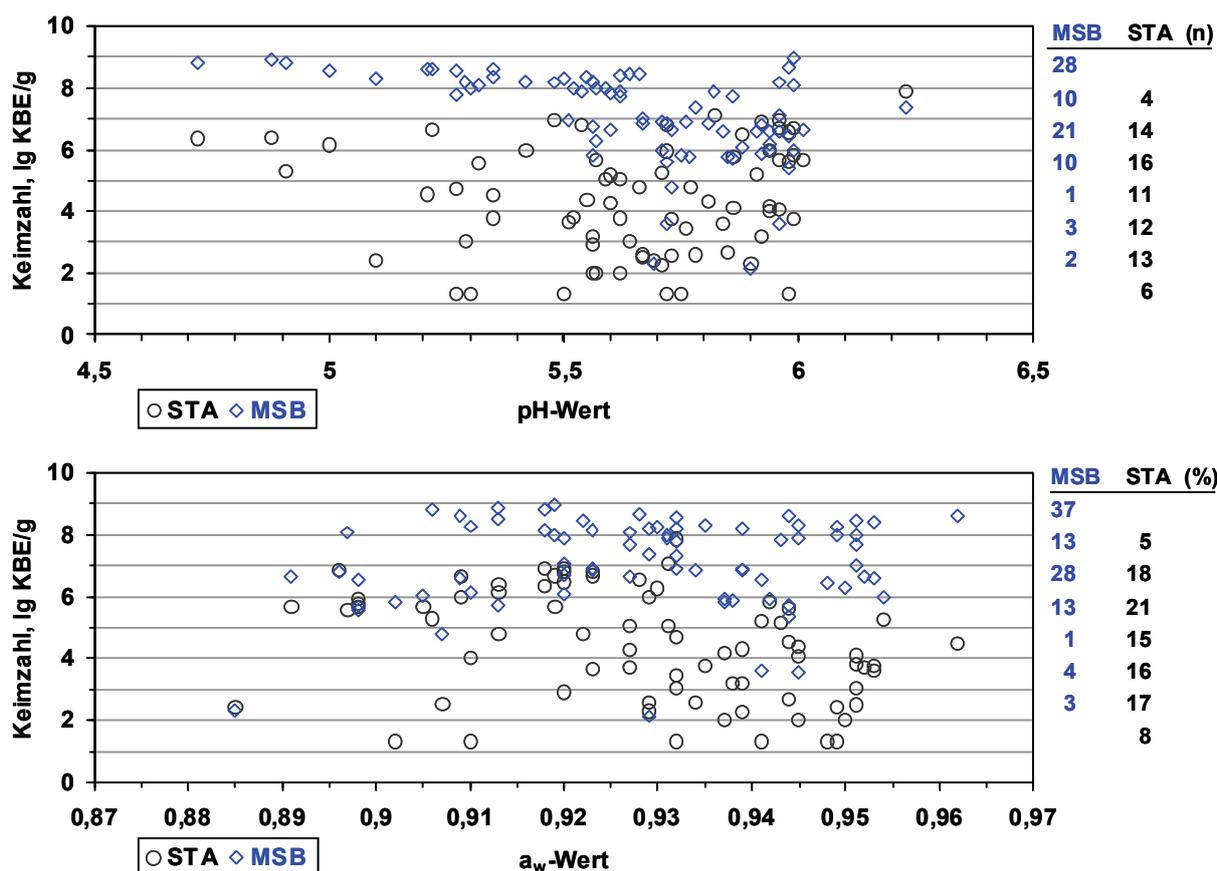


Abb. 4: Keimzahlen der Milchsäurebakterien (MSB) und Staphylokokken (STA) in den ein bis zwei Wochen vor Ablauf des MHD untersuchten Rohschinkenproben und zugehörige pH- und a_w -Werte der Proben. Die Anzahl (n) bzw. der Anteil (%) der Proben im jeweiligen Keimzahlbereich ist rechts neben den Diagrammen angegeben (Bsp.: 21 Proben bzw. 28 % der Proben wiesen MSB-Keimzahlen von lg 6-lg 7 KBE/g auf; 14 Proben bzw. 18 % der Proben wiesen STA-Keimzahlen von lg 6-lg 7 KBE/g auf)

„fischig“ wurden je 29, 4, 14, 8 und 5 Proben wahrgenommen. Säuerlich/saure Geschmacksnoten korrelierten überwiegend mit MSB Keimzahlen größer 10^8 KBE/g und pH-Werten kleiner 5,5. Die besten Noten wurden für Produkte im pH-Bereich 5,5-5,9 vergeben. In diesem Bereich lagen die niedrigsten MSB Keimzahlen bei 10^3 - 10^4 , die höchsten bei 10^8 und die Mehrzahl bei 10^6 - 10^7 KBE/g. Die STA Keimzahlen schwankten wie schon in 2008 in einem weiten Bereich (< 10^6 bis > 10^7 KBE/g), mit Schwerpunkt bei 10^4 - 10^7 KBE/g (Abb. 4).

S. aureus und *L. monocytogenes* waren wie bereits in 2008 in keiner der Proben im Direktverfahren nachweisbar. In einer der Proben, einem luftgetrockneten Landschinken, wurde *L. innocua* mit 20 KBE/g detektiert.

Die Mediane der ermittelten Kochsalzgehalte lagen zwischen 3-6 %. Die niedrigsten Werte wurden bei Schinkenspeck gemessen, die höchsten bei Schwarzwälder Schinken (Abb. 5a). Die Mediane der a_w -Werte reichten von 0,91 (luftgetrockneter Schinken) bis knapp über 0,95 (Schinkenspeck). (Abb. 5b). Die pH-Werte lagen bei Bacon, Nuss-, Bauern-, Knochen- und luftgetrocknetem Schinken vergleichsweise hoch (zwischen 5,8-6,0) und auffallend niedrig bei Putenschinken (Abb. 5c).

Diskussion

Vorverpackte Rohschinkenaufschnitte deutscher Hersteller weisen unseren Untersuchungen zufolge überwiegend angemessene Haltbarkeitsdaten auf und können in Bezug auf *L. monocytogenes* und

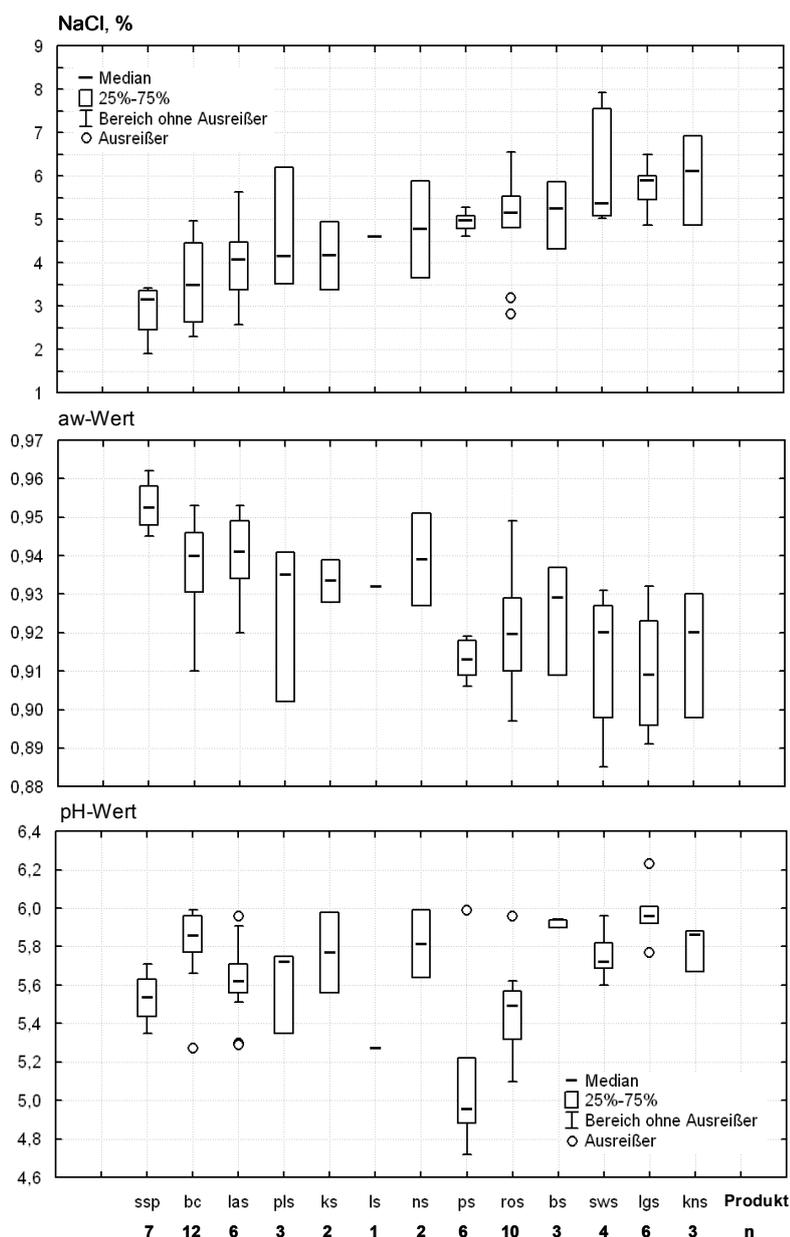


Abb. 5: Chemisch-physikalische Qualität der Rohschinkenproben aus 2009. Box-Whiskers-Darstellung von Kochsalzgehalt, a_w - und pH-Wert; n, Anzahl der Proben.

Code	Produkt
ssp	Schinkenspeck
bc	Bacon
las	Lachsschinken
pls	Putenlachsschinken
ks	Kernschinken
ls	Landschinken
ns	Nusschinken
ps	Putenschinken
ros	Rohschinken
bs	Bauernschinken
sws	Schwarzwälder Schinken
lgs	luftgetrockneter Schinken
kns	Knochenschinken

S. aureus als mikrobiologisch sicher angesehen werden. Am Ende des MHD enthalten viele Aufschnitte hohe MSB-Keimzahlen, die aber sensorisch überwiegend nicht negativ auffallen. Auf der anderen Seite korrelieren mikrobiologisch bedingte Qualitätsabweichungen (sauer/säuerlich, hefig, alt, verdorben), in der Regel mit hohen MSB Keimzahlen.

Bei den fleischeigenen MSB, die in Pökellaken höhere Keimzahlen erreichen handelt es sich in der Regel ausschließlich um Stämme der *Lb. sakei/curvatus* Gruppe mit einer klaren Dominanz von *Lb. sakei* (KRÖCKEL *et al.*, 2011). Dies spiegelt sich auch in der Zusammensetzung der MSB-Flora der aufgeschnittenen, verpackten

Rohschinken/-pökelfwaren wider (Abb. 2). Ob es sich hier ausschließlich um eine native Pökelflora oder eventuell auch um absichtlich zugesetzte MSB-Arten bzw. um Kreuzkontaminationen beim Aufschneiden handelt, kann vorerst nicht beantwortet werden. Höhere Keimzahlen von *Lb. paracasei* und *Lb. plantarum* sind dagegen eher ungewöhnlich und deuten auf einen Kultureinsatz bzw. Kreuzkontamination aus dem Rohwurstbereich hin. Für *Leuconostoc carnosum* wurden Schutzkulturenanwendungen bei Fleischerzeugnissen beschrieben (KRÖCKEL *et al.*, 2011), so dass der gezielte Einsatz einer solchen Kultur nicht auszuschließen ist. Diese heterofermentative MSB-Art könnte aber eher, ebenso wie *Carnobacterium malt-*

aromaticum, auf hygienische Probleme bei der Fleischauswahl oder der Pökellung hindeuten.

Der Einsatz von Starter- und Schutzkulturen bei der industriellen Herstellung von Rohschinken wird schon seit langem diskutiert (LÜCKE, 1986; SCHLAFMANN *et al.*, 2002). Es gibt allerdings gegenwärtig keine wissenschaftlichen Veröffentlichungen, in welchen der Einsatz solcher Kulturen in der deutschen Rohschinkenproduktion zweifelsfrei nachgewiesen wurde. Gleichwohl ist der Einsatz solcher Kulturen Insider-Informationen zufolge weit verbreitet (SCHWING, pers. Mittl.; STIEBING, pers. Mittl.). Neben den „Klassikern“ unter den *Staphylococcus* Startern, *S. xylosus* und *S. carnosus*, kommt bei Rohwurst seit kurzem auch *S. vitulinus* zum Einsatz, und die Art *S. equorum* wurde bei Rohschinken als Starter vorgeschlagen (SCHLAFMANN *et al.*, 2002; GILET, 2010; TERNS *et al.*, 2011).

Die Mehrheit der hier isolierten Staphylokokken wird nach TRBA 466 der Risikogruppe 1 zugeordnet, und kann beim Menschen keine Krankheiten auslösen (ANONYM 1999, 2010b). Die Isolate von *S. epidermidis*, *S. pasteurii* und *S. saprophyticus* ssp. *saprophyticus* gehören dagegen zur Risikogruppe 2 (können beim Menschen Krankheiten auslösen) und sind daher auf Rohschinkenaufschnitt prinzipiell unerwünscht (MARINO *et al.*, 2011). Der Einsatz von Schutzkulturen bei Rohschinken, insbesondere Schwarzwälder Schinken, könnte möglicherweise die Vermehrung unerwünschter STA Spezies während der Schinkenreifung verhindern und wäre daher mit Blick auf den vorbeugenden Verbraucherschutz durchaus interessant (SCHLAFMANN *et al.*, 2002). Auffallend war, dass die Art *S. xylosus* auf den untersuchten Proben in keinem Fall nachweisbar war. Dies legt die Vermutung nahe, dass sich *S. xylosus* unter den Bedingungen der Rohschinkenherstellung in Deutschland nicht entwickeln kann, und dass diese Art hier auch nicht als Starterkultur eingesetzt wird. Auf Iberischem Rohschinken kann diese Art dagegen durchaus die Staphylokokkenflora dominieren (RODRÍGUEZ *et al.*, 1994).

Über Probleme bei der Identifizierung von Staphylokokken mittels kommerzieller Systeme auf Basis biochemischer Reaktionen wurde vielfach berichtet (MOROT-BIZOT *et al.*, 2004; Iacumin *et al.*, 2006; STEPANOVIĆ *et al.*, 2007). Der in dieser Arbeit gewählte polyphasische Ansatz ermöglichte in den meisten Fällen die sichere Identifizierung bis zur Subspeziesebene. Vergleichendes genomisches Fingerprinting mittels BOX-PCR lieferte dabei hilfreiche Hinweise, war aber anders als bei den MSB und Listerien nicht immer eindeutig. Die MALDI-TOF-MS gab entscheidende Hinweise bei fragwürdigen Identifizierungen durch API-ID32-STAPH (ALBERT *et al.*, 2011).

Die Mediane der a_w - und pH-Werte der Proben aus 2008 und 2009 für Putenerzeugnisse, Bauern-/Landschinken, Schwarzwälder Schinken, Rohschinken und Lachsschinken waren nur bedingt vergleichbar. So lagen die a_w -Werte etwa bei Schwarzwälder Schinken, Rohschinken und Lachsschinken in 2009 um 0,01 niedriger und die Putenerzeugnisse bis zu 0,02 höher. Letztere lagen teilweise auch im pH-Wert etwas höher. Diese Unterschiede sind möglicherweise dem relativ kleinen Probenumfang geschuldet.

Die Gehalte der Proben an Kochsalz, Nitrit und Nitrat bewegten sich im Wesentlichen im Rahmen der Befunde von 587 Proben aus 14 Bundesländern aus dem bundesweiten Überwachungsplan 2007 (KRASCHON, 2008). Fast alle Mittelwerte für den Natriumchlorid-Gehalt lagen bei den Proben aus der Überwachung relativ einheitlich zwischen 4,3-6,8 % (Ausnahmen: 2,1, 2,9 und 11,1 %), die meisten Mittelwerte für den Nitritgehalt im Bereich zwischen 10-54 mg/kg sowie die für den Nitratgehalt im Bereich zwischen 36-361 mg/kg. Als Mittelwerte für Bauernschinken, Schwarzwälder Schinken, Rohschinken und Lachsschinken wurden 5,1, 5,3, 5,4 und 4,7 % NaCl, 10, 12, 22 und 30 ppm Nitrit sowie 26, 105, 119 und 66 ppm Nitrat genannt. In unserem Fall lagen die entsprechenden Mediane bei 6,0, 5,7, 5,0 und 4,3 % für NaCl, bei 11, 16, 6 und 8 ppm für Nitrit sowie bei 25, 124, 23 und 26 ppm für Nitrat.

Die erlaubten Höchstmengen für Nitrite und Nitrate im fertigen Erzeugnis sind für Rohschinken 50 und 250 mg/kg (ANONYM, 2005b). Überschreitungen für Nitrit gab es bei zwei der Bauernschinken (55 und 56 ppm) Proben und einer der 22 Lachsschinken (67 ppm) Proben. Den Grenzwert für Nitrat überschritten drei der 102 Proben (2 Bio-Katenschinken, ein luftgetrockneter Schinken). Mehr als 75 % der Proben wiesen weniger als 20 ppm Nitrit und 100 ppm Nitrat auf. Höhere Nitritgehalte (20-68 ppm) fanden sich herstellerspezifisch vor allem bei Schwarzwälder- und Bauern-/Landschinken, eher niedrigere Gehalte (< 7 ppm) bei Putenerzeugnissen (100 %) und herstellerspezifisch bei Roh- und Bauernschinken. Höhere Nitratgehalte wurden herstellerspezifisch vor allem bei Schwarzwälder Schinken (50 % mit 140-220 ppm) gefunden, eher niedrigere (0-20 ppm) bei Putenerzeugnissen (100 %), und herstellerspezifisch auch bei Roh-, Bauern-/Landschinken, Lachs- und Schwarzwälder Schinken. Unter den nitrit- und nitratarmen Proben (<10 ppm Nitrit und <30 ppm Nitrat; n=41) fanden sich überwiegend Putenerzeugnisse, Lachsschinken sowie Rohschinken mit besonderer Auslobung (light/leicht, edel, gourmet, mild) und Landschinken bestimmter Hersteller. Der Salzgehalt der "light/leicht, mild" Rohschinken lag zwischen 3,5-5,0 %. Lachsschinken enthielten überwiegend weniger als 4,5 % NaCl, 32 % lagen zwischen 5,1-6,0 %. Die höchsten Salzgehalte (6,5-7,8 %) wurden bei Bauern-/Landschinken gemessen.

Schlussfolgerungen für die Praxis

Insgesamt zeigten die Ergebnisse, dass es sich bei den vorverpackten Rohschinkenaufschnitten deutscher Hersteller in Bezug auf *L. monocytogenes* und *S. aureus* um mikrobiologisch sichere Erzeugnisse mit überwiegend angemessenen Haltbarkeitsdaten handelt. Es besteht aber auch ein Potential für sensorische Verbesserungen, insbesondere in Bezug auf die Salzigkeit. Eine Erhöhung der Lagertemperatur von 7 °C auf 12 °C ist, wenn die aktuellen Haltbarkeitsfristen beibehalten werden sollen, nicht empfehlenswert. Sie wirkt sich in erster Linie negativ auf die

Fettstabilität aus, und in höheren Keimzahlen vorhandene Milchsäurebakterien können zusätzlich zu unerwünschten Geschmackseindrücken führen. Die dominante Mikroflora setzt sich aktuell im Wesentlichen aus den MSB Arten *Lb. sakei* und *Lb. curvatus* sowie den STA Arten *S. carnosus* und *S. equorum* zusammen. In einigen Fällen wurden aber auch weniger erwünschte Staphylokokken in zum Teil höheren Keimzahlen identifiziert. Geeignete Schutzkulturen könnten hier Abhilfe schaffen. Mikrobiologisch bedingte Qualitätsabweichungen korrelierten in der Regel mit hohen MSB Keimzahlen. Umgekehrt waren aber hohe MSB Keimzahlen kein Indiz für mikrobiell verdorbene Ware.

Danksagung

Frau Jutta POPP, Herrn Gerd WACHSMANN und Frau Silvia HÖPFL danke ich für die ausgezeichnete technische Assistenz, Herrn Manfred BEHRSCHEMIDT, Frau Dr. Irina DEDERER, Herrn Josef HAIDA, Herrn Dr. Peter NITSCH, Herrn Prof. Klaus TROEGER, Herrn Marco ZÄH für die Teilnahme an der sensorischen Beurteilung der Rohschinkenproben.

Literatur

- Alarcón, B., B. Vicedo, R. Aznar (2006) PCR-based procedures for detection and quantification of *Staphylococcus aureus* and their application in food. *J. Appl. Microbiol.* 100, 352-364.
- Albert, T., A. Grosse-Herrenthey, A. Lange-Stärke, L. Kröckel (2011) Identifizierung von Staphylokokken aus Rohschinkenaufschnitt *Mitteilungsbl. Fleischforsch. Kulmbach* 193, 153-162.
- Anonym (2002) ICMSF (International Commission of Microbial Specifications of Food) pp. 285-312, *Microbial Testing in Food Safety Management*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, USA.
- Anonym (1999) BioStoffV – Biostoffverordnung - Verordnung über Sicherheit und Gesundheitsschutz bei Tätigkeiten mit biologischen Arbeitsstoffen. *BGBl. I S. 50*; 1999 S. 2059; 25.11.2003 S. 2304; 23.12.2004 S. 3758 04; 31.10.2006 S. 2407 06; 6.3.2007 S. 261 07; 18.12.2008 S. 2768 08.
- Anonym (2005a) Verordnung (EG) Nr. 2073/2005 der Kommission vom 15. November 2005 über mikrobiologische Kriterien für Lebensmittel. *Amtsblatt der Europäischen Union* L 338/1-26.

- Anonym (2005b) Verordnung über die Zulassung von Zusatzstoffen zu Lebensmitteln zu technologischen Zwecken (Zusatzstoff-Zulassungsverordnung) vom 29.01.1998 (BGBl. I, S. 230), zuletzt geändert durch Verordnung vom 20.01.2005 (BGBl. Nr. 5, S. 128).
- Anonym (2010a) Veröffentlichung mikrobiologische Richt- und Warnwerte zur Beurteilung von Lebensmitteln. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) http://www.dghm.org/texte/Richt_und_Warnw_fina1%20August%202010.pdf
- Anonym (2010b) Technische Regel für Biologische Arbeitsstoffe 466 - Einstufung von Prokaryonten (Bacteria und Archaea) in Risikogruppen (TRBA 466) - GMBI. Nr. 68-80 vom 6. Dezember 2010, S. 1428-1667.
- Anonym (2011) Amtliche Sammlung von Untersuchungsverfahren nach § 64 LFGB (vormals § 35 LMBG) für Lebensmittel, Bedarfsgegenstände, kosmetische Mittel und Tabak. Beuth Verlag, Berlin, fortlaufend
- Blaiotta, G., D. Ercolini, G. Mauriello, Salzano, G., F. Villani (2004) Rapid and reliable identification of *Staphylococcus equorum* by a species-specific PCR assay targeting the *sodA* gene. *System. Appl. Microbiol.* 27, 696-702.
- Chesneau, O., A. Morvan, F. Grimont, H. Labischinski, N. El Solh (1993) *Staphylococcus pasteurii* sp. nov., isolated from human, animal, and food specimens. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 43, 237-244.
- Ehrmann, M. A., M. R. Müller, R. F. Vogel. (2003) Molecular analysis of sourdough reveals *Lactobacillus mindensis* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 53, 7-13.
- Delgado, S., R. Arroyo, E. Jiménez, M.L. Marín, R. del Campo, L. Fernández, J.M. Rodríguez (2009) *Staphylococcus epidermidis* strains isolated from breast milk of women suffering infectious mastitis: potential virulence traits and resistance to antibiotics. *BMC Microbiol.* 9:82
- Gilet, L. (2010) Bacterial compositions of *Staphylococcus vitulinus* having nitrate reductase activity and of lactic acid bacteria and methods using these compositions. <http://www.sumobrain.com/patents/wipo/Bacterial-compositions-staphylococcus-vitulinus-having/WO2010067148A1.html>
- Iacumin, L., G. Comi, C. Cantoni, L. Coccolin, (2006) Ecology and dynamics of coagulase-negative cocci isolated from naturally fermented Italian sausages. *System. Appl. Microbiol.* 29, 480-486.
- Kraschon, U. (2008) Nitrit und Nitrat in Rohschinken. In: *Berichte zur Lebensmittelsicherheit 2007*. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Berlin (Hrsg.) Birkhäuser Verlag, Basel (Schweiz), S. 33-38.
- Kröckel, L. (1998) Differenzierung von Milchsäurebakterien mittels BOX-rep-APD. *Mittbl. Bundesanst. Fleischforsch. Kulmbach* 139, 5-14
- Kröckel, L. (1999) Die BOX-rep-APD: eine schnelle und effiziente Methode zur Identifizierung und Differenzierung von Listerien. *Fleischwirtschaft* 79 (11), 80-83.
- Kröckel, L. (2008) Mikrobiologische Qualität von vorverpacktem Brühwurst- und Kochschinkenaufschnitt - Aktuelle Untersuchungen. *Mittbl. Fleischforsch. Kulmbach* 180, 87-97.
- Kröckel, L., I. Dederer, K. Troeger (2011) Starter- und Schutzkulturen bei Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft* 91 (3), 93-98.
- Lücke, F.-K. (1986) Mikrobiologische Vorgänge bei der Herstellung von Rohwurst und Rohschinken. *Fleischwirtschaft* 66 (3), 302-309.
- Marino, M, F. Frigo, I. Bartolomeoli, M. Maifreni (2011) Safety-related properties of staphylococci isolated from food and food environments. *J. Appl. Microbiol.* 110, 550-561.
- Morot-Bizot, S.C., R. Talon, S. Leroy (2004) Development of a multiplex PCR for the identification of *Staphylococcus* genus and four staphylococcal species isolated from food. *J. Appl. Microbiol.* 97, 1087-1094.
- Rodríguez, M., F. Núñez, J.J. Córdoba, C. Sanabria, E. Bermúdez, M.A. Asensio (1994) Characterization of *Staphylococcus* spp. and *Micrococcus* spp. isolated from Iberian ham throughout the ripening process. *Int. J. Food Microbiol.* 24, 329-35.
- Schlafmann, K., A.P. Meusburger, W.P. Hammes, C. Braun, A. Fischer, C. Hertel (2002) Starterkulturen zur Verbesserung der Qualität von Rohschinken. *Fleischwirtschaft* 82 (11), 108-114.
- Schleifer, K.H. and Bell, J.A. (2009) Genus I *Staphylococcus*. In: *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd Ed. Vol 3 (eds P. de Vos, GM. Garrity, D. Jones, N.R.Krieg, W. Ludwig, F. Rainey, K.H. Schleifer, W.B. Whitman), 392-421, Springer, New York.
- Stepanović, S., I. Dakić, T. Hauschild, D. Vuković, D. Morrison, P. Jezek, I. Cirković and P. Petrás (2007) Supplementary biochemical tests useful for the differentiation of oxidase positive staphylococci. *Syst. Appl. Microbiol.* 30, 316-318.
- Terns, M.J., A.L. Milkowski, J.R. Claus, J.J. Sindelar (2011) Investigating the effect of incubation time and starter culture addition level on quality attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science* 88, 454-461.
- Vogel, R.F., W.P. Hammes, M. Habermeyer, K.-H. Engel, D. Knorr, G. Eisenbrand (2011) Microbial food cultures – opinion of the Senate Commission on Food Safety (SKLM) of the German Research Foundation (DFG). *Molecular Nutrition & Food Research* 55, 654-662.