

## **Aufrötung von Rindfleisch durch Sauerstoffdruckbehandlung**

### **2. Einfluss von Druck, Temperatur und Sauerstoffgehalt**

High-pressure oxygenation of beef

2. Effect of pressure, temperature and oxygen concentration

P. NITSCH

#### **Zusammenfassung**

In letzter Zeit tauchte im Handel vereinzelt Fleisch auf, welches zum Zwecke einer als besonders verkaufsfördernd angesehenen intensiv roten Fleischfarbe Sauerstoff in weit höheren als in der Atemluft vorherrschenden Konzentrationen und zugleich unter deutlich höherem Druck als dem Luftdruck ausgesetzt wird. Dadurch wird der Muskelfarbstoff Myoglobin mit Sauerstoff gesättigt und so in seine intensiv ziegelrote Farbe, die typisch für seine frisch oxygenierte Form ist, versetzt. Zwecks fehlendem griffigen Fachterminus sprechen wir diesbezüglich von „Aufröten mit Sauerstoff“ oder kurz „Aufröten“. Im Folgenden soll dargelegt werden, welchen Einfluss vorherrschender Druck, Sättigung der Umgebungsluft mit Sauerstoff und die Temperatur auf das Aufrötungsergebnis haben.

#### **Summary**

Meat showing a thick, light red peripheral zone around a sharp edged, dark colored center or showing a bright red color all over the whole section has been oxygenized. This is effected by exposure to concentrated oxygen combined with higher pressure. By this the consumer's acceptance of fresh meat is supposed to be raised. This abstract shows the effect of oxygen-concentration, pressure and temperature on the speed of red colouring or oxygenation of meat.

---

**Schlüsselwörter** Sauerstoff – Sauerstoffdruckbehandlung – Druck – Temperatur – Konzentration – Oxygenieren – MAP – Frischfleisch – Farbe

**Key Words** oxygen – pressure – oxygenation – temperature – concentration – MAP – meat – colour

---

#### **Material und Methode**

Für eigene experimentelle Untersuchungen wurde Rindfleisch in einem Druckluftkessel Begasungsregimen unter messtechnischer Kontrolle verschiedener Drücke, Temperaturen, Expositionszeiten und Sauerstoffsättigungen nach den Vorgaben eines statistischen mehrfaktoriellen Versuchsdesigns definiert unterzogen. Als Druckkessel diente ein Edelstahlkessel aus dem Werkzeugbedarf des führenden Druckluftwerkzeugherstellers SCHNEIDER, der über Druckminderer und Manometer mit Druckluft resp. Gasgemischen bis 8 bar beaufschlagt werden kann und als Materialspender für fließfähige Werkstoffe

ausgelegt ist. Die erforderlichen Gasgemische wurden durch Begasung aus handelsüblichen Sauerstoffflaschen resp. Druckluftleitung unter ständiger Messung der Sauerstoffkonzentration mittels frisch werkskalibriertem Gasanalysator Typ MFA 111 des Herstellers WITT-Gastechnik GmbH/Witten über ein Totrohr des Druckkessels eingestellt, der Druck mehrfach parallel über die Manometer der eingesetzten Druckminderer und des Kessels. Die erforderliche Begasungstemperatur wurde durch Lagerung auch unter Vorkonditionierung des Druckkessels in entsprechend eingestellten Kühlräumen des MRI variiert.

Als Fleisch diente schlachtfrische „Falsche Lende“ aus laufender Schlachtung von Färsen als handelsübliche Ware 48 h durchgekühlt bei 2 °C, die in gleichgroße Scheiben zu 5 cm Dicke definiert zugeschnitten und für eine optimale Interaktion zwischen Fleisch und Gasgemisch an einer speziell konstruierten, baumförmig freistehenden Aufhängung, so mittels Haken aufgehängt wurde, dass das Gas ungehindert an der gesamten Fleischstückoberfläche zutreten konnte, was auch bei etwaigem Auflegen auf Rosten nicht gewährleistet gewesen wäre.

Die Ausdehnung an oxygeniertem Myoglobin wurde für die Dauer von acht Stunden stündlich optisch durch 2 Personen abgemustert. Dazu wurde nach jeder Stunde zufällig ausgewählt an drei der aufgehängten Scheiben jeweils ein Querschnitt angelegt und die Dicke des rötlich verfärbten Bereichs zwischen Oberfläche und Kern an 5 ebenfalls randomisiert festgelegten Messpunkten pro Probe mit Schiebelehre auf 0,5 mm gemessen. Pro Stunde fielen so 15 Messdaten an. Nach Probennahme wurde der Behälter unverzüglich wieder verschlossen und entsprechend Versuchsplan weiterhin begast und gelagert.

### Statistische Verfahren

#### *Versuchsdesign*

Bei den anstehenden Untersuchungen grundlegender Mechanismen und Wirkungsweisen der oxidativen Aufrötung nach statistisch-analytischen Gesichtspunkten wurde ein mehrfaktorielles Versuchsdesign ausgewählt und zwar nach einem dreifaktoriellen Aufbau (sog. BOX-BEHNKEN-Design). Aufgrund der hohen Anzahl von Kombinationsmöglichkeiten der zu untersuchenden Faktoren ist zur Reduktion des Arbeits- und Zeitaufwandes diese statistische Versuchsplanung erforderlich. Dabei werden mehrere Faktoren gleichzeitig variiert. Derartige Versuchsdesigns erlauben nicht nur, die Wirkungen der einzelnen Faktoren zu erkennen, sondern auch zu prüfen, ob diese Faktoren unabhängig voneinander wirken oder Wechselwirkungen (synergistisch oder antagonistisch) unter ihnen bestehen.

Die drei Faktoren sind die Temperatur, bei der das Fleisch im Druckbehälter gelagert wird (Variable „Temp“), der prozentuale Sauerstoffgehalt der Gasatmosphäre (Variable „O2“) und der im Behälter herrschende Gasdruck (Variable „bar“). Die einzelnen Faktoren liegen dabei in dreifacher Ausprägung (= Abstufung) vor. Für die Variable „O2“ sind dies 60, 80 und 100 %, für „Temp“ 2 °C, 4,5 °C und 7 °C und für „bar“ 3, 5,5 und 8 bar.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde ein dreifaktorielles Response Surface Design unter dreifacher Ausprägung der einzelnen Faktoren mittels der gleichnamigen Programmroutine des Erweiterungsmoduls „Experimental Design“ der Statistik Software NCSS 2006 (NCSS Dr. Jerry Hintze, Kaysville, Utah USA) erstellt. Im Folgenden ist der Versuchsplan dargestellt:

Tab. 1: 3-faktorieller Versuchsplan in dreistufiger Ausprägung randomisiert

Versuch	Temp	bar	O2 Konz (%)
1	7	5,5	100
2	2	8	80
3	7	3	80
<b>4</b>	<b>4,5</b>	<b>5,5</b>	<b>80</b>
5	2	5,5	100
6	2	3	80
7	7	8	80
8	7	5,5	60
9	4,5	8	60
<b>10</b>	<b>4,5</b>	<b>5,5</b>	<b>80</b>
11	2	5,5	60
12	4,5	3	100
13	4,5	8	100
<b>14</b>	<b>4,5</b>	<b>5,5</b>	<b>80</b>
15	4,5	3	60

Hervorgehoben: 3-fache Wiederholung des Centerpoints

Es handelt sich dabei um ein Box-Behnken-Design, bei dem im Unterschied zu Central Composite Designs je Faktor nur drei anstatt fünf Faktorstufen berücksichtigt werden, wobei der mittlere Stufenwert den Mittelwert aus Minimal- und Maximalwert darstellt. Der Center Point wird dabei zweifach repliziert (MONTGOMERY und DOUGLAS 1984; NCSS 1990). Zur Minimierung der Beeinflussung der Zielvariablen durch zufällige Fehler

wurde der Versuchsplan randomisiert. Zudem wurde bei der Versuchsplanung größte Sorgfalt auf Konstanzhaltung sekundärer Variablen gelegt, die zudem zur Verwendung als Filtervariablen in späteren Auswertungen erfasst wurden.

#### *Statistische Analysen*

Zur Auswertung der Datensätze wurden die speziellen, auf diese Zwecke angepassten Programmroutinen der Erweiterungsmodule „Basic“, „Power Pack“ und „Experimental Design“ der Statistik Software NCSS 2006 (NCSS Dr. Jerry Hintze, Kaysville, Utah, USA) herangezogen.

Mittels Routine „DESCRIPTIVE STATS“ des „DESCRIPTIVE STATISTICS“-Moduls wurden die replizierten Messdaten der einzelnen Versuchsaufbauten auf Plausibilität untersucht. Unter Zuhilfenahme einer multivariaten Variablenselektion nach McHENRY (Routine „MULTIVARIATE VARIABLE SELECTION“ des NCSS-Moduls „VARIABLE SELECTIONS ROUTINES“ im Rahmen des Hauptmoduls „REGRESSIONS/CORRELATIONS“) wurde die Mächtigkeit der unabhängigen Variablen des Versuchsmodells auf die jeweils zu untersuchende abhängige Variable bestimmt (NCSS 1990b). Um praxisrelevante Aussagen treffen zu können, wurde dabei ein möglichst hohes  $R^2$  angestrebt, um mathematische Modelle daraus zu entwickeln.

Unter Zugrundelegung quadratischer Wirkungsmodelle bei Anwendung des Moduls „RESPONSE SURFACE REGRESSION“ des Moduls „REGRESSIONS/CORRELATIONS“ wurden mathematisch-deskriptive Modelle der Wirkungsprozesse entwickelt (BOX *et al.* 1978; DAVIES 1956; LAWSON 1987), die mittels Routine „MULTIVARIATE RATIO OF POLYNOMIALS REPORT“ des Hauptmoduls „CURVE FITTING“ einer weiteren Optimierung im Hinblick auf eine Reduktion der Residuen unterzogen wurden. Anschließend erfolgte je Variable eine Residualanalyse der so entwickelten Modelle in Bezug auf die Messdaten. Bei genügend hoher Güte des Modells wurden Modelldaten über den gesamten Versuchsraum mittels eigenprogrammierter Routinen je Variable errechnet und dreidimensional dargestellt. Da es sich um ein dreifaktorielles Versuchsdesign handelt,

wurden die Ergebnisse aufgeschlüsselt nach einer der unabhängigen Variablen dargestellt (für Druck resp. Temperatur).

## **Ergebnisse und Diskussion**

**Korrelationen.** Temperatur, Druck der Gasatmosphäre und der prozentuale Sauerstoffgehalt korrelieren mit der Geschwindigkeit der Aufrötung, wobei die Temperatur ein negativ korrelierendes Verhalten aufweist. Dies erklärt sich durch die Verlangsamung sauerstoffzehrender und damit myoglobinreduzierender Stoffwechselfvorgänge im postmortalen Muskel bei sinkenden Temperaturen, welche einen offensichtlich stärkeren Einfluss auf den optischen Status hat als die Beschleunigung der Sauerstoffbindung an das Myoglobin und dessen Aufrötung bei steigenden Temperaturen.

**Erklärungsgüte der einzelnen Faktoren.** Die Mächtigkeit der unabhängigen Variablen zeigte ein zeitliches Verhalten. Mit fortschreitender Einwirkungsdauer nahm die Erklärungsgüte der Abweichungsquadrate von  $R^2=0,759$  für die Messdaten der ersten Stunde auf ein  $R^2$  von 0,477 für die nach 8 Stunden erfassten ab. Als Variable mit höchster Erklärungsgüte erwies sich für alle Zeitpunkte mit  $R^2$ -Werten von 0,3 bis über 0,4 der im Behälter vorherrschende Druck der Gasatmosphäre, gefolgt vom prozentualen Sauerstoffgehalt, welcher zunächst die Erklärungsgüte um  $R^2$ -Werte von 0,1 bis 0,3 verbesserte, ab der 4. Stunde allerdings rapide auf Werte unter 0,1 abfiel. Als Variable von eher marginaler Bedeutung ist hingegen die im Behälter vorherrschende Temperatur mit Werten zur Steigerung der Erklärungsgüte unter 0,1. Insgesamt fällt auf, dass zu Beginn und leichter gegen Ende die Erklärungsgüten stark durch die ersten beiden Variablen gesteigert werden. In der Mitte des Untersuchungszeitraumes kommt es zu einem eher linearen Anstieg der Erklärungsgüten.

**Modellentwicklung.** Wie bei der Variablenselektion ist hier auch eine geringe Abnahme der Modellgenauigkeit im Absolutwert über die Zeit zu beobachten, die prozentuale Abweichung nimmt hingegen

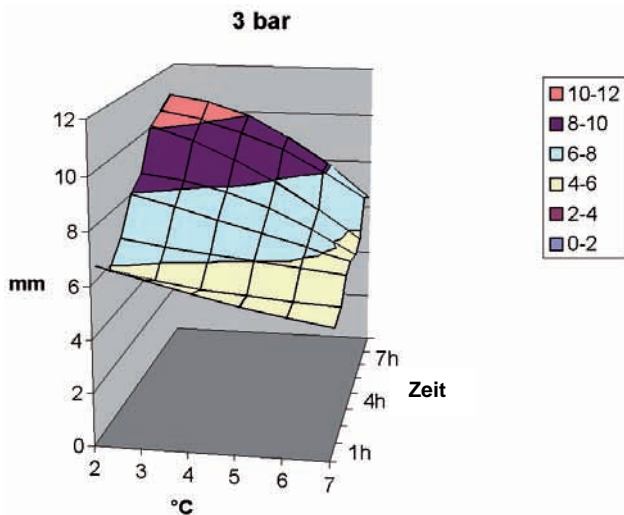


Abb. 1: Temperatureinfluss bei 3 bar

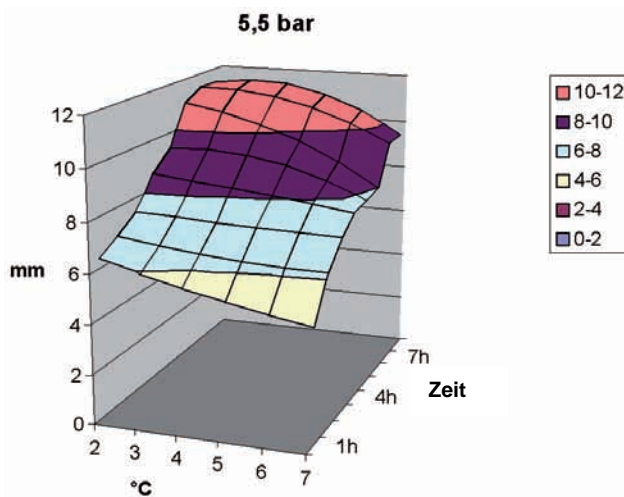


Abb. 2: Temperatureinfluss bei 5,5 bar

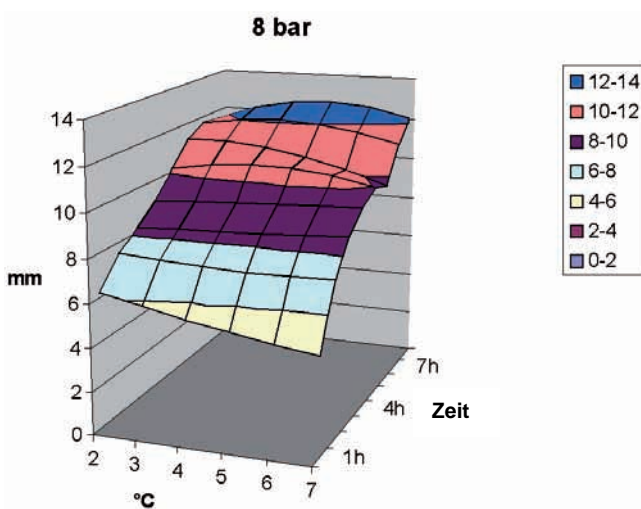


Abb. 3: Temperatureinfluss bei 8 bar

nicht ab. So beträgt das maximale Residuum bei Messwerten der 1. und 8. Stunde nur ca. 5 % vom Messwert, was für die 1. Stunde etwas über 0,2 mm, aber für die 8. Stunde 0,7 mm bedeutet. Absolut gesehen sind aber solche Abweichungen in der Praxis irrelevant, da sie mit der verwendeten Versuchsanordnung kaum messbar und nicht sensorisch erfassbar sind.

Obwohl die Temperatur nur einen marginalen Einfluss auf die Erklärungsgüte besitzt, bringt ihre Einbindung in ein dreifaktorielles Modell geringere Residuen als das Arbeiten mit einem etwas einfacher aufgebauten, zweifaktoriellen Modell. Die Residuen der dreifaktoriellen Modelle liegen bis ca. 50 % unter denen der entsprechenden zweifaktoriellen. Gleiches gilt für die Verwendung von Mittelwerten im Gegensatz zu den Medianen der einzelnen Messdatenreihen, obgleich die Median-Mittelwertsabstände gering ausgeprägt sind. Die Residuen von auf Medianwerten basierenden Modellen liegen deutlich über den Modellen der korrespondierenden Mittelwerte.

### Einfluss der verschiedenen Variablen

Da eine grafische Darstellung über die Zeit aller drei untersuchten Variablen gleichzeitig nicht möglich ist, wird im Folgenden auf die paarweisen Zusammenhänge eingegangen.

#### Einfluss der Temperatur

Die folgenden Abbildungen (Abb. 1-3) zeigen das Aufröteverhalten in Abhängigkeit der vorherrschenden Temperatur bei den drei angewandten Drücken und maximaler Sauerstoffsättigung. Ersichtlich wird, dass mit steigenden Drücken die Temperaturabhängigkeit abnimmt. Bei 3 bar und auch noch bei 5,5 bar sind niedrige Temperaturen von Vorteil. Hier ist die auferötete Gewebsfront bis 100 % zu der bei 7 °C vergrößert resp. beschleunigt.

#### Einfluss des Atmosphärendruckes

Die folgenden Abbildungen (Abb. 4-6) zeigen das Aufröteverhalten in Abhängigkeit des vorherrschenden Atmosphärendruckes bei den drei untersuchten Temperaturen unter maximaler Sauerstoff-

sättigung. Ersichtlich wird, dass mit steigenden Temperaturen die Druckabhängigkeit deutlich zunimmt. Während bei 2 °C eine Drucksteigerung die Aufrötung nur marginal beschleunigt, ist dies bei 4,5 und v. a. bei 7 °C sehr deutlich der Fall. Auch wird das Ausmaß der Aufrötung selbst gesteigert, wobei man hier ein Optimum bei 4,5 °C bestimmen kann. Dies ist u. a. über postmortal zu der Aufrötung antagonistisch ablaufende Stoffwechselaktivitäten im Muskel zu erklären, die bei 7 °C offensichtlich schon stark genug ausgeprägt sind, eindringenden Sauerstoff in den tieferen Gewebeschichten aufzuzehren. Während dies bei 2 °C geringer ausgeprägt ist, zeigt hier das Myoglobin selbst eine trägere Tendenz, sich mit Sauerstoff zu sättigen. Bei 4,5 °C und hohen Drücken scheint eine gewisse Balance zwischen schneller Oxygenierung des Myoglobins in Kombination mit reduzierten sauerstoffzehrenden postmortalen Stoffwechselprozessen zu bestehen. Hohe Drücke bei mittleren Kühltemperaturen führen zu besten Ergebnissen.

#### Einfluss der O<sub>2</sub>-Konzentration

Die folgenden Abbildungen (Abb. 7-9) zeigen das Aufröteverhalten in Abhängigkeit des vorherrschenden prozentualen Sauerstoffgehaltes bei den drei untersuchten Temperaturen unter einem mittleren Druck von 5,5 bar. Man kann sehen, dass sich das sättigungsabhängige Verhalten temperaturabhängig verändert. Ist zunächst so ein Verhalten kaum ausgeprägt, führen mit zunehmender Begasungslänge hohe Sättigungen zu ausgedehnteren Aufrötungen. Dieses Verhalten nimmt mit steigenden Temperaturen ab. Insgesamt ist auch hier ein Optimum bei 4,5 °C mit Hang zu höheren Sättigungen zu erkennen.

#### Zusammenfassende Betrachtung und Bestimmung eines Optimumpunktes

Wie gesehen, führt eine möglichst hohe Sauerstoffkonzentration in Kombination mit einem hohen Druck pro Zeiteinheit zu der weitesten Ausbreitung sichtbar oxygenierten Myoglobins im Gewebe. Wider Erwarten ist aber ein Temperaturoptimum bei 4,5 °C dafür zu verzeichnen. Zu erwarten wäre gewesen, dass auch die Temperatur einen linearen Einfluss zeigt.

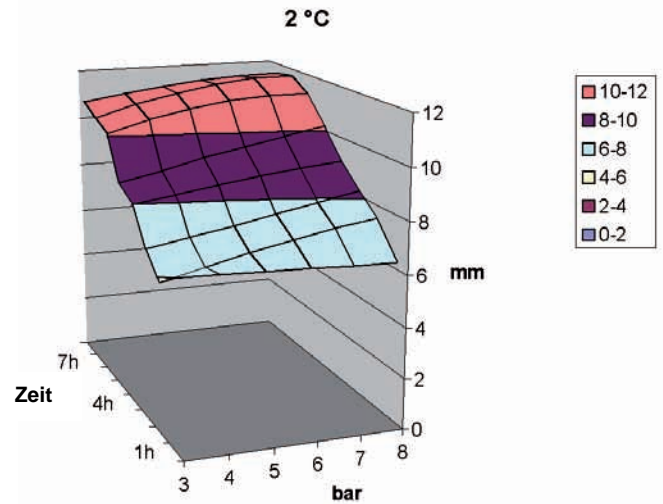


Abb. 4: Druckeinfluss bei 2 °C

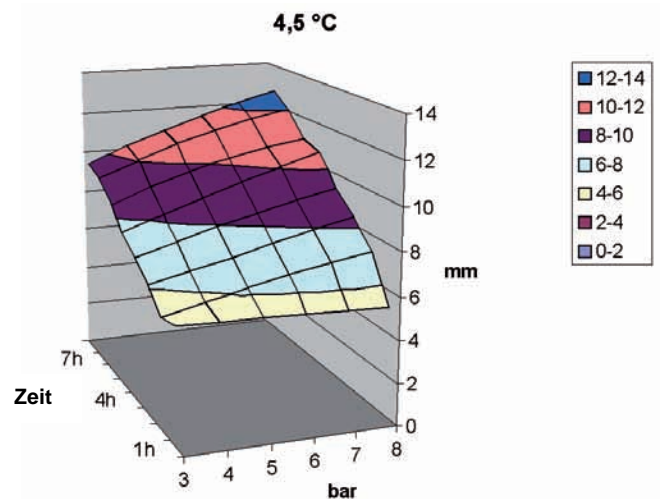


Abb. 5: Druckeinfluss bei 4,5 °C

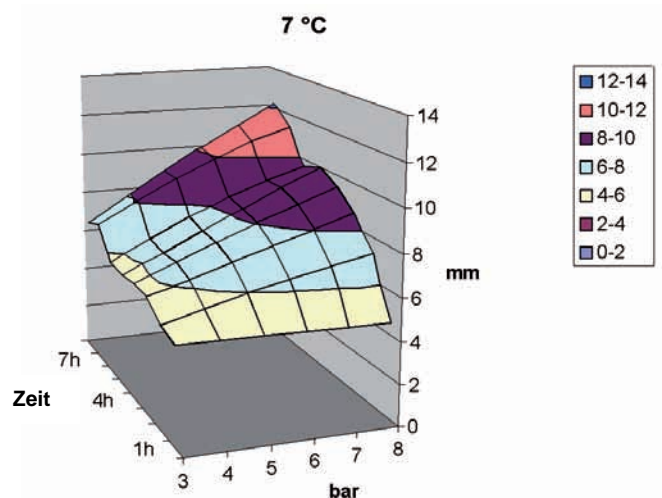


Abb. 6: Druckeinfluss bei 7 °C

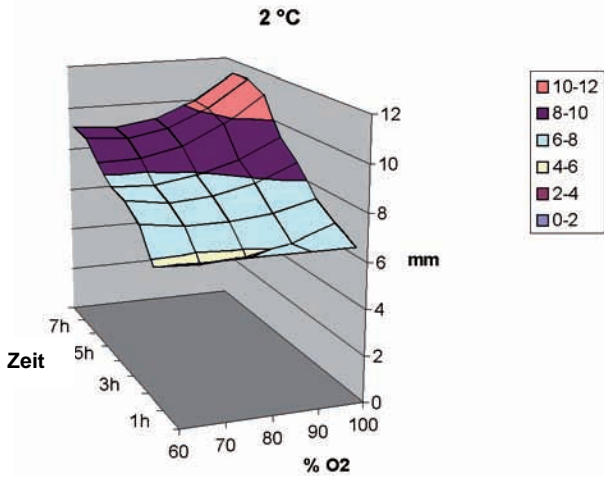


Abb. 7: Einfluss der Sauerstoffkonzentration bei 2 °C

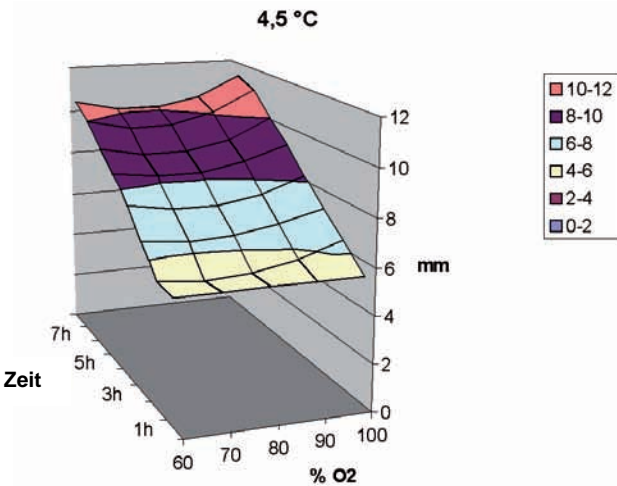


Abb. 8: Einfluss der Sauerstoffkonzentration bei 4,5 °C

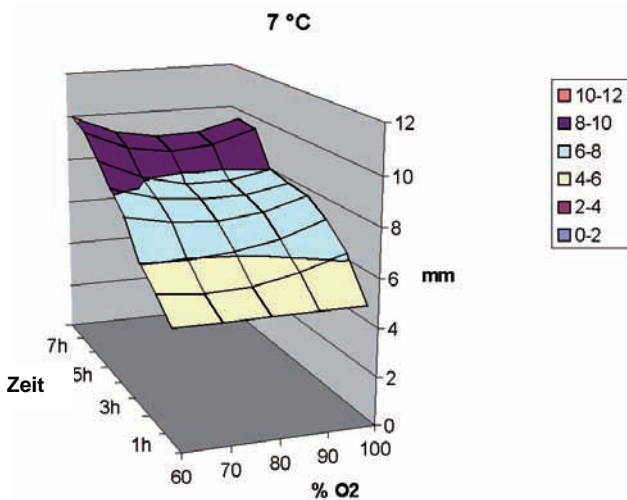


Abb. 9: Einfluss der Sauerstoffkonzentration bei 7 °C

Der Befund belegt aber ein deutliches Gleichgewicht zwischen Oxygenierung des Myoglobins und sauerstoffzehrenden, desoxygenierenden Prozessen in der Muskulatur bei höheren Temperaturen auf der einen und eine verzögerte Oxygenierung bei niedrigen Temperaturen auf der anderen Seite.

In Abbildung 10 sind verschiedene Szenarien einander gegenübergestellt. Deutlich ist das Optimum bei 4,5 °C, 8 bar Druck und 100 % Sauerstoffgehalt erkennbar. Geschwindigkeit und Ausdehnung der Aufrötezone ist im Vergleich zu allen anderen Szenarien am größten. Erstaunlicherweise ergeben sich bessere Ergebnisse, wenn man das Fleisch analog dazu bei 7 °C als bei 2 °C behandelt. Niedrige Temperaturen führen offensichtlich zu schlechten Ergebnissen ansonsten optimal geltender Parameter. Eine Reduktion der Sauerstoffsättigung auf lediglich 60 % führt am Optimumpunkt zu mehr oder minder vergleichbaren Ergebnissen einer Temperatur von 7 °C. Schlechtere Ergebnisse erhält man, wenn man am Optimumpunkt anstatt der Sättigung den Druck auf 3 bar maximal herunterfährt. Hier zeigt sich die starke Druckabhängigkeit des Prozesses, die hier nur zu wenig höheren Werten als bei Nutzung der schlechtesten Parameter von 7 °C, 3 bar und 60 % Sauerstoffgehalt führt.

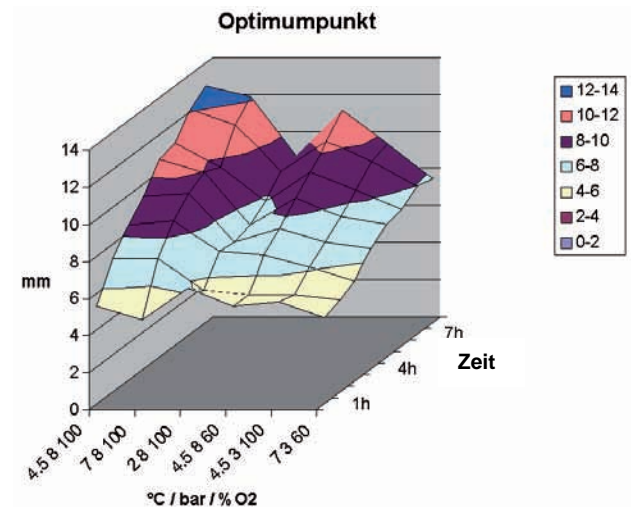


Abb. 10: Verschiedene Druck-, Konzentrations- und Temperaturregime