

Bedeutung der Redoxpotentialmessung für die Beurteilung und Differenzierung mikrobiologischer Prozesse – Untersuchung der Keim hemmenden Wirkung von Natriumacetat (E 262i)
Significance of the measurement of the redox potential for the evaluation and differentiation of microbiological processes – Investigation of the preservative effect of sodium acetate (E 262i)

R. SCHEUER

Zusammenfassung

Gegenstand der Untersuchung war ein Vergleich der mikrobiologischen Wirksamkeit von Natriumacetat und Natriumchlorid im unteren Konzentrationsbereich. Während Keimzahlmessungen hier aufgrund statistischer Schwankungen nur unzureichende Ergebnisse liefern, kann die Redoxpotentialmessung auch unter diesen Bedingungen klare Zusammenhänge offenlegen. Die Redoxpotentialmessung hat im Hinblick auf die genaue Differenzierung mikrobiologischer Aktivitäten eindeutige Vorteile gegenüber anderen Verfahren.

Summary

Subject of this investigation was to draw a comparison between the microbiological activity of sodium chloride and sodium acetate at low concentration levels. Due to a statistical variation the determination of the bacteria count only provides insufficient reliable results. On the other hand the measurement of the redox potential delivers clear and reproducible correlations between the added salt concentration and the duration of the ‘electrochemical lag-phase’. Thus with respect to a precise differentiation of microbiological activities the measurement of the redox potential has an obvious advantage compared to other methods.

Schlüsselwörter Redoxpotential – Mikrobiologische Wirksamkeit – Natriumacetat – *Listeria innocua*

Key Words redox potential – microbiological activity – sodium acetate – *Listeria innocua*

Einleitung

Die Redoxpotentialmessung ermöglicht die unmittelbare und kontinuierliche Beobachtung mikrobiologischer Vorgänge über physikalisch-chemische Änderungen des umgebenden Milieus. Wir haben über die Vorteile des Verfahrens bereits mehrfach berichtet (RÖDEL und SCHEUER, 2007). Bisher führt dieses Verfahren in der Praxis mikrobiologischer Anwendungen noch ein Schattendasein, trotz erheblicher Vorteile gegenüber herkömmlichen mikrobiologischen Untersuchungsverfahren.

Aufgrund der Simplizität der Methode und des geringen experimentellen Aufwandes für auch größere Versuchsreihen sind

multifaktorielle mikrobiologische Erhebungen erst möglich, die einen Einstieg in eine künftige voraussagende Mikrobiologie liefern und das Verständnis mikrobiologischer Prozesse erweitern könnten. Ein erheblicher Vorteil des Redoxpotential-Verfahrens liegt daneben in einer besseren Differenzierbarkeit der Ergebnisse und so auch in einer erweiterten Möglichkeit zur Absicherung klassischer Untersuchungsverfahren. Dieser besondere Aspekt soll anhand des Nachweises der konservierenden Wirkung von Natriumacetat näher bestimmt werden.

Natriumacetat (E 262i) wird verschiedenen Lebensmitteln – auch Fleischerzeugnissen – als Konservierungsstoff und Säureregu-

lator zugesetzt. Natriumacetat gilt als gesundheitlich unbedenklich, es wird im Körper zu Kohlendioxid verstoffwechselt oder als Baustein benutzt. Zur quantitativen Überprüfung der konservierenden Wirkung von Natriumacetat wurden äquimolare Mengen Natriumchlorid und Natriumacetat mit der Redoxpotentialmessung und über die Messung der Keimzahlen hinsichtlich ihrer Keim hemmenden Wirkung untersucht.

Material und Methoden

Es wurden sowohl physikalisch-chemische Messungen als auch mikrobiologische Messungen durchgeführt.

Messanordnung

Das System zur kontinuierlichen Messung der Redoxpotentiale besteht aus Einstabmessketten (Fa. Schott, Typ Sa Pt 6140), einem Datenlogger (Fa. Ahlborn, ALMEMO 2590-9 V5[®]) zur Aufnahme der Messsignale und einer Datenerfassungsanlage (Laptop) zur Speicherung und Verarbeitung der Daten (Software: Fa. akrobit[®] software, AMR WinControl). Die Messelektroden stecken in passgenauen Messröhrchen, die über eine temperierte Messbox (Eigenanfertigung) einer festgelegten Temperatur von 20 °C ausgesetzt wurden. Alle Messungen waren als Doppelmessungen angelegt. Eine eingehende Beschreibung der Methodik zur Redoxpotential-Messung wurde von uns bereits publiziert (RÖDEL und SCHEUER, 1998 und 2003). Der Wasseraktivitätswert und pH-Wert wurden am Beginn der jeweiligen Messreihe mit einem a_w -Kryometer AWK-10[®] (Fa. NAGY; RÖDEL *et al.*, 1989) und einem pH-Meter (WTW) – über Doppelmessung – ermittelt.

Mikrobiologische Methoden

Alle Untersuchungen wurden in einem Flüssig-Nährmedium (Merck, Fraser-Listerien-Selektivnährbouillon) durchgeführt. Durch Zugabe von Kochsalz oder Natriumacetat in Mengen von 0, 30, 100 und 200 mmol/l ergaben sich in der Bouillon Wasseraktivitätswerte von circa 0,984 (reine Bouillon), 0,980, 0,975 und 0,972. Die einzelnen Chargen wurden mit *Listeria*

innocua (Stamm Li 13 der Stammsammlung des MRI; Standort Kulmbach) beimpft. Die Inokulationsraten betragen etwa $5-10 \times 10^3$ KbE/ml (KBE: Koloniebildende-Einheiten pro Milliliter).

Zur Keimzählung von *Listeria innocua* wurde jeweils 1 ml der Nährbouillon entnommen und mit 9 ml physiologischer Kochsalzlösung gut vermischt. Nach Anlegen von Verdünnungsreihen wurden jeweils 0,1 ml der entsprechenden Verdünnungsstufen auf Standard-I-Agar (Merck) zur Bestimmung der Keimzahlen aufgetragen und anschließend bei 37 °C über 24 Stunden bebrütet.

Ergebnisse und Diskussion

Der Zusatz von Natriumchlorid und Natriumacetat in den untersuchten Mengen von bis zu 200 mmol/l hatte keinen merklichen Einfluss auf den Ausgangs pH-Wert des Nährmediums von ca. 7,1. Fraser-Bouillon ist ein pH-gepuffertes Medium. Der Wasseraktivitätswert sank durch die Zugabe äquimolarer Mengen an Natriumchlorid und Natriumacetat in etwa gleichem Maße ab von 0,984 (Ausgangsbouillon) zu Werten von 0,980 (30 mmol/l), 0,975 (100 mmol/l) und 0,972 (200 mmol/l). Die Redoxpotentialverläufe wurden kontinuierlich über den gesamten Versuchszeitraum von 3 Tagen gemessen und die Keimzahlen täglich vom Versuchsbeginn bis zum dritten Versuchstag. Bei Salzzugaben von 30 und 100 mmol/l zeigten die Keimzahlen keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen dem Keimwachstum und den zugegebenen Salzkonzentrationen. Erst bei Konzentrationen von 200 mmol/l zeigte die Entwicklung der Keimzahl eine eindeutige Tendenz (s. Abb. 1). Die Auswertung der Redoxpotential-Messungen lieferte über den gesamten Messbereich eindeutige Ergebnisse. In Abbildung 2 sind die Redoxpotential-Verläufe bei Zugabe von 100 mmol/l Natriumchlorid und Natriumacetat gegen eine Kontrollprobe dargestellt. Die Potentialwerte in der Graphik sind Relativwerte, d.h. der Messwert wurde nach einer Einstellzeit von ca. 10 Minuten in Nullstellung gebracht. Der direkte Vergleich erfolgt über die entsprechende

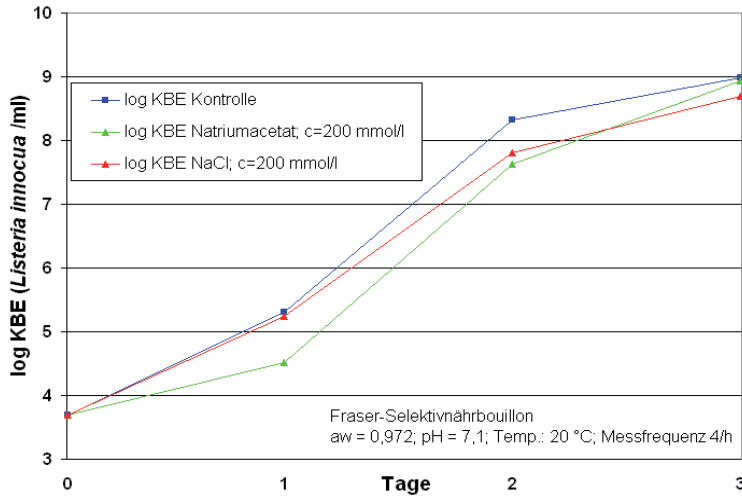


Abb. 1: Vergleich der Keimzahlverläufe von *Listeria innocua* (Li 13) in Fraser-Selektivnährbouillon bei Zugabe von äquimolaren Mengen Natriumacetat und Natriumchlorid

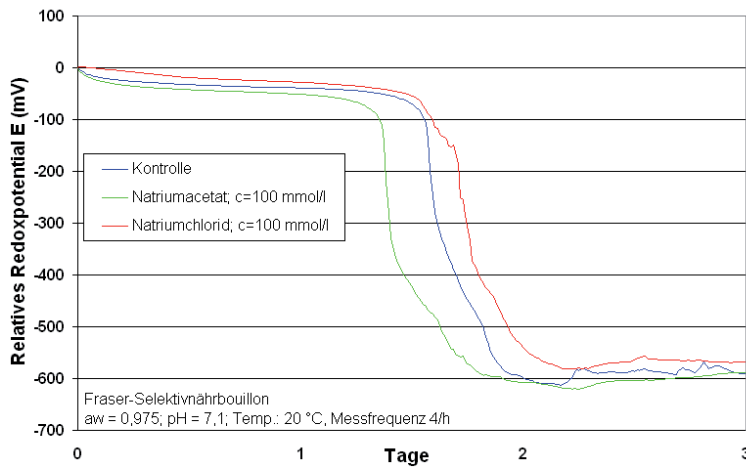


Abb. 2: Vergleich der Redoxpotentialverläufe in Fraser-Selektivnährmedium inokuliert mit *Listeria innocua* (Li 13) bei Zugabe äquimolarer Mengen an Natriumacetat und Natriumchlorid

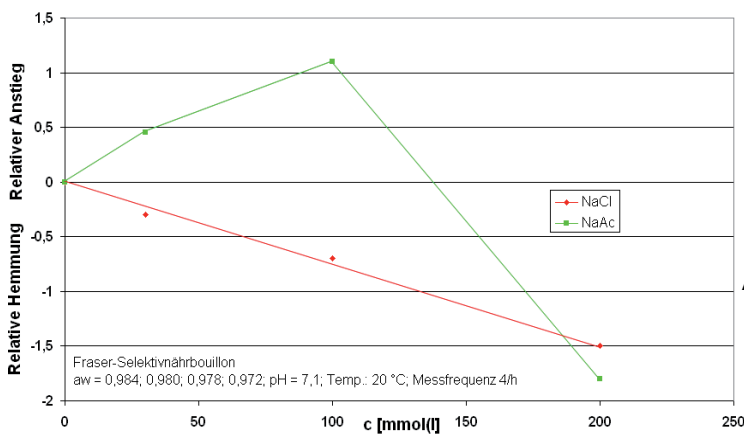


Abb. 3: Vergleich der mikrobiologischen Wirksamkeit von Natriumacetat und Natriumchlorid gegen *Listeria innocua* auf Basis der Redoxpotentialmessung

Kontrollprobe. Die Länge der „elektronischen Lag-Phase“, also die Zeitdauer bis es zu einem exponentiellen Abfall des Redoxwertes kommt, ist ein Maß für die Stärke des Keim hemmenden Effektes des zugegebenen Substrates. In diesem Beispiel ist zu erkennen, dass bei einer Kon-

zentration von 100 mmol/l Natriumchlorid im Vergleich zur Kontrollprobe (blaue Linie) die „Lag-Phase“ der Probe mit Zugabe von Natriumchlorid (rote Linie) eindeutig nach rechts verschoben ist, während bei Zugabe von 100 mmol/l Natriumacetat (grüne Linie) die Potentialkurve bereits

früher abfällt als die Kontrollprobe. Natriumchlorid hat also bei dieser Konzentration einen schwach Keim hemmenden Effekt auf *Listeria innocua*, Natriumacetat hingegen einen begünstigenden Effekt auf das Keimwachstum. Die Abhängigkeit zwischen den Konzentrationen der Salze und der relativen Länge der „Lag-Phase“ (gemessen gegen die Kontrollprobe) sind in Abbildung 3 dargestellt. Danach hat Natriumchlorid mit steigender Konzentration durch die Absenkung des Wasseraktivitätswertes einen stetig ansteigenden hemmenden Effekt auf das Wachstum von *Listeria innocua*, während Natriumacetat bei geringen Konzentrationen das Keimwachstum begünstigt und erst bei höheren Konzentrationen das Keimwachstum von *Listeria innocua* abschwächt. Die Ergebnisse deuten also darauf hin, dass Acetat in geringen Konzentrationen im Stoff-

wechsel von *Listeria innocua* verwertet werden könnte, während in hohen Konzentrationen der „Wasseraktivitäts-Effekt“ zum Tragen kommt.

Literatur

Rödel, W. und R. Scheuer (1998): Das Redoxpotential bei Fleisch und Fleischerzeugnissen. 1. Bedeutung, Messung und Berechnung des Redoxpotentialwertes. *Fleischwirtschaft* 78, 975-981

Rödel, W. und R. Scheuer (2003): Zur Beziehung von Redoxpotential und Keimwachstum. (Teil 1): *Fleischwirtschaft* 83, 98-101 (Teil 2): *Fleischwirtschaft* 83, 127-131

Rödel, W. und R. Scheuer (2007): Neue Erkenntnisse zur Hürdentechnologie – Erfassung von kombinierten Hürden. *Fleischwirtschaft* 87, 111-115