Aus dem Department für Nutztiere und Sicherheit von Lebensmittelsystemen

der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Zentrum für Lebensmittelwissenschaften und Öffentliches Veterinärwesen

(Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Martin Wagner)

Abt. Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

(Leiterin: Univ.-Prof. Dr. med. vet. Karin Schwaiger)

Verderb von Brühwürsten unter besonderer Berücksichtigung von Brüh-dauerwürsten

Diplomarbeit

Veterinärmedizinische Universität Wien

vorgelegt von

Annika Fee Hahn

Wien, im Januar 2026

Betreuer:

Ao. Univ.-Prof. Dr. med. vet. Peter Paulsen

Department für Nutztiere und öffentliches Gesundheitswesen in der Veterinärmedizin der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Abteilung Hygiene und Technologie von Lebensmitteln

Gutachter:

Priv.-Doz. Dr. med. vet. Dipl. ECVM Joachim Spergser

Institut für Mikrobiologie der Veterinärmedizinischen Universität Wien

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, Annika Fee Hahn, dass für das Verfassen dieser Arbeit keine als die erwähnten Hilfsmittel und Literaturstellen einbezogen wurden. Die entscheidenden Arbeiten wurden selbst durchgeführt und alle zuarbeitenden Tätigen mit ihrem Beitrag zur Arbeit angeführt. Die zur Beurteilung vorgelegte Diplomarbeit eigenständig verfasst wurde und die Arbeit nicht an anderer Stelle eingereicht oder veröffentlicht wurde.

Zuarbeitende Tätige: Dr. D. Sofka, Ing. A Pauker: MALDI-ToF Analysen

Inhaltsverzeichnis

Eigenständigkeitserklärung ... 3
Abstract in englischer und deutscher Sprache ... 6
Abkürzungsverzeichnis ... 8
1. Einleitung ... 1
1.1 Charakterisierung von Brühwürsten und Brühdauerwürsten nach dem österr. Lebensmittelbuch ... 1
1.2 Herstellung von Brühwürsten ... 3
1.2.1 Brätwürste ... 3
1.2.2 Fleischwürste ... 4
1.2.3 Gebratene Würste und Dauerwürste ... 5
1.3 Arten und Ursachen von Fehlfabrikaten ... 5
1.3.1 Farbabweichungen/Farbfehler ... 5
1.3.2 Geschmacksfehler ... 7
1.3.3 Konsistenzfehler ... 7
1.3.4 Oberflächenfehler ... 8
1.3.5 Mikrobiologie von Fleisch und Fleischerzeugnissen ... 9
1.4 Fragestellung ... 11
2. Material und Methoden ... 12
2.1 Nachbildung des Zeit-Temperaturverlaufs bei der Erhitzung einer Brühdauerwurst ... 12
2.2 Entnahme und Untersuchung von Rohstoff- und Zwischenproduktproben ... 14
2.3 Erhitzung und Lagerung von Rohstoffproben ... 17
2.4 Untersuchung der erhitzten Rohstoffproben ... 18
2.5 Untersuchung von Brühwursterzeugnissen mit niedrigem pH-Wert ... 19
2.6 Kultivierung verdächtiger Isolate aus Brühwursterzeugnissen mit niedrigem pH-Wert und Inokulationsversuche ... 19
3. Ergebnisse ... 21
3.1 Temperaturprofile und F_{70}-Werte ... 21
3.2 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Rohstoffproben und des Zwischenprodukts ... 22
3.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der erhitzten Rohstoffproben 23
3.4 Ergebnisse der Untersuchung von Brühdauerwürsten mit niedrigen pH-Wert 24
3.4.1 Weitere Identifizierung der aus der Charge 113 isolierten Bakterien ... 25
3.4.2 Ergebnisse des Inokulationsversuchs ... 25
4. Diskussion ... 27

4.1 Ursachen für die Säuerung von Brühwürsten und Brühdauerwürsten 27
4.2 Mikroflora von Rohstoffen und Produkten der Brühdauerwurstproduktion 28
4.3 Simulation der Erhitzung und Abkühlung bei der Brühdauerwurstproduktion 29
4.4 *Sporolactobacillus* 30
4.5 Einschränkungen und offene Fragen 30
5 Literaturverzeichnis 32

Abstract in englischer und deutscher Sprache

Verderb von Brühwürsten unter besonderer Berücksichtigung von Brühdauerwürsten

Brühdauerwürste sind bei Raumtemperatur haltbare, durch eine zusätzlich zur Erhitzung Nachtrocknung stabilisierte Brühwürste. In der fleischtechnologischen Fachliteratur wird die Möglichkeit eines mikrobiell bedingten Verderbs durch Sporenbildner unter Säuerung beschrieben, wobei hier davon ausgegangen wird, dass die Kombination der Erhitzung auf über 75 °C Kerntemperatur in Verbindung mit dem zur Pökelung zugesetzten Natriumnitrit als Maßnahme zur Reduktion vegetativer Bakterien und die Verringerung der Wasseraktivität (Trocknung) und die Undurchlässigkeit der (Wurst-)Hülle zur Erreichung eines niedrigen Redoxpotentials die Hemmung aerober Sporenbildner sicherstellen.

In der vorliegenden Arbeit wurden aus wegen Säuerung sensorisch auffälligen Brühdauerwürsten auf anaerob bebrütetem De Man–Rogosa–Sharpe (MRS) Agar kleine, mit grauer Farbe wachsende, Katalase-negative Kolonien nachgewiesen, die aus Gram-positiven, Endosporen bildenden Stäbchen bestanden. Mittels MALDI-ToF konnten diese als *Sporolactobacillus* sp. identifiziert werden. Die Anreicherung von Sporen gelang auf mangansupplementierten MRS-Nährböden. In einem Inokulationsversuch wurde Wurstmasse mit (errechneten) 500 Sporen/g versetzt, gefüllt, und nach einem Standardarbeitslauf und einem nicht näher bezeichneten alternativen Schema des Betriebs erhitzt und entsprechend getrocknet. Zwischen Tag 4 und Tag 13 nach der Herstellung erfolgte eine Vermehrung vegetativer *Sporolactobacillus* auf etwa 5,6-6,4 log KbE/g; der pH-Wert sank in 40 Tagen langsam von 6,2 auf 5,4. Bei der Untersuchung von 40 Rohstoffproben wurden keine Mikroorganismen gefunden, die eine Erhitzung auf 70 °C für 10 min. überstanden. Die Eintragsquelle von *Sporolactobacillus* in die Wurstproduktionskette konnte nicht identifiziert werden.

Spoilage of pasteurized sausage with particular regard to dried-cooked sausages

Dried-cooked sausages are shelf-stable pasteurized sausages. They are shelf stable due to a post-heating drying process. In the standard literature on sausage production, microbial spoilage of dried-cooked sausages is considered, by acidification due to the metabolic action of germinating spores, but it is assumed, that a heating process effectuating >75 °C internal temperature and sodium nitrite in the curing salt should effectively control vegetative bacteria, whilst aerobic spore-formers can be controlled by the subsequent drying process and the intactness of the casing (ensuring anaerobic conditions in the sausage).

The dried-cooked sausages with a sour taste were obtained from a sausage producer. The sausages were examined with cultural microbiological methods. Small, grey, catalase-negative colonies were detected on De Man–Rogosa–Sharpe (MRS) Agar after anaerobic incubation. Bacterial cells were gram-positive, endospore-forming thin rods. The cells were identified as *Sporolactobacillus* sp. by MALDI-ToF. Spore formation was achieved by cultivating vegetative forms on manganese-supplemented MRS-agar.

Sausage batter was inoculated with 500 spores/g, and the batter was processed into sausages according to the standard scheme and an alternative formulation in the plant of the sausage producer. Between day 4 and day 13 after manufacture, growth of vegetative *Sporolactobacillus* was observed, peaking at 5.6-6.4 log cfu/g; the pH gradually declined with 40 days from 6.2 to 5.4. In the 40 examined samples from raw materials for sausage production, no bacterial growth was found after the exposure to 70 °C for 10 min. The entry point into the sausage production for *Sporolactobacillus* could not be traced back to the raw materials and could not be identified.

Abkürzungsverzeichnis

AMC = Aerobe mesophile Keimzahl

KbE = Koloniebildende Einheit

LAB = Milchsäurebakterien

MRS = de Man, Rogosa, Sharpe

ÖLMB = Österreichisches Lebensmittelbuch

PCA = Plate Count Agar

TSC = Tryptose Sulfit Cycloserin

1. Einleitung

1.1 Charakterisierung von Brühwürsten und Brühdauerwürsten nach dem österr. Lebensmittelbuch

Laut österreichischem Lebensmittelbuch (ÖLMB) (1) gibt es drei verschiedene Kategorien von Würsten, die sich in der Herstellung unterscheiden: Kochwürste, Rohwürste und Brühwürste. Innerhalb dieser Kategorien wird noch nach „Sorten“ differenziert. Diese unterscheiden sich im Gehalt an wertbestimmenden Inhaltsstoffen (Eiweiß bzw. kollagenfreies Eiweiß). Für die Sorten sind im Lebensmittelbuch chemische Grenzwerte festgelegt, die bei Einhaltung empfohlener Rezepturen erreicht werden. Dazu werden im ÖLMB (1) auch die Zusammensetzung und Art (Teilstück...) der Fleisch- und Speckkomponenten definiert. Im Rahmen dieser Arbeit sollen nur Brühwürste behandelt werden.

Die Herstellungsrichtlinien für Brühwürste und gebratene Würste besagen, dass diese aus Brät oder unter Mitverwendung von Brät unter Zugabe von Gewürzen hergestellte Würste sind, die einer Erhitzung unterzogen werden. Unter Brät versteht man ein durch intensive Zerkleinerung von Fleisch unter Schüttung von Trinkwasser, in Form von Eis, und Zusatz von Nitritpökelsalz oder Kochsalz und Salpeter („rotes Brät“) oder unter Zusatz von Kochsalz („weißes Brät“) hergestelltes Zwischenprodukt bei der Fleischwarenherstellung. Brühwürste werden nach vorausgegangener Heißräucherung oder ohne Räucherung einer feuchten Erhitzung unterzogen; dieser entspricht auch das Erhitzen in wasserdampfundurchlässigen Umhüllungen (ÖLMB) (1).

Bei Brühwürsten unterscheidet man zwischen Brät- und Fleischwürsten.

Brätwürste sind in drei Sorten mit je zwei Untergruppen aufgeteilt: Sorte 1a (z.B. Pariser mit hervorhebender Bezeichnung: 50 Teile Rindfleisch I und/oder Schweinefleisch I, 20 Teile Speck II, 30 Teile Trinkwasser), Sorte 1b (z.B. Feine Extrawurst: 45 Teile Rindfleisch I und/oder Schweinefleisch I, 23 Teile Speck II, 32 Teile Trinkwasser, auf 100 Teile Wurstmasse 1 Teil Kartoffelstärke), Sorte 2 (z.B. Knackwurst: 49 Teile Rindfleisch II und/oder Schweinefleisch II, 18 Teile Speck II, 33 Teile Trinkwasser, auf 100 Teile Wurstmasse 2 Teile Kartoffelstärke), Sorte 3a (Dürre im Kranz (rund), doppelt geräuchert: 100 Teilen Wurstmasse können bis zu 3 Teile Herzmuskulatur zugesetzt werden. 37 Teile Rindfleisch II und/oder Schweinefleisch II, 25 Teile Speck I, 20 Teile Salzstoß, 18 Teile Trinkwasser; auf 100 Teile Wurstmasse

3 Teile Kartoffelstärke) und Sorte 3b (z.B. Burenwurst: Wurstmasse wie Sorte 3a), bei denen der Unterschied in der Aufteilung an Fleisch, Speck und Trinkwasser liegt.

Fleischwürste enthalten mehr oder weniger grob zerkleinertes, gepökeltes Fleisch und je nach Wurstsorte auch mehr oder weniger grob zerkleinerten Speck, wobei in der Regel der Zusammenhalt der Fleischeinlage durch Brät gewährleistet ist.

Gebratene Würstchen unterscheiden sich von Brühwürsten dadurch, dass sie einer trockenen Erhitzung in Verbindung mit einer Räucherung („Braten“) unterzogen wurden, ihre Haltbarkeit hängt vom Trocknungsgrad ab.

Fleischwürste können auch als Dauerwürste hergestellt werden, sie haben dann eine längere Haltbarkeit als übliche Fleischwürste. Diese Fleischwürste werden ohne Stärkezusatz hergestellt und entweder gebraten und getrocknet oder nach feuchter Erhitzung kalt geräuchert und getrocknet. Bei Dauerwürsten, die nach der Herstellungsrichtlinie für „Wiener“ erzeugt werden, beträgt die Abtrocknung insgesamt ca. 30 %, bei solchen mit einem höheren Wasserzusatz als „Wiener“ muss die Abtrocknung entsprechend höher sein, bei solchen mit geringerem Wasserzusatz kann die Abtrocknung geringer sein.

Chemische Grenzwerte für Brätwürste sind für die Parameter Kollagenfreies Eiweiß (in %), Kollagenwert, Wasser: Eiweiß, Fett: Eiweiß, (Wasser+Fett):Eiweiß und pflanzliche Stärke, berechnet als Kartoffelstärke (in %) festgelegt. Die Grenzwerte für Fleischwürste sind zusätzlich zu den sechs eben genannten noch Sichtbare Muskelfleischeinlage (in Vol.-%) und Sichtbares Fettgewebe (in Vol.-%). Es werden auch Toleranzwerte angeführt, die zu berücksichtigen sind, diese sollten die produktionsbedingten Schwankungen und die analysebedingten Messunsicherheiten weitgehend abdecken.

Bei Dauerwürsten ist der Grenzwert für das Wasser: Eiweiß-Verhältnis auf 1,8 festgelegt. Die Grenzwerte für den Kollagenwert und das Fett: Eiweiß-Verhältnis müssen jener der Wurstsorte entsprechen, nach welcher sie bezeichnet sind; solche mit Phantasiebezeichnungen entsprechen jenen für „Wiener“.

Gebratene Würste haben ein um 0,5 geringeres Wasser: Eiweiß-Verhältnis aufzuweisen, außer „Wiener Spezial“, „Polnische Spezial“, „Beskiden“ und „Polnische“.

Die Herstellung ist dem Kap.1.2 zu entnehmen.

1.2 Herstellung von Brühwürsten

1.2.1 Brätwürste

Die Herstellung von Brätwürsten ist in Abb. 1 schematisch dargestellt.

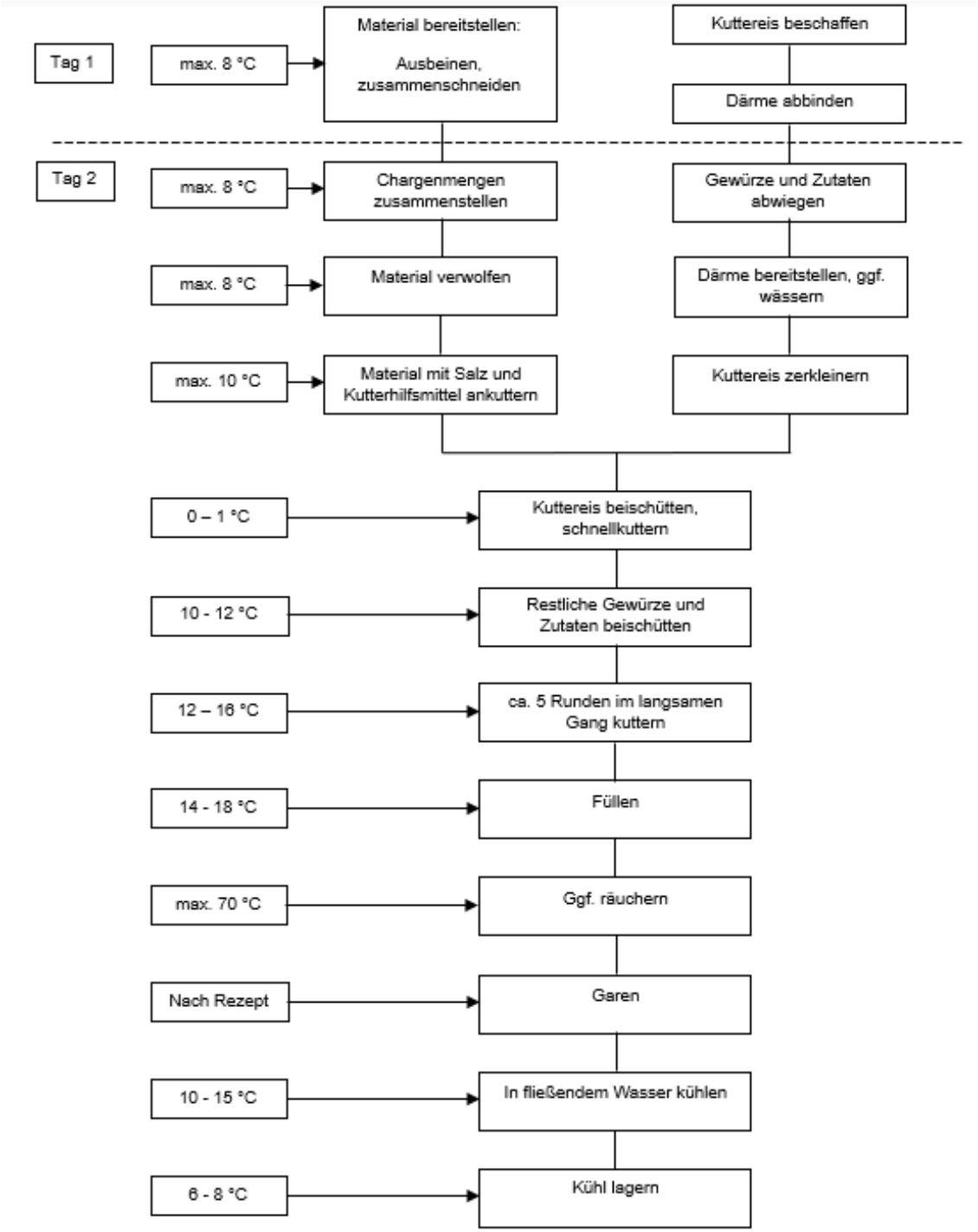


Abb. 1: Brühwurst, fein zerkleinert; Produktionsschema; eigene Darstellung nach (2)

1.2.2 Fleischwürste

Die Herstellung von (gebrühten) Fleischwürsten ist in Abb. 2 schematisch dargestellt.

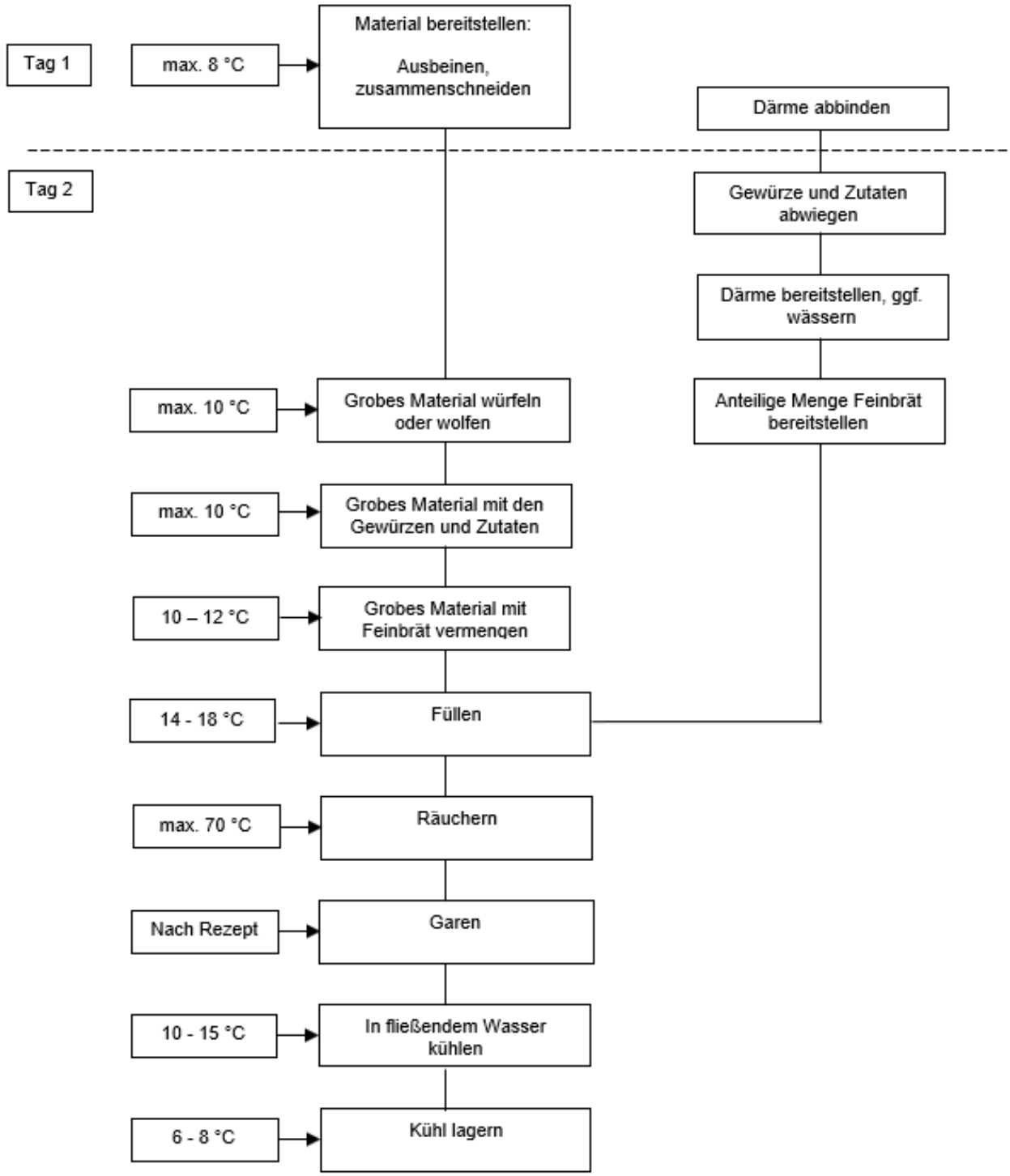


Abb. 2: Brühwurst, fein zerkleinert, mit grober Fleischeinlage; Produktionsschema; eigene Darstellung nach (2)

1.2.3 Gebratene Würste und Dauerwürste

Die Herstellung entspricht jener der Fleischwürste. Dabei werden die Würste nach dem Füllen entweder feucht erhitzt, geräuchert und dann abgetrocknet oder intensiv heißgeräuchert (80 °C; „Braten“, ÖLMB) und ggf. weiter nachgetrocknet (1). Der Gewichtsverlust beträgt für die Sorte „Wiener“ 30 %, für andere Sorten hängt die geforderte Abtrocknung vom Wasserzusatz bei der Herstellung ab (1).

1.3 Arten und Ursachen von Fehlfabrikaten

Fleisch ist zwar ein sehr empfindlicher Rohstoff, aber da die Herstellung der Brühwurst weitgehend perfektioniert wurde, findet man eher sehr selten Fehlfabrikate (2).

Man kann diese Fehlfabrikate in Geschmacksfehler, in Konsistenzfehler und in Äußere Fehler (Oberfläche und Farbe) unterteilen und sie können chemische, technologische oder mikrobiologische Ursachen haben (3).

1.3.1 Farbabweichungen/Farbfehler

Laut dem Institut für Technologie (4) wird die Wurstfarbe grundsätzlich durch verschiedene Komponenten beeinflusst, einerseits durch die Eigenfarbe der Zutaten und andererseits durch technologische Faktoren während der Herstellung. Die Auswahl des Fleisches spielt eine sehr große Rolle bei der Farbgebung, da die Farbe hauptsächlich durch den roten Muskelfarbstoff Myoglobin zu Stande kommt und dieser in unterschiedlicher Menge vorhanden ist, je nachdem ob Rind- oder Schweinefleisch genutzt wird oder ob das Fleisch von jüngeren oder von älteren Tieren kommt (4). Das Fleisch von Rindern und von älteren Tieren beinhaltet mehr Myoglobin, somit hat es auch eine intensivere dunkelrote Farbe (4). Andere Zutaten wie Gewürze (z.B. Paprika) oder die Anteile an Fett, Schwarte und Wasser können auch auf die Farbe des Fleisches Einfluss nehmen, zerkleinertes Fett und Schwarte und auch Wasser lassen es blasser wirken (4). In technologischer Hinsicht spielen das Kuttern unter Vakuum, das Pökeln und der pH-Wert eine wichtige Rolle (4). Kuttern unter Vakuum hat eine positive Wirkung auf die Farbe, da durch den Sauerstoffentzug Myoglobin nicht zu dem braunen Metmyoglobin reagieren kann

(4). Beim Pökeln entsteht im sauren Milieu aus Nitrit Stickoxid, dieses reagiert mit Myoglobin zu einer Stickoxid-Myoglobin Verbindung, die sehr licht-, sauerstoff- und hitzestabil ist, deshalb haben erhitzte Brühwürste mit Pökelstoff ein rotes Aussehen (4). Wird statt Nitritpökelsalz nur Kochsalz verwendet, sieht die ungepökelte Wurst weiß aus (4). So wird unterschieden zwischen einer ungepökelten weißen und einer gepökelten roten Wurst (4). In Österreich werden die meisten Brühwürste gepökelt (4). Der pH-Wert spielt in zweierlei Hinsicht eine wichtige Rolle, was die Farbgebung angeht: Erstens hat Fleisch mit einem zu hohen pH-Wert eine dunklere Farbe als Fleisch mit niedrigerem pH-Wert, und zweitens muss der pH-Wert auch niedrig genug sein, damit ein saures Milieu für die Stickoxidbildung vorhanden ist (4).

Farbfehler sind eine häufige Ursache von Fehlfabrikaten, was unerwartet ist, da es viele Hilfsstoffe gibt, die genau das verhindern sollten (2). Der Grund dafür liegt aber mit großer Wahrscheinlichkeit darin, dass diese nicht richtig angewendet werden, z.B. durch ungenaues Abwiegen oder wenn sie nur per Hand dosiert werden (2).

Gibt es ein zu dunkles Schnittbild, dann liegt es daran, dass ein zu hoher Anteil an Rindfleisch verwendet wurde (2, 3). Eine zu blasse Wurst hat dementsprechend einen zu hohen Anteil an hellem Schweinefleisch oder die Umrötung erfolgte unzureichend (Mangel an Reduktionsmitteln) oder es erfolgte eine Oxidation (Mangel an antioxidativen Bestandteilen) (2, 3).

Ein grauer Kern bei Brühwürsten kann auf eine ungenügende Umrötung (Erhitzung, bevor sich der NO-Mb Komplex gebildet hat) oder auf Probleme beim Räuchern (zu kurze und/oder zu kalte Räucherung) hinweisen (2, 3). Brühwürste haben auch eine zu blasse Farbe oder eine schlechte Farbhaltung, wenn beim Kuttern Sauerstoff eingearbeitet wird (4).

Zeigt sich nach kurzer Zeit im Kern der Wurst eine grünliche Verfärbung, dann wurde diese Wurst zu kurz gegart (2, 3). Es kann aber auch sein, dass die Vorpökelung des Magerfleisches zu lange war oder das Luft eingearbeitet wurde oder dass stark keimbelastetes Rohmaterial benutzt wurde (3). Die mikrobiologische Ursache für Grünverfärbungen sind Laktobazillen (5).

Durch einen hohen Anteil an magerem Bullenfleisch älterer Tiere bekommt die Brühwurst eine blauschimmernde Anschnittfläche (2).

1.3.2 Geschmacksfehler

Der Geschmack einer Brühwurst wird bestimmt durch die Zutaten, vor allem den Eigengeschmack des Fleisches, aber auch durch Zusatzstoffe wie zum Beispiel Gewürze, und die technologischen Schritte, Pökeln und Räuchern (4).

Geschmacklich gibt es bei Brühwürsten auch einige Fehlermöglichkeiten (2–5). Die Säuerung kann entstehen durch unhygienisch gelagertes oder überlagertes Rohmaterial, eine zu geringe Hitzebehandlung oder eine zu lange und zu warme Lagerung oder eine Überdosierung von Umrötehilfsmitteln (3). Eine Übersäuerung wird durch milchsäurebildenden Bakterien verursacht (5).

Schmeckt eine Wurst über- oder unterwürzt, liegt es daran, dass Gewürze einfach per Hand untergemischt wurden, ohne vorher gewogen zu werden oder dass keine standardisierte Gewürzmischung verwendet wurde (3).

Einen Altgeschmack oder verdorbenen Geschmack hat die Wurst, wenn stark verkeimtes Rohmaterial oder überlagerter Speck verwendet wurde (2, 3). Altgeschmack kann auch durch Sauerstoffzufuhr während des Kutterns herbeigeführt werden, durch den dann entstehenden Fett- und Eiweißabbau (4).

1.3.3 Konsistenzfehler

Die Konsistenz der Wurst wird einerseits durch die Anteile der Zutaten Wasser, Fleisch und Speck und andererseits durch die technologischen Komponenten wie das Wolfen, Kuttern und die Hitzebehandlung beeinflusst (4).

Eine zu feste Wurst entsteht, wenn zu viel Bindegewebe oder Magerfleisch benutzt wurde, auch zu viel Umrötehilfsmittel oder ein zu hohes Vakuum beim Kuttern können zu einer zu festen Konsistenz führen (3). Zu viel Sauerstoff beim Kuttern kann hingegen zu einer zu weichen Konsistenz führen (4).

Auch wenn der Anteil an Bindegewebe zu niedrig ist, kann das sich nachteilig auf die Konsistenz auswirken, indem die Wurst dann zu weich wird (3). Das kann auch passieren, wenn die Kuttertemperatur zu hoch ist oder wenn das Bindegewebe zu sehr zerkleinert wurde (3).

Eine sehr wichtige Rolle bei Konsistenzfehlern spielt der Wassergehalt, egal ob Fremd- oder Eigenwasser (2). Ein zu hoher Wassergehalt führt zu einer schwammigen Konsistenz (2).

Der Absatz von Gelee und Fett kann verschiedene Ursachen haben (3). Da die Brühwurst auch den Charakter einer Fett-in-Eiweiß Emulsion besitzt, werden ein zu geringer Salz- oder Phosphatanteil oder hochdosierte Umrötehilfsmittel (pH-Senkung) die Bindungs- und Emulsionskapazität des zerkleinerten Muskeleiweißes (Magerbrät) verringern (3). Das Material kann überkuttert sein oder die Schneiden der Kuttermesser befinden sich nicht mehr in einwandfreiem Zustand (3). In diesen Fällen kommt es durch Erwärmung zu einer partiellen Denaturierung der Muskelproteine (3). Ein zu hoher Anteil an Fett- und Bindegewebe ist eine weitere mögliche Ursache (3). Auch eine zu hohe Temperatur im Kutter und beim Füllen kann zu Gelee- und Fettabsatz führen, generell wenn die Hitzebehandlung zu lange bzw. zu hoch war (3). Und wenn man bei wasserundurchlässigen Hüllen den Wasserzusatz („Schüttung“) nicht anpasst (3).

Koch et al. (2) erklären die Geleebildung in einer ähnlichen Weise: die Wurst weist eine zu geringe Bindekraft auf und kann nicht ausreichend Wasser aufnehmen oder es wird zu viel Schüttung zugesetzt. Allerdings kann nach Koch et al. (2) auch bei zu geringer Schüttung Geleeabsatz beobachtet werden. Fett tritt bei zu warm gekutterter Masse aus.

Eine trockene Konsistenz hat die Wurst, wenn der Magerfleischanteil aus zu viel Rindfleisch besteht oder auch durch einen zu niedrigen Fettgehalt (2).

Wird zu wenig Salz und/oder Kutterhilfsmittel und/oder Eisschnee zugegeben, dann bekommt die Brühwurst eine strohige Konsistenz (2).

Eine mangelhafte Bindung des feingekutterten Materials kann durch zu wenig oder gar kein Salz entstehen oder wenn keine Kutterhilfsmittel hinzugegeben wurden (2). Auch zu viel Fremdwasser oder zu viel Kutterspeck können zu einer schlechten Bindung führen (2).

1.3.4 Oberflächenfehler

Ein faltiger Darm entsteht, wenn Därme unsachgemäß ausgewässert sind oder die Wurstmasse zu locker gefüllt ist (3). Das kann aber auch durch zu lange Trocken- und Räucherphase und zu trockene Lagerung passieren (3).

Die Wurst hat Pickel und Flecken, wenn zu fettes Rohmaterial verwendet wird oder das Fett überkuttert wird und dadurch ausgeschwitzt wird, ebenso durch eine ungenügende Trocknung der Wurstoberfläche oder zu feuchte Sägespäne im Raucherzeuger (Rauchkondensate) oder wenn die Naturdärme schlecht ausgewässert sind (Salzflecken) (3).

Eine schleimige Oberfläche kann durch verschiedene Genera von Mikroorganismen verursacht werden, wie z.B. Hefen, *Lactobacillus, Leuconostoc, Streptococcus* oder *Brochothrix thermosphacta* (5).

1.3.5 Mikrobiologie von Fleisch und Fleischerzeugnissen

Laut Prändl et al. (6) können die in Bezug auf Fleisch und Fleischerzeugnissen vorkommenden Mikroorganismen nach funktioneller Betrachtungsweise in vier Gruppen eingeteilt werden: 1. unerwünschte Keime mit krankmachender Wirkung; 2. unerwünschte Keime mit Verderb verursachender Wirkung; 3. tolerierbare Keime mit keinen negativen Eigenschaften und 4. erwünschte Keime, die einen vorteilhaften Einfluss haben und zur Sicherung bzw. Verbesserung von Qualität führen, bei den letzten drei Gruppen kann es zu Überschneidungen kommen. Diese Arbeit wird sich hauptsächlich mit der zweiten Gruppe mit Mikroorganismen, die Verderb verursachen, beschäftigen.

Bei Kontaminationen von Fleisch und Fleischerzeugnissen gibt es einerseits die primäre Kontamination, das ist der Keimbefall, der geschieht, während das Tier noch lebt und andererseits die sekundäre Kontamination, welche während und nach der Schlachtung geschieht (6). Letztere ist auch Ursache für den mikrobiellen Verderb von Fleisch und Fleischerzeugnissen (6).

Die Zusammensetzung und Entwicklung der Kontaminationsflora wird durch spezifische Umweltfaktoren bestimmt, die deren Wachstum und Vermehrung begünstigen (6). Dazu gehören innere Faktoren wie Nährstoffe, Struktur, Wasseraktivität, pH-Wert, Redoxpotential und sonstige Inhaltsstoffe des Fleisches oder des Fleischerzeugnisses und äußere Faktoren wie Temperatur und andere Außenfaktoren (Gasspannung und Dampfspannung) und letztendlich die impliziten Faktoren, das sind Faktoren, die abhängig von den jeweiligen Mikroorganismen sind (6).

Der Sauerstoffgehalt hat auch eine Auswirkung auf die wachsende Mikroorganismenpopulation (7). Aerobier brauchen Sauerstoff zum Wachsen, hierzu gehören die meisten Mikroorga-

nismen, während Anaerobier keinen Sauerstoff brauchen und für obligate Anaerobier Sauerstoff sogar toxisch ist, können fakultative Anaerobier sowohl unter aeroben als auch unter anaeroben Bedingungen wachsen (7).

Für die Haltbarkeit von Brühwürsten sind Temperatur, pH-Wert, Wasseraktivität und Redoxpotential die wichtigsten Faktoren (4).

Das Wachstum von Mikroorganismen ist in einem großen Temperaturbereich, zwischen -15 °C und 70 °C (4) bzw. -15 °C und 75 °C (6) möglich, aber die verschiedenen Spezies sind nicht im ganzen Bereich überlebensfähig, sondern nur in begrenzten Temperaturbereiche (4, 6). Nach den Temperaturbereichen kann man die Mikroorganismen in drei Hauptgruppen einteilen, sie sind entweder psychrophil, mesophil oder thermophil (4, 6, 7). Jede Gruppe hat einen optimalen Temperaturbereich in dem die besten Wachstumsbedingungen für Mikroorganismen bestehen (7). Psychrophile Mikroorganismen haben ihr Optimum bei Temperaturen von 15 °C bis 20 °C, mesophile von 20 °C bis 45 °C und thermophile von 45 °C bis 65 °C (7).

Auch der pH-Wert beeinflusst das Wachstum und den Stoffwechsel von Mikroorganismen, optimal für die meisten Bakterienarten ist ein schwach saurer bis neutraler pH-Wert (4, 7). Ausnahmen sind säurebildende Bakterien, auch Hefen und Schimmelpilze ziehen einen sauren pH-Wert vor (4, 7). Lebensmittel werden aufgrund ihres pH-Wertes in drei Gruppen unterteilt, es gibt schwache saure bis neutrale Lebensmittel mit einem pH-Wert von > 4,5, saure Lebensmittel mit einem pH-Wert von 4,0-4,5 und stark saure Lebensmittel haben einen pH-Wert von < 4,0 (4, 7).

Der Wassergehalt eines Produkts hat auch einen großen Einfluss auf dessen Haltbarkeit, hier geht es vor allem um das frei verfügbare, aktive Wasser, das durch den a_w-Wert (Wasseraktivität) ausgedrückt wird (4, 6, 7). Der a_w-Wert beschreibt den Dampfdruck des Wassers im Lebensmittel dividiert durch den Dampfdruck von reinem Wasser bei gleicher Temperatur (4, 6). Bakterien haben die höchste Anforderung an das verfügbare Wasser und entwickeln sich nur bei a_w-Werten zwischen 0,90 und 1,00 (7). Lebensmittel, die einen a_w-Wert > 0,95 haben sind somit leicht verderblich, mit einem a_w-Wert zwischen 0,90 und 0,95 haben sie mittlere Verderblichkeit, hier können die meisten bakteriellen Verderbniserreger nicht mehr wachsen und kaum verderblich sind Produkte mit a_w-Werten < 0,90 (7). Unter dem minimalen a_w-Wert wachsen die Mikroorganismen zwar nicht nennenswert, aber einige Mikroorganismen können z.B. als Spore eine lange Trockenperiode überdauern (7).

Das Redoxpotenzial (E_h) misst die Fähigkeit von Lebensmitteln Elektronen abzugeben (zu oxidieren) oder Elektronen aufzunehmen (zu reduzieren), es wird in Millivolt gemessen (7). Oxidierte und reduzierte Zustände werden durch ein positives bzw. ein negatives Vorzeichen gekennzeichnet (7). Aerobe Mikroorganismen favorisieren positive E_h-Werte und anaerobe Mikroorganismen negative E_h-Werte (4, 7). Der E_h-Wert ist vom pH-Wert abhängig, mit zunehmendem pH-Wert nimmt er ab (4, 7). Auch durch den Luftsauerstoffgehalt im Produkt kann sich das Redoxpotential verändern (4, 6). Bei Brühwürsten zum Beispiel kann der E_h-Wert je nach Zerkleinerungsbedingungen und somit Sauerstoffgehalt im Bereich von +20 mV bis -100 mV liegen (4, 5).

1.4 Fragestellung

Obwohl Brühwürste typischerweise so erhitzt werden, dass vegetative Bakterien weitgehend eliminiert werden, ist ein Verderb von Brühwürsten durch hitzetolerante Mikroorganismen bekannt, auch bei den durch zusätzliche Abtrocknung stabilisierten Brühdauerwürsten ist ein Verderb möglich, z.B. in Form einer übermäßigen Säuerung oder eines grauen Randes.

In der Einleitung wurden bereits in der Fachliteratur beschriebene Arten von und Ursachen für Fehlfabrikate zusammenfassend dargestellt.

Im zweiten Teil dieser Arbeit soll das Erhitzungs- und Abkühlungsregime einer bestimmten Brühdauerwurstsorte unter Laborbedingungen (Wasserbad) simuliert werden.

Im dritten Teil der Arbeit sollen Fehlfabrikate und die verwendeten Rohstoffe auf ihre Mikroflora untersucht werden. Die aus Brühwürsten erhaltenen Isolate werden auf ihre Fähigkeit, Brühwurstmasse zu säuern, untersucht. Bei den Rohstoffen (Einlage- oder Brätfleisch) wird untersucht, ob nach dem simulierten Erhitzungs- Abkühlungsprozess Mikroorganismen überleben können.

Die Ergebnisse werden im Kontext der mikrobiologischen Fachliteratur diskutiert. Es wird auch abgehandelt, ob in der gängigen Fachliteratur für Fleischer/Fleischwarenerzeuger auf die Möglichkeit des Verderbs von Brühwürsten und insbesondere von bei Raumtemperatur nachgetrockneten Brühdauerwürsten ausreichend aufmerksam gemacht wird.

2. Material und Methoden

2.1 Nachbildung des Zeit-Temperaturverlaufs bei der Erhitzung einer Brühdauerwurst

Ausgehend von Kerntemperatur-Zeit Protokollen eines Brühwurstherstellers wurde versucht, ein vergleichbares Temperaturprofil mittels eines Wasserbades zu simulieren. Dies diente der Klärung der Frage, ob sich in Rohstoffproben aus dem Betrieb Mikroorganismen befinden, die die Erhitzung überleben können. Es wurde dabei darauf geachtet, dass die F_{70}-Werte vergleichbar waren (8, 9). Für die Berechnung des F_{70}-Werts wird zu drei verschiedenen Zeitpunkten (a,b,c) die Temperatur abgelesen, Zeitpunkt a ist der Moment in dem bei der Erhitzung zum ersten Mal 55 °C erreicht oder auch überschritten wird. Für Zeitpunkt b ist die Differenz zwischen der Raumtemperatur und der Kerntemperatur relevant, ist die Differenz der höchsten gemessenen Raumtemperatur, während dem gesamten Kochvorgang, und der höchsten Kerntemperatur kleiner als 5 °C dann ist b der Moment, bei dem die höchste Kerntemperatur zum ersten Mal erreicht wird, ist die Differenz jedoch größer als 5 °C ist b der letzte Moment vor dem Einleiten der Kühlung. Zeitpunkt c ist an dem Moment abzulesen, an dem zum ersten Mal bei der Kühlungsphase 55 °C Kerntemperatur erreicht oder unterschritten wird. Diese Momente werden dann in ein dafür ausgearbeitetes Arbeitsblatt für das Tabellenkalkulationsprogramm MICROSOFT-EXCEL eingefügt und man bekommt vier neue Zeitpunkte vorgegeben, an denen man die jeweilige Temperatur ablesen und eintragen muss und damit errechnet das Programm dann den F_{70}-Wert (8, 9)

Verwendet wurden ein Präzisionswasserbad (Huber Polystat CC; Huber, Offenburg, Deutschland) und anfänglich ein Temperaturlogger Ebi 20 (Xylem Analytics, Weinheim, Deutschland). Da dieser nur Temperaturen bis +70 °C anzeigen kann, wurde dann der Temperaturlogger testo 176T2 (Testo Saveris, Titisee-Neustadt, Deutschland) benutzt. Die Programmierung der Logger erfolgte so, dass alle 60 s ein Messwert gespeichert wurde.

Das Produkt wurde durch eine bis zum Niveau des umgebenden Wassermantels mit Wasser gefüllte Eprouvette (Pyrex Kulturröhrchen mit Schraubverschluss, 20 x 100 mm; Merck, Darmstadt, Deutschland) simuliert und sowohl in das Wasser des Wasserbades als auch in das mit Wasser gefüllte Pyrexröhrchen je ein Temperaturfühler eines Loggers platziert. Die Wasser-

säule im Pyrexröhrchen wurde mit einer ca. 1 cm hohen Schicht aus sterilem flüssigem Paraffin (BioMerieux, Marcy l´Etoile, Frankreich) überschichtet, um die Verdunstung des Wassers zu vermeiden.

In mehreren Vorversuchen (auszugsweise in Tab. 1) ergab sich schließlich eine mit dem Wasserbad erreichbare beste mögliche Variante, um ein ähnliches Temperaturprofil wie jenes im Herstellungsbetrieb zu erreichen (Abb. 3). Dabei wurden die eingestellten Werte mit einer gewissen Verzögerung erreicht, sodass der Temperaturanstieg rampenförmig erfolgte. Um so nah wie möglich an die Soll-Temperaturen zu gelangen und auch die 70 °C zu überschreiten, wurden einige Versuche mit verschiedenen Temperatureinstellungen getätigt, siehe Tabelle 1. Es wurden auch verschiedene Heißhaltezeiten getestet.

Tab. 1: Einstellung des Wasserbades

Zeit, min	**Ist-Temperatur, Wasserbad, °C**	**Temperatureinstellung, °C (1. Versuch)**	**Temperatureinstellungen, °C (endgültig)**
0	20	30	33
40	30	40	43
80	40	50	58
120	50	60	68
180	60	70	80
240	70	70	80
250	70	*	*

* Die Heizung wurde abgeschaltet und das Wasserbad bei 20 °C Umgebungstemperatur auskühlen gelassen.

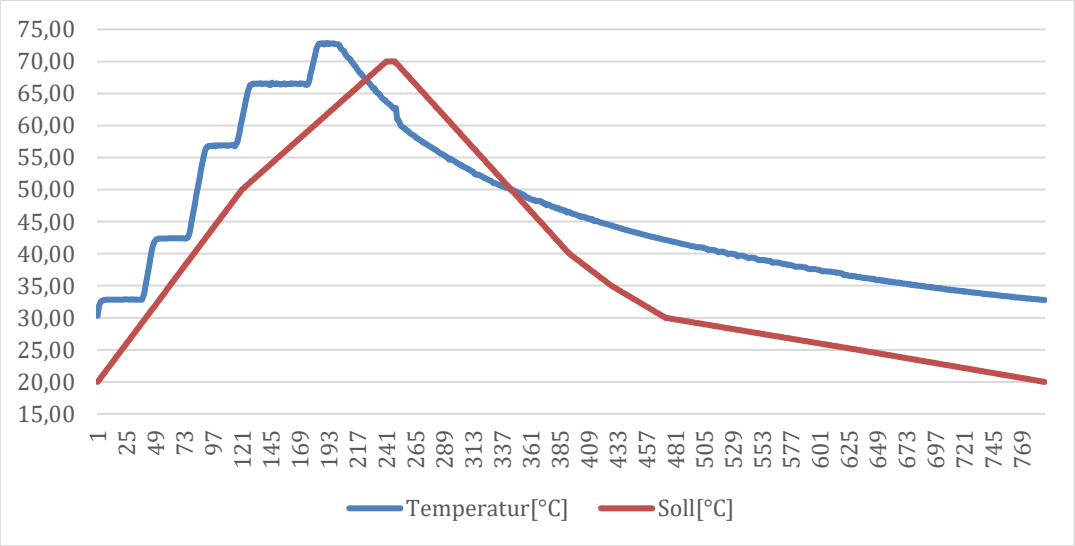


Abb. 3: Beispiel eines Temperaturprofils (x-Achse = Zeit in Minuten; y-Achse = °C)

2.2 Entnahme und Untersuchung von Rohstoff- und Zwischenprodukt-proben

An sechs Terminen wurden während des laufenden Betriebs Proben genommen. Es handelte sich um Tropfsaft von aufgetautem Fleisch, oder Tropfsaft, der sich an produktberührenden Flächen von Zerkleinerungsmaschinen oder Förderbändern sammelte (Tab. 2); zwei Proben waren Brühwürste zu verschiedenen Stadien der Reifungsphase.

Je nach Menge an Flüssigkeit erfolgte die Probenahme durch Aussaugen mit sterilen unarmierten Injektionsspritzen (B.Braun, Melsungen, Deutschland) und Überführen in sterile Probengefäße (Probengefäß steril, 60 ml, Semadeni, Wien, Österreich) oder durch Aufsaugen der Flüssigkeit mittels Tupfer (3M Sponge Sticks mit 10 ml gepuffertem Peptonwasser; 3M, Saint Paul, USA). Bei der Brühwurst wurde eine ganze Stange als Probe genommen.

Tab. 2: Übersicht zu den entnommenen Proben

Bezeichnung	**Beprobung**	**Probenkategorie**
Erste Beprobung		
Probe 1: Abstreifer Wolf mittels Sponge Stick, vor erster Kiste für Einlage (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 2: Förderband nach Wolf mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 3: Fleischsaft für 1. Einlage von Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Probe 4: Fleischsaft Lieferant A Rindfleisch mittels Spritze (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 5: Fleischsaft Lieferant B Rindfleisch ausgelöst mittels Spritze (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 6: Fleischsaft Lieferant A Rindervorderviertel ohne Knochen mittels Spritze (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 7: Fleischsaft Lieferant C Rindfleisch vakuumverpackt mittels Sponge Stick (Wareneingang)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 8: Fleischsaft Lieferant C vakuumverpackt mittels Spritze (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 9: Wurstprobe	Wurst	Wurst frisch
Probe 10: Fleischsaft für 2. Einlage von Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Anlieferung/Beprobung 12.03.2025		
Probe 11: Fleischsaft Lieferant A Rindfleisch 95/5 (f. Brät) mittels sterilem Probenbehältnis (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste

Probe 12: Fleischsaft Lieferant A Rindervorderviertel ohne Knochen mittels Sponge Stick (Wareneingang)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 13: Förderband nach Wolf während AT Rindfleisch 95/5 (f. Brät) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 14: Fleischsaft von Brät Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Probe 15: Förderband nach Wolf während AT Rindfleisch II (Einlage) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 16: Fleischsaft von AT Rindfleisch II (Einlage) Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Anlieferung/Beprobung 13.03.2025		
Probe 17: Fleischsaft Lieferant A Rindervorderviertel ohne Knochen mittels Sponge Stick (Wareneingang)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 18: Fleischsaft Lieferant B Rindfleisch ausgelöst mittels sterilem Probenbehältnis (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste
Anlieferung/Beprobung 17.03.2025		
Probe 19: Förderband vor Wolf mit AT Rindfleisch II (f. Einlage) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 20: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch II (f. Einlage) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 21: Fleischsaft Lieferant A Rindfleisch 95/5 (f. Brät) mittels sterilem Probenbehältnis (Wareneingang)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 22: Fleischsaft Lieferant B Rindfleisch ausgelöst mittels Sponge Stick (Wareneingang)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 23: Wurst, Produktionstag Do, 06.03.2025 (eine Woche Lagerung im Klimaraum)	Wurst	Wurst 1 Woche
Beprobung vom 18.03.2025:		
Probe 24: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch II (f. Einlage) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 25: Förderband vor Wolf mit AT Rindfleisch II (f. Einlage) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 26: Fleischsaft von AT Rindfleisch II (für 2. Einlage des Tages) Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Probe 27: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch II (für 2. Einlage des Tages) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Beprobung vom 19.03.2025		
Probe 28: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch II (f. Einlage) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 29: Fleischsaft Lieferant D AT BOS Rindfleisch II mittels sterilem Probenbehältnis (Wareneingang, Anlieferung 18.03.2025)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 30: Fleischsaft Lieferant E Rindervorderviertel ohne Knochen mittels sterilem Probenbehältnis (Wareneingang, Anlieferung 18.03.2025)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 31: Fleischsaft Lieferant A Rindervorderviertel ohne Knochen mittels Sponge Stick (Wareneingang, Anlieferung 19.03.2025)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 32: Fleischsaft von AT Rindfleisch 95/5 (f. Brät) Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Probe 33: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch 95/5 (f. Brät) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte

Beprobung v. 21.3.		
Probe 34: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch II (für 1. Einlage des Tages) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 35: Förderband vor Wolf mit AT Rindfleisch II (für 1. Einlage des Tages) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Probe 36: Fleischsaft von AT Rindfleisch II (für 2. Einlage des Tages) Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Probe 37: Fleischsaft Lieferant B Rindfleisch ausgelöst mittels Sponge Stick (Wareneingang, Anlieferung 20.03.2025)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 38: Fleischsaft Lieferant A Rindervorderviertel ohne Knochen mittels sterilem Probenbehältnis (Wareneingang, Anlieferung 20.03.2025)	Saft	Rohstoff in Kiste
Probe 39: Fleischsaft von AT Rindfleisch II (für 3. Einlage des Tages) Abtropftasse über Wolf mittels sterilem Probenbehältnis (Rezeptur)	Saft	Geräte
Probe 40: Förderband nach Wolf mit AT Rindfleisch II (für 3. Einlage des Tages) mittels Sponge Stick (Rezeptur)	Tupfer	Geräte
Beprobung v. 27.3.		
Probe 41: Fleischsaft Lieferant B Rindfleisch ausgelöst mittels Sponge Stick (Wareneingang, Anlieferung 27.03.2025)	Tupfer	Rohstoff in Kiste
Probe 42: Fleischsaft Lieferant A Rindervorderviertel ohne Knochen mittels Sponge Stick (Wareneingang, Anlieferung 27.03.2025)	Tupfer	Rohstoff in Kiste

Die Proben wurden nach der Entnahme bei <7 °C innerhalb von drei Stunden in das Labor gebracht. Dort erfolgte die erste mikrobiologische Untersuchung.

Bei den Tupferproben wurde der Transportbeutel mit darin befindlichem Tupferkopf 50x durchgeknetet, um den Übertritt der Bakterien in die Transportlösung sicherzustellen. Bei den Fleischsaftproben wurde das Probenbehältnis vor der Entnahme auf einem Rüttler (Vortex Genie 2; Scientific Industries, Bohemia, NY, USA) 10 s gerüttelt. Die Wurststange wurde entlang ihres Umfangs eingeritzt und dann auseinandergebrochen. Von dem an einem Bruchende entstandenen Kegel wurden 10 g Probe mit sterilem Besteck entnommen und mit 90 g Kochsalz-Pepton-Lösung in einem sterilen Stomachersack mazeriert (Stomacher Lab-Blender, 180 s bei hoher Geschwindigkeit; Seward, London, UK).

Danach wurden vom Fleischsaft, der Transportflüssigkeit und der Erstverdünnung der Wurstprobe dezimale Verdünnungsreihen (bis 10^{-4}) mit Kochsalz-Pepton-Lösung angelegt, und von diesen je 0,1 ml zur Bestimmung der aeroben mesophilen Keimzahl (AMC) und der Milchsäurebakterien (LAB) auf PCA bzw. MRS-Agar im Doppelansatz ausgestrichen. Die Bebrütung erfolgte aerob für drei Tage bei 30 °C (PCA) und 3-5 Tage bei 30 °C (MRS). Parallel dazu erfolgte auch eine anaerobe Bebrütung (Anaerogen; BioMerieux, Marcy l´Etoile, Frankreich)

bei den genannten Temperaturen und Zeiten. Nach der Bebrütung wurden die Koloniezahlen ermittelt und als log KbE/ml berichtet. Die Medien und Reagenzien stammten, sofern nicht anders angegeben, von Oxoid (Oxoid, Basingstoke, UK).

An einem Tag wurden auch drei verschiedene Gewürzproben geliefert, diese wurden auf aerobe mesophile Keimzahl, aerobe Sporenbildner, sulfitreduzierende Clostridien und Hefe und Schimmelpilze untersucht (10).

Mit sterilem Besteck wurden von jedem Gewürz 5 g entnommen und mit 45 g Kochsalz-Pepton-Lösung in einem sterilem Stomachersack mazeriert (Stomacher Lab-Blender, 180 s bei hoher Geschwindigkeit; Seward, London, UK).

Danach wurde wieder dezimale Verdünnungsreihen (bis 10^{-4}) mit Kochsalz-Pepton-Lösung angesetzt. Zur Bestimmung der aeroben mesophilen Keimzahl und der aeroben Sporenbildner wurden auf PCA je 0,1 ml der Dezimalverdünnungen ausplattiert, sodass sich auf den Nährböden Probenäquivalente von 10^{-5} bis 10^{-2} g befanden. Für den Nachweis von sulfitreduzierenden Clostridien wurden auf TSC Agar je 0,1 ml ausplattiert (10^{-2} und 10^{-3} g Probenäquivalente je Nährboden). Zur Bestimmung der Zahlen von Hefen und Schimmel wurden Probenverdünnungen auf Würzeagar ausgestrichen (10^{-2} und 10^{-3} g Probenäquivalente je Nährboden).

2.3 Erhitzung und Lagerung von Rohstoffproben

Je Probe wurden 5 ml der Originalflüssigkeit oder der Erstsuspension in ein steriles Schraubröhrchen (Pyrex) pipettiert; danach wurde mit sterilem Paraffin (BioMerieux) 1 cm hoch überschichtet. Die Röhrchen wurden in einem Eprouvettenständer schachbrettartig angeordnet (Abb.4). Das zentrale Röhrchen wurde nur mit Wasser befüllt und der Fühler eines Thermologgers eingehängt. Der befüllte Eprouvettenständer wurde in dem Wasserbad platziert und mit den in Tab. 1 angegebenen Einstellungen erhitzt und danach abkühlen gelassen. Die mikrobiologische Untersuchung erfolgte nach 24 Stunden und nach Lagerung bei 20 °C für 21 Tage.

Das restliche Probenmaterial wurde tiefgekühlt gelagert und nach 2 Monaten aufgetaut. Wie oben beschrieben wurden 5 ml in sterile Röhrchen abgefüllt, mit Paraffin überschichtet, aller-

dings nur für 10 min in einem auf 70 °C eingestellten Wasserbad erhitzt und danach in Eiswasser abgekühlt. Die mikrobiologische Untersuchung erfolgte nach 24 Stunden und nach Lagerung bei 20 °C für 21 Tage.

Die Wurstproben wurden der Erhitzung nicht unterzogen.

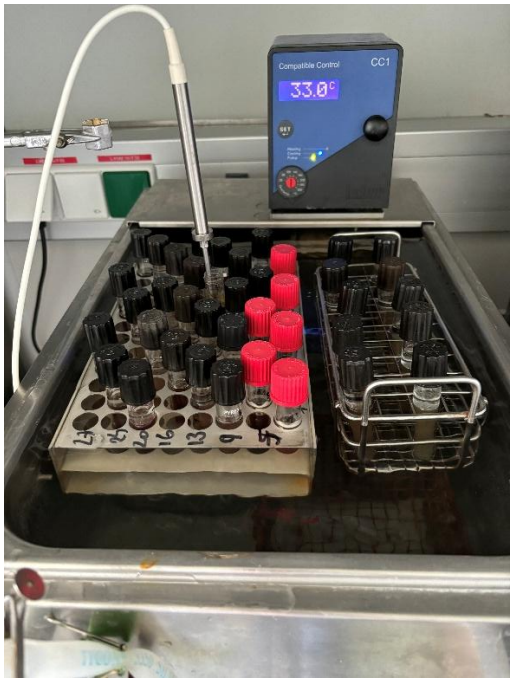


Abb. 4: Versuchsaufbau Erhitzung, Proben im Wasserbad

2.4 Untersuchung der erhitzten Rohstoffproben

Zuerst erfolgte eine Sichtprüfung, ob der Überstand in den Röhrchen klar oder trüb war. Danach wurden je 0,1 ml aus den Röhrchen auf PCA und MRS-Agar ausplattiert und aerob und anaerob bebrütet (siehe Kap.2.2). Nach der Bebrütung wurden die Koloniezahlen ermittelt und als log KbE/ml angegeben. Eine grobe Differenzierung der Kolonien erfolgte durch die Koloniemorphologie, sowie mikroskopisch nach Gramfärbung (Färbekit Bio Merieux) durch Beurteilung der Zellfarbe und -form.

Nach dreiwöchiger Lagerung erfolgte erneut eine Sichtprüfung, und es wurden bei den Röhrchen mit getrübtem Überstand dezimale Verdünnungsreihen angefertigt und wie unter Kap.2.2 verfahren.

2.5 Untersuchung von Brühwursterzeugnissen mit niedrigem pH-Wert

Zur Untersuchung gelangten Brühwurststangen, bei denen der Hersteller anlässlich der Chargenprüfung pH-Werte unter 6,0 festgestellt hatte. Die Wurststangen wurden entlang ihres Umfangs eingeritzt und dann auseinandergebrochen. Von dem an einem Bruchende entstandenen Kegel wurden 10 g Probe mit sterilem Besteck entnommen und mit 90 g Kochsalz-Peptonlösung in einem sterilen Stomachersack mazeriert (Stomacher Lab-Blender, 180 s bei hoher Geschwindigkeit; Seward, London, UK). Die weitere Untersuchung erfolgte wie oben beschrieben. Einzelne Kolonien wurden auf MRS-Agar kultiviert, mittels Gram-Färbung (Färbeset Biomerieux, Marcy l´Etoile, F) und mikroskopischer Betrachtung, Katalasetest (3 % Wasserstoffperoxidlösung) und ggf. mittels MALDI-ToF (MALDI Biotyper, Bruker Daltonics, Billerica, USA) weiter untersucht.

2.6 Kultivierung verdächtiger Isolate aus Brühwursterzeugnissen mit niedrigem pH-Wert und Inokulationsversuche

Die bei der Untersuchung von Brühdauerwursterzeugnissen mit niedrigem pH-Wert enthaltenen Isolate wurden auf MRS-Agar mit Zusatz von Manganchlorid (entsprechend 10^{-4} M Mn^{++}; (11)) ausgestrichen und die Nährmedien aerob bei 30 °C für 5-7 Tage bebrütet. Danach wurden von je fünf Kolonien mit einer sterilen Impföse Material entnommen, dieses auf einem Objektträger mit etwas sterilem Wasser gleichmäßig ausgestrichen und nach Lufttrocknung und Hitzefixierung nach Gram gefärbt.

Die restlichen Kolonien wurden mit 5 ml Kochsalz-Peptonlösung vom Nährboden abgeschwemmt und die Suspension durch Zusatz von Kochsalz-Peptonlösung auf eine Dichte von 2 McFarland Einheiten eingestellt. Die Suspension wurde in Fraktionen zu 7 ml in Eprouvetten dispensiert. Die Eprouvetten wurden in einem auf 82 °C eingestellten Wasserbad 12 min belassen, und danach durch Abstellen in Wasser mit 10 °C gekühlt. Nach der Abkühlung wurden die Inhalte der Eprouvetten vereinigt, und danach mit dem Laborschüttler (Vortex Genie II; Scientific Industries, New Bohemia, USA) 30 s gerüttelt.

Von der Suspension wurde eine dezimale Verdünnungsreihe hergestellt und jeweils 0,1 ml auf MRS-Agar mit Spatelverfahren aufgebracht. Die inokulierten Agarplatten wurden 48 Stunden

bei 30 °C anaerob bebrütet. Die restliche Suspension wurde bei +3 °C kühl gestellt. Nach Auszählung der bewachsenen Agarplatten wurde die Suspension durch Verdünnen mit Kochsalz-Peptonlösung auf eine errechnete Dichte von 10^5 Sporen/ml eingestellt.

Von dieser eingestellten Suspension wurde am Folgetag in der Pilotanlage des Brühwurstherstellers je 150 ml zu zwei Musterchargen (je 30 kg) zugesetzt, wobei der Eisanteil (Schüttung) um das zugesetzte Suspensionsvolumen (150 ml) verringert wurde. Das (errechnete) Inokulum betrug 500 Sporen/g Wurstmasse. Die Bearbeitung und Lagerung der Wurst erfolgte wie bei Routinechargen. Die Mustercharge Var-a entsprach der üblichen Rezeptur; bei der Mustercharge Var-b wurde eine vom Hersteller nicht mitgeteilte Modifikation vorgenommen.

Von dieser Charge wurden in 7- bis 30-tägigem Intervall je zwei Stangen wie unter Kap.2.5 untersucht. Parallel wurde jeweils eine Stange einer zeitgleich hergestellten Routinecharge untersucht.

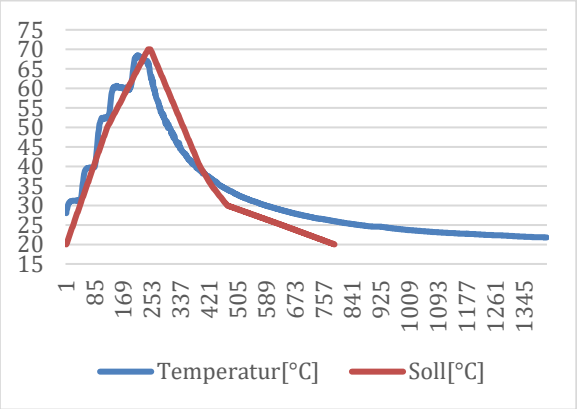
3. Ergebnisse

3.1 Temperaturprofile und F_{70}-Werte

Aus den Werten des Diagramms in Abb. 3 wurden für die Solltemperatur des Brühwurstherstellers und für das Temperaturprofil des endgültig genutzten Wasserbads jeweils die F_{70}-Werte berechnet.

Der F_{70}-Wert des Brühwurstherstellers lag bei 51,5 und der F_{70}-Wert des Temperaturprofils des Wasserbads lag bei 80,8.

Davor gab es noch einige Vorversuche zum Temperaturprofil (Abb.4-7): Vorversuch 1 (Abb.4) hatte einen F_{70}-Wert von 32,3; Vorversuch 2 (Abb.5) einen F_{70}-Wert von 26,1; Vorversuch 3 (Abb. 6) einen F_{70}-Wert von 79,3 und Vorversuch 4 (Abb. 7) einen F_{70}-Wert von 61,5.



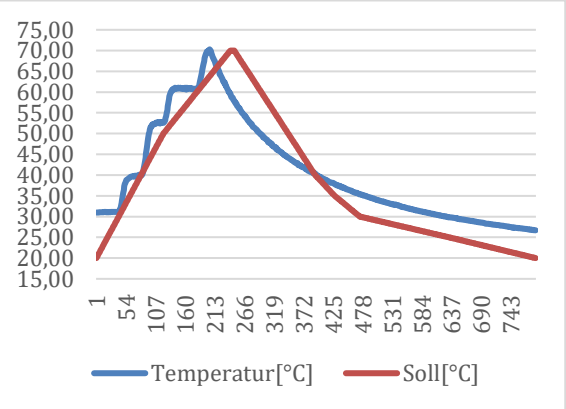
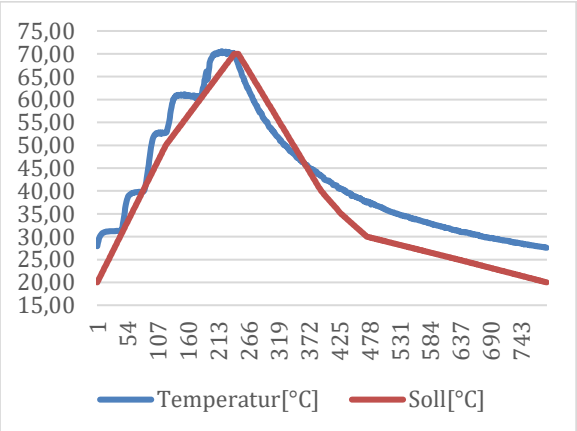


Abb. 4: Vorversuch 1 (x-Achse = Zeit in Min; y-Achse = °C) **Abb. 5:** Vorversuch 2 (x-Achse = Zeit in Min; y-Achse = °C)



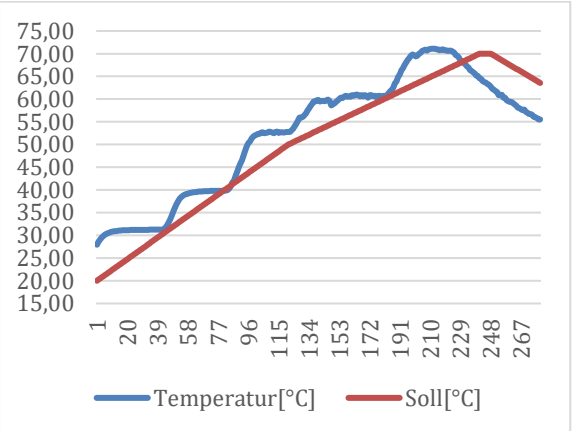


Abb. 6: Vorversuch 3 (x-Achse = Zeit in Min; y-Achse = °C) **Abb. 7:** Vorversuch 4 (x-Achse = Zeit in Min; y-Achse = °C

3.2 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Rohstoffproben und des Zwischenprodukts

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung von Rohstoffen und frischen Würsten auf vegetative Bakterien sind in Tab. 3 und 4 dargestellt. Zu beachten ist, dass die nach anaerober Bebrütung erhaltenen Ergebnisse sich auf fakultative und obligat anaerob wachsende Mikroorganismen beziehen.

Tab. 3: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Rohstoffproben und der Zwischenprodukte

Nr.	Beprobung	Probenkategorie	log AMC/ml(g)	log LAB/ml(g)		log AnMC GKZ/ml(g)	log AnMRS/ml(g)
1	Tupfer	Geräte	5,0	3,4		5,3	4,8
2	Tupfer	Geräte	7,1	4,6		6,5	5,1
3	Saft	Geräte	3,2	<1		<1	<1
4	Saft	Rohstoff in Kiste	3,2	1,6		2,2	<1
5	Saft	Rohstoff in Kiste	6,3	3,1		4,6	3,8
6	Saft	Rohstoff in Kiste	4,7	3,1		3,8	2,3
7	Tupfer	Rohstoff in Kiste	4,7	3,1		3,9	2,2
8	Saft	Rohstoff in Kiste	6,9	6,1		6,7	5,5
9	Wurst	Wurst frisch	2,1	<1		2,5	<1
10	Saft	Geräte	7,2	5,0		6,7	5,1
11	Saft	Rohstoff in Kiste	5,0	1,8		3,0	2,3
12	Tupfer	Rohstoff in Kiste	5,0	2,7		4,3	2,1
13	Tupfer	Geräte	5,0	4,2		5,5	3,4
14	Saft	Geräte	7,2	4,8		6,8	3,3
15	Tupfer	Geräte	7,4	4,4		6,8	3,0
16	Saft	Geräte	7,3	4,7		7,2	4,6
17	Tupfer	Rohstoff in Kiste	4,7	2,6		3,3	2,0
18	Saft	Rohstoff in Kiste	3,1	2,5		3,1	2,5
19	Tupfer	Geräte	7,5	4,3		7,1	3,1
20	Tupfer	Geräte	6,3	3,1		4,9	1,3
21	Saft	Rohstoff in Kiste	5,4	1,3		5,0	2,8
22	Tupfer	Rohstoff in Kiste	6,4	3,9		5,1	2,9
23	Wurst	Wurst 1 Woche	<1	<1		<1	<1
24	Tupfer	Geräte	7,3	5,1		7,0	5,0
25	Tupfer	Geräte	6,4	3,8		6,2	3,4
26	Saft	Geräte	7,2	4,7		7,1	4,3
27	Tupfer	Geräte	7,3	4,1		6,9	4,3
28	Tupfer	Geräte	5,9	3,3		6,0	4,6

29	Saft	Rohstoff in Kiste	4,7	2,7		5,1	2,6
30	Saft	Rohstoff in Kiste	7,3	3,5		7,4	3,0
31	Tupfer	Rohstoff in Kiste	4,0	2,9		3,5	3,1
32	Saft	Geräte	7,3	5,1		7,3	5,2
33	Tupfer	Geräte	7,3	4,8		7,3	5,1
34	Tupfer	Geräte	7,3	3,2		7,4	3,1
35	Tupfer	Geräte	7,4	2,4		7,1	3,1
36	Saft	Geräte	7,4	2,2		6,4	4,2
37	Tupfer	Rohstoff in Kiste	4,8	2,3		4,5	2,0
38	Saft	Rohstoff in Kiste	4,3	1,5		3,0	2,7
39	Saft	Geräte	7,3	4,1		7,0	3,0
40	Tupfer	Geräte	6,2	3,5		5,3	2,9
41	Tupfer	Rohstoff in Kiste	7,3	5,4		7,2	5,3
42	Tupfer	Rohstoff in Kiste	6,9	4,3		7,0	5,3

AMC = aerobic mesophilic (colony) count / aerobe mesophile Keimzahl, LAB = Milchsäurebakterien / Lactic Acid Bacteria, AnMC = anaerobic mesophilic (colony) count / anaerobe mesophile Keimzahl, AnLAB = Koloniezählung auf MRS-Agar nach anaerober Bebrütung

Tab. 4: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Gewürze

Nr.	log AMC/g	log sulfitreduzierende Clostridien/g	log Hefe und Schimmelpilze/g
1	3	<1	<1
2	3,6	2,5	<1
3	2,5	<1	<1

3.3 Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der erhitzten Rohstoffproben

Bei den Proben, die nach dem Brühwurstprotokoll erhitzt wurden, war nach vierwöchiger Bebrütung bei Raumtemperatur nur bei einer Probe Gasbildung zu beobachten. Alle anderen waren unauffällig. Von der auffälligen Probe wurden 0,1 ml auf MRS ausgestrichen und aerob und anaerob bebrütet (siehe Kap.2.2). Nach Bebrütung (siehe Kap.2.2) war kein Koloniewachstum nachweisbar.

Bei der zweiten Erhitzung, 10 min bei 70 °C, war nach vierwöchiger Bebrütung bei Raumtemperatur keine Gasbildung in den Röhrchen zu beobachten. Es wurde nun von jedem Probenröhrchen 0,1 ml auf MRS-Agar ausgespatelt und der Nährboden anaerob und aerob bebrütet. Nach Bebrütung (siehe Kap.2.2) war kein Koloniewachstum nachweisbar.

3.4 Ergebnisse der Untersuchung von Brühdauerwürsten mit niedrigen pH-Wert

Zur Untersuchung gelangte Brühdauerwürste desselben Typs aus drei Herstellungschargen (Nr. 113-115). Die Würste wurden 3 Wochen nach der Herstellung betriebsintern sensorisch geprüft. Dabei wurde die Charge 113 bei der betriebsinternen Routineverkostung als „sauer“ eingestuft, was über die pH-Messung objektiviert werden konnte (Tab. 5). Von den Chargen wurden vakuumverpackte Stangen (Charge 113) bzw. Stangenabschnitte 3 Wochen später mikrobiologisch untersucht. Während bei den Chargen 114 und 115 auf MRS-Agar nach Bebrütung weiße, glänzende Kolonien mit 1-2 mm Durchmesser zu finden waren, waren auf den anaerob bebrüten MRS-Agarplatten, die mit Suspensionen der Charge 113 inokuliert worden waren, kleine graue, durchscheinende Kolonien zu finden, und auf aerob bebrüteten Agarplatten war nur ein pin-point Wachstum zu erkennen (Tab.5). Bei der mikroskopischen Auswertung der Gram-Färbungs-Präparate von weißen Kolonien waren Gram-positive kleine schlanke Stäbchen, bei den Färbepräparaten von grauen Kolonien waren dickere, z.T. subterminal bis terminal verdickte Gram-positive Bakterienformen zu sehen. Die grauen Kolonien waren Katalase-negativ.

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu beachten, dass für die Chargen 114 und 115 nur mehrere Wochen vakuumverpackt gelagerte Stangenabschnitte untersucht werden konnten.

Tab. 5: Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchung der Brühwurstchargen

Nr.	pH-Wert	aerobe Keimzahl, log KbE/g	anaerobe Keimzahl, log KbE/g	MRS-Agar aerob, log KbE/g	MRS-Agar anaerob log KbE/g	Kolonieform	
113	5,41	4,3	5,8	4	5,9	<1 mm Durchmesser, grau	Gram-positive Stäbchen, größer, einzelne (bis 10 %) subterminale verdickte, dort nicht gefärbt (Endosporen?)
114	5,98	7,3	7,2	7,0	7,1	>1 mm Durchmesser, weiß	Gram-positive kleine schlanke Stäbchen
115	6	>7,5	>7,5	>7,5	>7,5	>1 mm Durchmesser, weiß	Gram-positive kleine schlanke Stäbchen

3.4.1 Weitere Identifizierung der aus der Charge 113 isolierten Bakterien

Die weitere Identifizierung der Bakterien erfolgte mittels MALDI-ToF (Bruker Daltonics). Dabei wurden die vier untersuchten Isolate als *Sporolactobacillus* sp. mit Bewertungszahlen von 2,02-2,25 eingestuft. Die mikroskopische Untersuchung von Gram-Färbe-Präparaten der auf magansupplementiertem MRS-Agar gewachsenen Kolonien ergab, dass bei etwa 5 % der gefärbten Bakterien eine subterminale bis terminale, nicht gefärbte Verdickung vorlag. Die Isolate wurden vorläufig als *Sporolactobacillus* sp. eingestuft.

3.4.2 Ergebnisse des Inokulationsversuchs

Die Entwicklung der Keimzahlen auf anaerob bebrütetem MRS-Agar sind in Abb. 8 dargestellt. In der Kontrollcharge war ab dem Tag 20 ein Koloniewachstum (≥100 KbE/g) nachweisbar, und es erfolgte ein Anstieg auf 1000 KbE/g. Es handelte sich um auf MRS-Agar (anaerob) reinweiße, erhabene Kolonien. Nach Gram-Färbung unter mikroskopischer Betrachtung waren schlanke Gram-positive Stäbchen nachweisbar.

In den Versuchschargen waren am Tag der Herstellung 2,1 und 2,2 log KbE/g nachweisbar, und es erfolgte von Tag 4 auf Tag 13 ein deutlicher Anstieg um etwa 3,5 log-Einheiten. Danach war eine Plateaubildung und ab Tag 27 ein Absinken nachweisbar. Es handelt sich auf MRS-Agar (anaerob) um graue, flache Kolonien. Nach Gram-Färbung unter mikroskopischer Betrachtung waren größere Gram-positive Stäbchen nachweisbar, mit einzelnen endständig aufgetriebenen Zellen. Bei der Charge Var-b war anfänglich ein langsameres Keimwachstum nachweisbar als bei der nach der Standardrezeptur hergestellten Charge Var-a.

In der Kontrollcharge betrugen die pH-Werte bis zum Tag 27 um 6,1 (Abb.9). Ähnliche pH-Werte wurden in der Charge Var-b gemessen, in der Charge Var-a war schon am Tag 13 ein niedrigerer pH-Wert zu beobachten.

Insgesamt ergab sich, dass ab dem Tag 13 in den beiden Chargen Var-a, Var-b eine Angleichung der Keimzahlen und pH-Werte erfolgte.

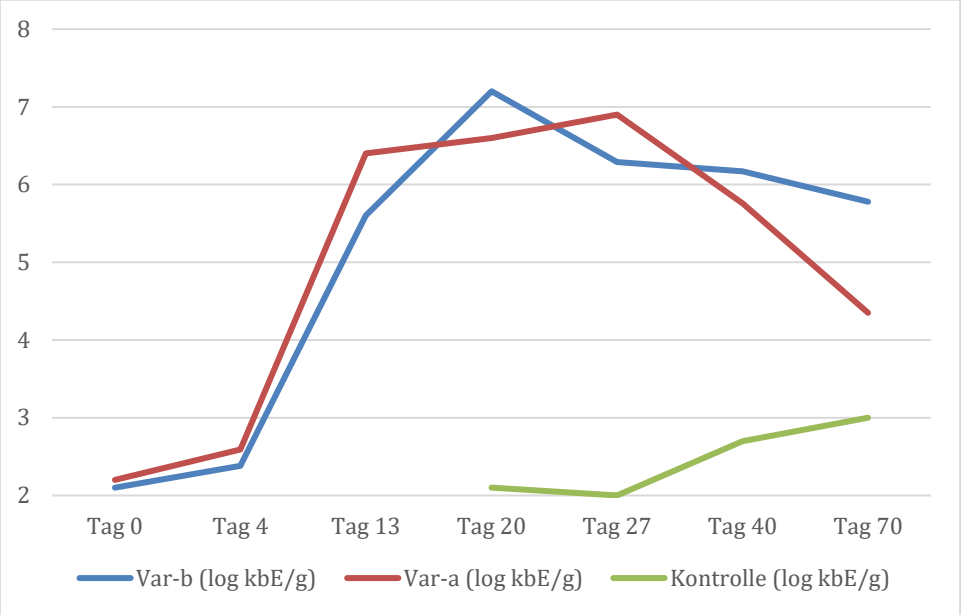


Abb. 8: Entwicklung der Keimzahlen auf MRS-Agar (anaerobe Bebrütung). Var-a = nach Standardrezeptur hergestellte, inokulierte Charge; Var-b = nach veränderter Rezeptur hergestellte, inokulierte Charge; Kontrolle = eine Stange aus der Routineproduktion; y-Achse = log KbE/g.

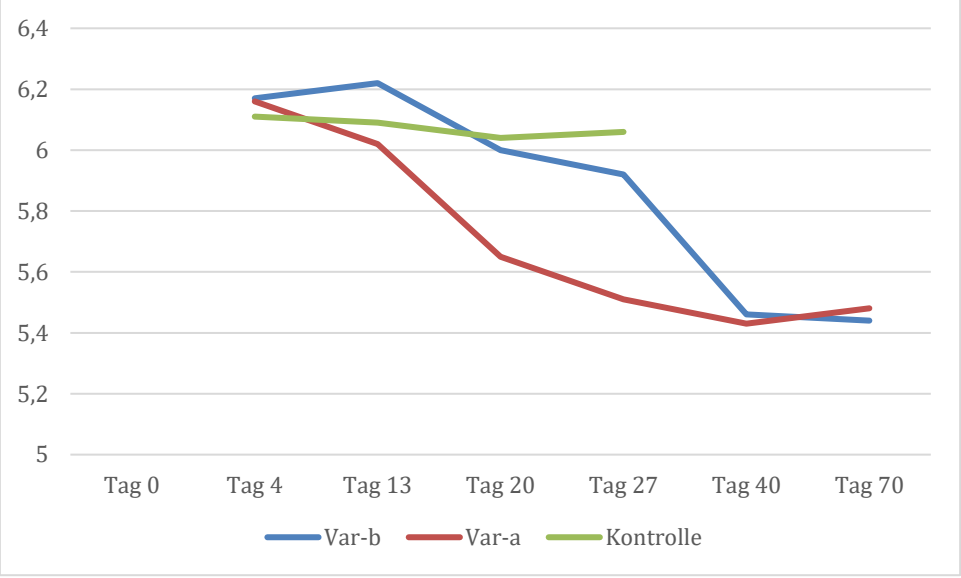


Abb. 9: pH-Werte in Brühdauerwurst. Var-a = nach Standardrezeptur hergestellte, inokulierte Charge; Var-b = nach veränderter Rezeptur hergestellte, inokulierte Charge; Kontrolle = eine Stange aus der Routineproduktion; y-Achse = pH-Wert.

4. Diskussion

4.1 Ursachen für die Säuerung von Brühwürsten und Brühdauerwürsten

In der Fleischer-Literatur wird bei Säuerung von Brühwürsten häufig von einer Untererhitzung oder einer zu langen warmen Lagerung ausgegangen (3) und die am häufigsten genannten mikrobiologischen Ursachen sind milchsäurebildende Bakterien (5). Da Brühdauerwürste nach der Erhitzung noch nachgetrocknet werden, ungefähr bei Raumtemperatur und danach auch bei Raumtemperatur gelagert werden, besteht die Möglichkeit, dass gesäuerte Fehlfabrikate entstehen. Vor allem Sporenbildner, wie bei Charge 113 gefundene *Sporolactobacillus* sp. können sich unter den Bedingungen der Brühdauerwurstproduktion vermehren. Zwar werden die vegetativen Zellen bei Erhitzung ab 50 °C abgetötet, aber die Sporen können Temperaturen bis zu 85 °C für 10 min. überstehen, und die Sporen können danach auskeimen. Die vegetativen Stadien können bei Temperaturen zwischen 25 °C und 40 °C wachsen, mit einem Temperaturoptimum bei 35 °C (11, 12).

Bei Brühwürsten liegt die Höchsttemperatur in der Erhitzung (Pasteurisierung) meist bei um die 72 °C, somit ist die Möglichkeit des Überlebens von Sporen nicht auszuschließen. In der Fachliteratur kann man zwar viel über Fehlfabrikate von Brühwürsten nachlesen, welche Arten es gibt und wodurch diese am häufigsten entstehen (2–6), aber nachgetrocknete Brühdauerwürste werden kaum berücksichtigt. Auch die mikrobiologischen Ursachen werden seltener ausführlich diskutiert als die technologischen und chemischen Ursachen. Dabei ist, wie in dieser Arbeit aufgezeigt, die Säuerung durch Mikroorganismen, vor allem Sporenbildner, ein nicht zu vernachlässigendes Problem.

In dem Standardwerk der ICMSF (International Commission on the Microbiological Specifications for Foods) „Microbial Ecology of Food Commodities“ (13) wird für Brühdauerwürste die Erhitzung auf über 75 °C Kerntemperatur in Verbindung mit dem zur Pökelung zugesetzten Natriumnitrit als Maßnahme zur Reduktion vegetativer Bakterien angegeben. Die Verringerung der Wasseraktivität auf $a_w < 0{,}95$ und die Undurchlässigkeit der (Wurst-)Hülle zur Erreichung eines niedrigen Redoxpotentials sind wesentliche Faktoren zur Hemmung aerober Sporenbildner (13). Das Rohmaterial sollte nicht mehr als 100 aerobe mesophile Sporenbildner/g enthalten (13). Während der Lagerung sollte dann nur mehr eine allfällige Kontamination über Löcher in der Hülle, wozu letztlich auch die abgeklippten Wurstenden zählen, kritisch sein (13).

4.2 Mikroflora von Rohstoffen und Produkten der Brühdauerwurstproduktion

In dieser Arbeit wurden verschiedene Proben untersucht, 40 vom Hersteller gelieferte Rohstoffproben, sowohl Tupferproben als auch Saftproben, von Geräten, die zur Herstellung von Brühwürsten benutzt werden und von den angelieferten Rohstoffen in den dazugehörigen Kisten. Darüber hinaus wurden drei verschiedene Gewürzproben und drei unterschiedliche Chargen Wurst untersucht. Bei den Rohstoffproben wurden unterschiedliche Anzahlen von mesophilen Bakterien und Milchsäurebildenden Bakterien gefunden. Ob die Proben dabei von den Geräten- oder den Rohstoffproben stammten, scheint dabei keinen relevanten Einfluss auf die Anzahl zu haben. Die Beurteilung der Keimzahlen wird dadurch erschwert, dass es für die Verarbeitungsfleisch und auch für in Verwendung befindliche Lebensmittelkontaktflächen keine bindenden mikrobiologischen Standards gibt. Es kann allerdings die Faustregel, dass bei Fleisch aerobe mesophile Keimzahlen ab 10^6-10^7 KbE/g oder cm^2 zu einer grobsinnlich erfassbaren Veränderung führen, herangezogen werden (5, 14). Je nach Bakterienart können durch Eiweißabbau als unangenehm wahrgenommene Veränderungen oder durch Kohlenhydratabbau weniger aufdringliche Veränderungen dominieren.

Nach der Erhitzung gab es nur bei einer Probe eine Auffälligkeit, in diesem Fall kam es zur Gasbildung, beim Ausstreichen waren dann jedoch keine Mikroorganismen zu finden. Demnach konnte bei der Untersuchung der Rohstoffe und Geräte kein Mikroorganismus gefunden werden, der eine Säuerung der Brühdauerwurst bewirken hätte können. Einschränkend ist anzumerken, dass bei den, aus den untersuchten Rohstoffchargen, hergestellten Brühdauerwurstchargen keine Säuerung stattfand.

Bei den untersuchten Gewürzen wurden auch keine Auffälligkeiten festgestellt.

Zwei der drei untersuchten Würste zeigten keine nennenswerten Unterschiede. Die dritte Wurst hatte mit pH = 5,41 einen pH-Wert unterhalb der vorgegebenen Richtwerte von 5,9-6,4 (15). Es wurden zwar weniger KbE/g gefunden als bei den zwei anderen Würsten, aber dafür eine andere Form von Kolonien, die auf MRS-Agar <1 mm Durchmesser aufwiesen, eine graue Farbe hatten und Katalase-negativ reagierten. Die mikroskopische Untersuchung von nach Gram-gefärbten Präparaten ergaben Gram-positive Stäbchen, von denen einige eine

nicht gefärbte Verdickung aufwiesen. Kolonieformen und Zellmorphologie ähnelten der Beschreibung von *Sporolactobacillus* sp. (12). Bei der weiteren Identifizierung dieser Bakterien mit MALDI-Tof wurden die Isolate vorläufig als *Sporolactobacillus* eingestuft.

Im Inokulationsversuch zeigte Charge Var-b mit der unbekannten Modifikation zwar ein langsameres Keimwachstum und auch anfangs noch normale pH-Werte, jedoch nahm mit der Zeit das Keimwachstum zu und auch der pH-Wert sank ab, so dass gegen Ende des Versuchs Var-a und Var-b keine großen Unterschiede mehr aufweisen. Daraus kann man schließen, dass die Modifikation nur kurzfristig etwas bringt und keine endgültige Lösung für die Vermeidung der Produktionsfehlers „Säuerung“ in der Brühdauerwurst zu sein scheint.

4.3 Simulation der Erhitzung und Abkühlung bei der Brühdauerwurstproduktion

Die Simulation des Temperaturprofils im Wasserbad war trotz mehrerer Vorversuche (Abb. 4-7) und dem Einsatz eines Temperaturpuffers (die Eprouvette mit Temperaturfühler wurde in ein wassergefülltes Gefäß gestellt, und dieses im Wasserbad platziert) nicht erfolgreich. Der Temperaturverlauf bei der Erhitzung von Brühwürsten konnte nicht zufriedenstellend nachgestellt werden. Die Erhitzung fand nicht gleichmäßig genug statt, sondern immer in rampenförmigen Abschnitten, womit sich dann immer kleine Plateaus gebildet haben. Aus diesen ergaben sich dann zu früh zu hohe Temperaturen und somit auch zu hohe oder anfangs auch zu niedrige F_{70}-Werte im Vergleich zum Temperaturprofils des Herstellers. Dieser hatte einen F_{70}-Wert von 51,5, während bei der endgültig verwendeten Einstellung der F_{70}-Wert bei 80,8 lag. Die zu niedrigen F_{70}-Werte der ersten zwei Vorversuche (Abb. 4 mit 32,2 und Abb.5 mit 26,1) entstanden vor allem durch das Nicht-Erreichen der Höchsttemperatur von 72 °C und die zu kurze bzw. nicht vorhandene Heißhaltezeit. Die zu hohen Werte der zwei anderen Vorversuche (Abb. 6 mit 79,3 und Abb. 7 mit 61,5) und der endgültig genutzten Einstellung mit 80,8 ergaben sich durch die zu hohen Anfangstemperaturen. Eine regelmäßige Abkühlung konnte durch das Abschalten des Wasserbads hergestellt werden, da aber die Umgebungstemperatur nicht niedrig genug war, konnte auch das Temperaturprofil nur bis zu einem bestimmten Punkt abgesenkt werden.

Um eine passendere Temperaturkurve zu simulieren, hätte es eine Heizeinheit mit Gradientenprogramm benötigt, das nicht zur Verfügung stand und für die Abkühlung entweder eine

Kühleinheit mit Gradientenprogramm oder einen Kühlraum oder Kühlschrank, um die niedrigste Temperatur in der Wurst nachstellen zu können. Hier hätte es weitere Vorversuche bedurft, um dann einen möglichst ähnlichen Verlauf der Temperaturen nachzustellen.

4.4 *Sporolactobacillus*

Der Nachweis von *Sporolactobacillus* sp. in gesäuerten Brühdauerwürsten war nicht erwartet. Diese Mikroorganismen wurden in den 1960er Jahren zuerst aus Hühnerfutter (16), später aus Umweltproben und dann insbesondere fermentierten Lebensmitteln tierischer und pflanzlicher Herkunft (17) isoliert und als Verderbniserreger identifiziert. In der neueren Literatur wird auch auf das probiotische Potential der Sporolactobazillen hingewiesen (16).

Die Bakterien wachsen unter anaeroben Bedingungen und bilden unter aeroben Bedingungen Sporen, deren dezimale Reduktionszeit je nach Spezies und Medium variiert, aber bei 80 °C meist mehrere Minuten beträgt. Beispielsweise werden für *S. inulinus* bei 80 °C ein D-Wert von 19,5 Minuten und bei 90 °C 5,1 Minuten angegeben (17). Für *S. nakayamae* fanden Bozkurt et al. (18) in einem Glucose-Hefepepton Medium D-Werte von ca. 3,5 Minuten bei 80 °C. Da nicht bekannt ist, wie hoch die Ausgangskonzentration der Sporen in dem zur Wurstherstellung verwendeten Material war, ist nicht auszuschließen, dass Sporen die Erhitzung bei der Brühwurstherstellung überlebt haben können. Nach der Erhitzung können das Auskeimen der Sporen und die Vermehrung der vegetativen Bakterienformen durch Natriumnitrit- oder Kaliumsorbatzusatz oder Ansäuerung nur bedingt gehemmt werden, am praktikabelsten bei der Brühwurstproduktion erscheint eine Reduktion der Wasseraktivität auf unter 0,955 durch Salzzusatz. Da bei der Brühdauerwurst eine Absenkung der Wasseraktivität weniger durch initialen Salzzusatz, sondern graduell durch die sich über Wochen erstreckende Trocknung erfolgt, ist zu erwarten, dass der kritische a_w-Wert erst nach mehreren Wochen Trocknungszeit unterschritten werden und damit die Vermehrung vegetativer *Sporolactobacillus* unterbunden werden kann.

4.5 Einschränkungen und offene Fragen

Zusammenfassend ist zu sagen, dass die Säuerung der Brühdauerwürste in diesem Fall durch Sporenbilder, und zwar *Sporolactobacillus* sp., entstanden ist. Über welchen Rohstoff dieses

Bakterium in die Produktionskette eingetragen wurde, bleibt noch unklar, da sie nur in der einen fertigen Wurstcharge nachgewiesen werden konnten und nicht in den Rohstoffproben oder Gewürzproben.

Da nur eine geringe Anzahl von Proben genommen wurde und in dieser Arbeit nur eine Momentaufnahme geleistet werden konnte, ist nicht auszuschließen, dass die Bakterien durch andere Chargen der angelieferten Rohstoffe oder durch fehlende bzw. ungenügende Reinigung der Geräte in die Wurst gelangten. Um das ausschließen zu können, müssten Proben in größerer Häufigkeit über einen verlängerten Zeitraum genommen werden. Dabei müsste auch Rücksicht auf diverse Wurstchargen genommen werden und diese auch genauer über den Trocknungsverlauf verfolgt werden.

5 Literaturverzeichnis

1. Österreichisches Lebensmittelbuch | Österreichisches Lebensmittelbuch - B 14 Fleisch und Fleischerzeugnisse; 2025 [Stand: 25.03.2025]. Verfügbar unter: https://www.lebensmittelbuch.at/lebensmittelbuch/b-14-fleisch-und-fleischerzeugnisse.html.
2. Koch H, Fuchs H. Die Fabrikation feiner Fleisch- und Wurstwaren Koch ; Fuchs ; Gemmer. 20., völlig neu bearb. Aufl. Frankfurt am Main: Dt. Fachverl.; 1992.
3. Deisl E, Gneist M, Riedl C. Das Fleischerbuch [Hauptband] Thomas Bergmann [und weitere]. [5. Aufl.]. Wien: Verlag Jugend und Volk; 2015.
4. Institut für Technologie. Technologie der Brühwurst. Kulmbach: Bundesanst. für Fleischforschung; 1984. (Kulmbacher Reihe[4]).
5. Weber H. Fleisch und Fleischerzeugnisse / hrsg. von Herbert Weber. 1. Aufl. Hamburg: Behr´s Verlag; 1996. (Mikrobiologie der LebensmittelFLE).
6. Prändl O. Fleisch : Technologie und Hygiene der Gewinnung und Verarbeitung ; 78 Tabellen / von Oskar Prändl. Stuttgart: Ulmer; 1988. (Handbuch der Lebensmitteltechnologie).
7. Weber H. Grundlagen / H. Weber. 9., vollst. überarb. Aufl. Hamburg: Behr´s Verlag; 2010. (Mikrobiologie der Lebensmittel[Band 1], Ed. 9).
8. Vukovic. F70Wert Rechner [Stand: 20.11.2025]. Verfügbar unter: http://www.fleischwirtschaft.de/fleischwirtschaft/downloadfwerte/Vukovic (1985).
9. Nitsch P. VI. Schnellbestimmung des F70 - Wertes mittels Gauß'scher Integration für Frischware. Mitteilungsblatt BAFF 42 2003; (Nr. 161):281–6.
10. Baumgart J, Becker B, Stephan R, Hrsg. Mikrobiologische Untersuchung von Lebensmitteln: Ein Leitfaden für das Studium. 6. aktualisierte Auflage. Hamburg: Behr's Verlag; 2016.
11. Kitahara K, Lai C-L. On The Spore Formation of *Sporolactobacillus Inulinus*. J. Gen. Appl. Microbiol. 1967; 13(2):197–203. doi: 10.2323/jgam.13.197.
12. Kithara K, Suzuki J. *Sporolactobacillus* Nov. Subgen. J. Gen. Appl. Microbiol. 1963; 9(1):59–71. doi: 10.2323/jgam.9.59.
13. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Microbial ecology of food commodities / ICMSF. 2nd ed. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers; 2005. (Microorganisms in foods; Bd. 6).
14. Upmann M, Paulsen P, James C, Smulders FJM. Die Mikrobiologie von Kälte behandeltem Fleisch. 2000; (80(8)):90–7.
15. Wirth F, Leistner L, Rödel W. Richtwerte der Fleischtechnologie: 33 Tabellen. 2. Aufl. Frankfurt am Main: Dt. Fachverl.; 1990.
16. Guo X, Yu L, Xiao M, Zang X, Zhang C, Narbad A et al. *Sporolactobacillus*-a new functional genus with potential applications. Curr Res Food Sci 2024; 9:100822. doi: 10.1016/j.crfs.2024.100822.

17. *Sporolactobacillus* in Food: Literature Discussing Prevalence and Control. Updated August 2023; 2023. Verfügbar unter: https://fri.wisc.edu/files/Briefs_File/2025-08-07_1629_Sporolactobacillus%20in%20Food%202023%20Update.pdf.

18. Bozkurt H, David JRD, Talley RJ, Lineback DS, Davidson PM. Thermal Inactivation Kinetics of *Sporolactobacillus nakayamae* Spores, a Spoilage Bacterium Isolated from a Model Mashed Potato-Scallion Mixture. J Food Prot 2016; 79(9):1482–9. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-16-103.